Biossegurança e Biocontenção em Laboratórios

Biossegurança em Biotérios

Cristina Kurachi

cristina@ifsc.usp.br

Experimentação em modelos animais

- Mimetizar o corpo humano:
  - Anatomia
  - Fisiologia
  - Comportamento
  - Desenvolvimento

    - Modelos em animais de doenças da espécie humana
      - Semelhança dos mecanismos patológicos
      - Induzidos ou naturais

Características ideais de um modelo

1. que permita o estudo dos fenômenos biológicos ou de comportamento do animal;
2. que um processo patológico espontâneo ou induzido possa ser investigado;
3. que o fenômeno, em um ou mais aspectos, seja semelhante ao fenômeno/doença em seres humanos.

"Aplicabilidade da experimentação animal à espécie humana por meio de situações físicas e/ou químicas que resultassem em alterações nos animais semelhantes às provocadas pelas doenças."

Claude Bernard, final do século XIX

- Modelo (ciências biológicas) → conceito estatístico de amostragem.

"Um modelo deve ter características suficientes para ser semelhante ao objeto imitado e ter a suficiente capacidade de ser manipulado sem as limitações do objeto imitado."

Djalma Fagundes e Murched Omar Taha

Quando usar um modelo animal?

- Limitações do estudo clínico em humanos
  - Aspectos éticos
  - Limitações inerentes à própria doença
  - Limitações inerentes ao modo de investigação

De quais animais estamos tratando?

- **Animais infectados com OGM´s**

- **AnGM**: Animais geneticamente modificados

  "... é todo aquele que tenha ácido nucléico exógeno intencionalmente incorporado no genoma de suas células germinativas ou somáticas"

Legislação brasileira para uso de animais em pesquisa e ensino

Lei 11.794, de 8/10/2008

- Estabelece <u>critérios para a criação e a utilização de animais</u> em atividades de ensino e pesquisa científica, em todo o território nacional.

Lei 11.794, de 8/10/2008

Art. 1º A criação e a utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa científica, em todo o território nacional, obedece aos critérios estabelecidos nesta Lei.

§ 1º. A utilização de animais em **atividades educacionais** fica restrita a:

I – estabelecimentos de <u>ensino superior</u>;

II – estabelecimentos de educação profissional <u>técnica de nível médio</u> da área <u>biomédica</u>;

§ 2º. São consideradas como **atividades de pesquisa científica** todas aquelas relacionadas com ciência básica, ciência aplicada, desenvolvimento tecnológico, produção e controle da qualidade de drogas, medicamentos, alimentos, imunobiológicos, instrumentos, ou quaisquer outros testados em animais, conforme definido em regulamento próprio.

§ 3º. Não são consideradas como atividades de pesquisa as práticas zootécnicas relacionadas à agropecuária.

Lei 11.794, de 8/10/2008

Art. 2º O disposto nesta Lei aplica-se aos animais das espécies classificadas como filo Chordata, subfilo Vertebrata, observada a legislação ambiental.

Art. 4º Fica criado o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – **CONCEA**.

Art. 8º É condição indispensável para o credenciamento das instituições com atividades de ensino ou pesquisa com animais a constituição prévia de Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUAs. *(IFSC agora tem, desde dez/2013!)*

Resolução Normativa CONCEA nº 12, de 20/09/2013

ANEXO - DIRETRIZ BRASILEIRA PARA O CUIDADO E A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA FINS CIENTÍFICOS E DIDÁTICOS – DBCA DO CONCEA

1.3. Esta Diretriz, assim como a legislação brasileira, estabelece a responsabilidade primária das CEUAs em determinar se a utilização de animais é devidamente justificada e garante a adesão aos princípios de substituição (replacement), redução (reduction) e refinamento (refinement).

Mas o que é a CEUA?

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

- Uso de animais em experimentos científicos ou atividades didáticas: avanço dos conhecimentos na área da saúde do homem e dos animais.

- Consciência de que os animais possuem sensibilidade similar à humana no que se refere à dor, memória, angústia e instinto de sobrevivência.

- Os animais utilizados como modelos experimentais são seres vivos que possuem as mesmas características biológicas dos outros animais de sua espécie, com a diferença de estarem sendo privados de sua liberdade em favor da Ciência.

Fonte: https://www.ifsc.usp.br/ceua/

Mas o que é a CEUA?

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

- Portanto, devem ser manejados com respeito e de forma adequada à espécie, tendo suas necessidades de transporte, alojamento, condições ambientais, nutrição e cuidados veterinários atendidas.

- Os projetos de pesquisa que utilizam modelos animais devem ser analisados pela CEUA, ou colegiados similares que **visam a qualificação dos projetos e evitando o uso inapropriado ou abusivo de animais.**

Fonte: https://www.ifsc.usp.br/ceua/

Curso e treinamento

Curso de capacitação oferecido pela USP – certificado

ww3.icb.usp.br/capacitacao-uso-animais/

- Módulo 1a: Introdução ao uso de animais em experimentação e sua aplicabilidade
- Módulo 1b: Legislação pertinente, normativas, diretrizes e instrumentos legais
- Módulo 2a: Ciência de animais de laboratório
- Módulo 2b: Uso de modelos alternativos
- Módulo 3a: Aspectos fisiológicos, anatômicos e reprodutivos das espécies convencionais de laboratório e bem-estar animal
- Módulo 3b: Nutrição e enriquecimento ambiental
- Módulo 3c: Genética em animais de laboratório
- Módulo 4: Estresse, dor e sofrimento
- Módulo 5: Planejamento, aspectos construtivos, gestão de biotérios e manejo de colônias
- Módulo 6: Biossegurança em biotérios

Aulas por vídeo + avaliação múltipla escolha = **CERTIFICADO**

Submissão para o CEUA

Site da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do IFSC: https://www.ifsc.usp.br/ceua

Biotério

Local onde são criados ou mantidos animais para serem usados em ensino ou pesquisa científica, que possua controle das condições ambientais, nutricionais e sanitárias*.

Biotério do CTC-FMRP-USP

Biotério da FMVZ-USP

Tipos de biotérios*

Criação	• local destinado à **reprodução** e **manutenção** de animais para fins de ensino ou pesquisa científica.
Manutenção	• local destinado à **manutenção** de animais para fins de ensino ou pesquisa científica.
Experimentação	• local destinado à **manutenção** de animais em **experimentação** por tempo superior a 12 (doze) horas.

*cf. Resolução Normativa nº 03 do CONCEA, de 14 de dezembro de 2011.

Animais mais empregados - roedores

Ratos

Linhagem: *Wistar hannover*
Modelo geral de múltiplos propósitos, testes de segurança e eficácia, envelhecimento, oncologia, modelo cirúrgico

Camundongos

Linhagem: *Swiss*
Modelo geral de múltiplos propósitos, testes de segurança e eficácia

Linhagem: *Balb C*
Modelo geral de múltiplos propósitos, desenvolvimento de hibridoma, produção de anticorpos monoclonais, doenças infecciosas

Linhagem: *Balb C* tipo: *nude*
Biologia tumoral e xenoenxertos tumoral

Fonte: https://www.criver.com/

Padronização dos animais

Genética

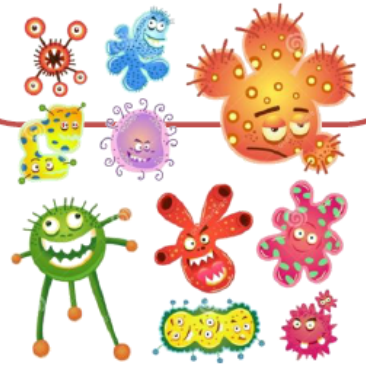
- criação e manutenção de linhagens
  - "outbred" (heterozigotas para muitos pares de alelos e mantidas em sistemas de cruzamento randômico) e
  - "inbred" (linhagens homozigotas para quase todos os pares de alelos, mantidas por sistemas de acasalamento entre irmãos por mais de 20 gerações).
- mutantes e animais geneticamente modificados.

Nutricional

- A nutrição adequada dá condições ao animal de atingir seu potencial:
  - genético,
  - de crescimento,
  - reprodutivo,
  - de longevidade e
  - de resposta à estímulos.

Padronização dos animais

Sanitária



- Gnotobióticos → Possuem uma microbiota associada conhecida.
- *Germ Free* → Animais totalmente isentos de microrganismos.
- *Specific Patogen Free* (SPF) → Animais isentos de Agentes Patogênicos Específicos.
- Animais Convencionais → Animais que possuem microbiota indefinida – criados sem barreiras sanitárias.

Biotérios de criação

*verificar a necessidade de aprovação da CEUA do local de fornecimento dos animais após aprovação do CEUA-IFSC

http://sites.usp.br/redebioterios/historico/

Rede de Biotérios
Universidade de São Paulo

Histórico | Missão | Visão | Objetivos | Plano de Gestão | Coordenação da Rede | Contato | Eventos

Histórico

O projeto da Rede de Biotérios da USP foi aprovado em 2012, Resolucao CoPq nº 6440, e passou a ser desenvolvido e organizado pela Pró-Reitoria de Pesquisa para inicialmente produzir e distribuir roedores (ratos e camundongos), manter linhagens geneticamente modificadas e realizar controle sanitário e congelamento de embriões. Embora a maioria dos pesquisadores trabalhe com animais convencionais, as unidades integrantes da Rede se prepararam para produzir e distribuir ratos e camundongos com padrão livre de patógenos específicos (SPF), com o objetivo de melhorar a qualidade dos modelos experimentais baseados em roedores. A rede foi iniciada pela agregação de biotérios de quatro diferentes Unidades da USP: Instituto de Ciências Biomédicas, Faculdade de Medicina Campus Pinheiros, Faculdade de Medicina Campus Ribeirão Preto e Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

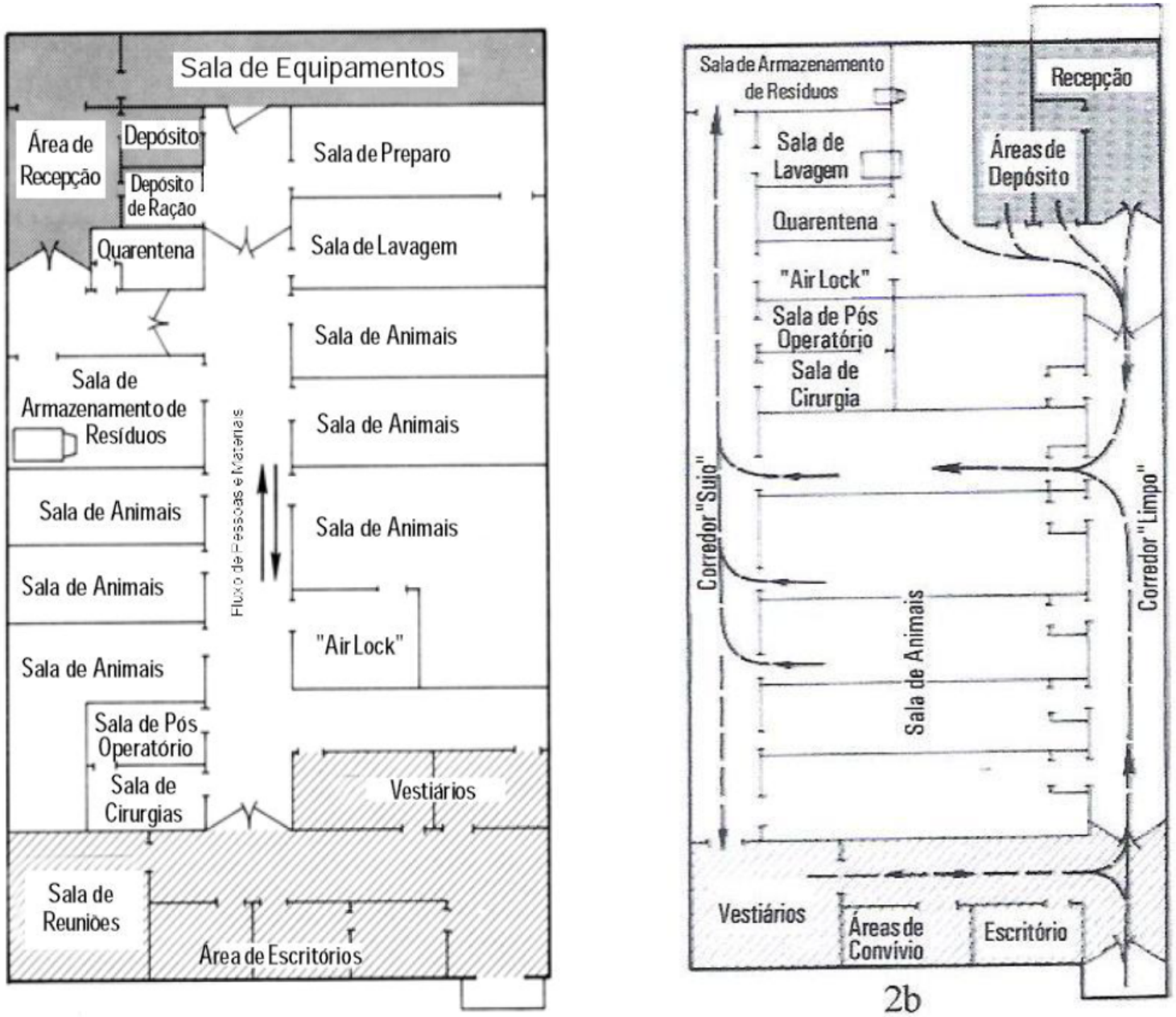
Nosso endereço

Rua da Reitoria, 374 - 3º andar
CEP 05508-220
Cidade Universitária - São Paulo - SP
e-mail: redebioterios@usp.br

© Produzido por USP Mídias Online - Rede de Biotérios

Biotérios - Instalações e equipamentos

- Planejados para manter a segurança de usuários, animais e meio ambiente.
- Climatização (temperatura, umidade e ventilação adequadas)
- Renovação total de ar em torno de 15-20 trocas de ar/hora.
- Gradiente de pressão no interior das salas de animais menor do que o das áreas contíguas (pressão maior nas áreas limpas e estéreis).



Biotério de corredor único e de dois corredores (Fonte: Cardoso, 2001).

Estante ventilada para manutenção de animais inoculados (ar duplamente filtrado – entrada e saída, temperatura e umidade controlada).

Sala de lavagem

Iluminação natural

Janela protegida por tela

Equipamento de proteção individual: luvas, jaleco e máscara

Prontuário do animal

(espécie, data de entrada, projeto de pesquisa a que está ligado, número do CQB – se for OGM)

Alojamento dos animais

Estantes com mini isoladores ventilados

- Gaiolas maiores: ratos.
- Gaiolas menores: camundongos.

- **Números de animais por gaiolas**: depende da espécie, tamanho e peso → ver recomendação da ALESCO

- Cada pesquisador deve higienizar sua fileira de gaiolas **semanalmente**

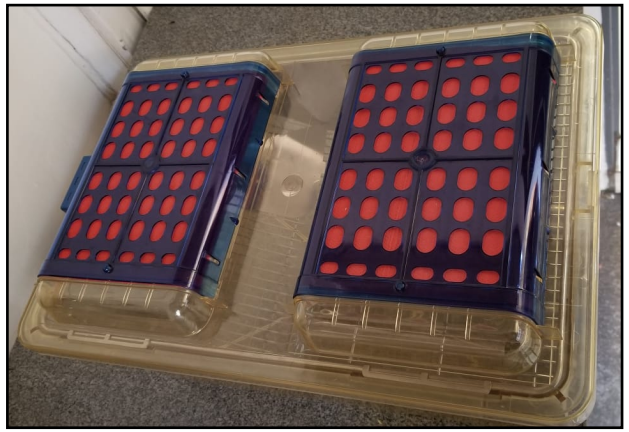
Ratos

Camundongos

Alojamento dos animais

- Filtro interno: troca quando estante indicar 100% de saturação

- Filtro externo (espuma preta, na abertura superior): lavagem a cada 15 dias



- Estantes devem ser **desligadas** quando **não houver animais**

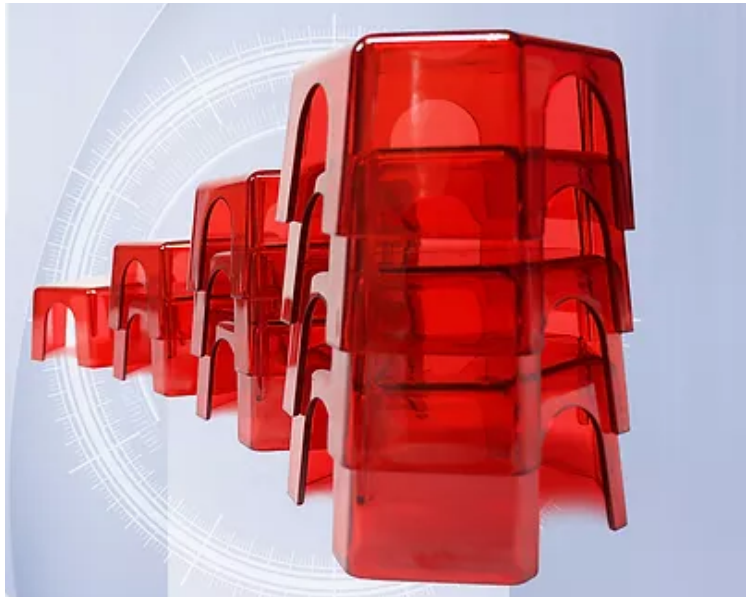
- Ar condicionado deve permanecer **sempre ligado** a 23 ºC

- Temporizador automático de iluminação → luz acesa de dia e apagada a noite

Alojamento dos animais

Enriquecimento ambiental

- Modelo para Camundongos
- Reduz o nível de estresse
- Enxergam vermelho como negro dando sensação de um ambiente escuro e seguro
- Transparência: pesquisador enxergue o animal
- Autoclavável



Alojamento dos animais

Usar etiquetas de identificação em cada gaiola

PESQUISADOR(A):_____

TELEFONE:_____

ENTRADA: ____/____/____
EUTANÁSIA:____/____/____
QUANTIDADE DE ANIMAIS: _____ ☐ **M** ☐ **F**
RESTRIÇÃO: ☐água ☐ração

OBSERVAÇÕES

_____

_____

Sala de experimentação

Manter porta do corredor sempre fechada.

USO OBRIGATÓRIO

- Jaleco
- Luvas
- Cabelo preso

Sala de experimentação

Bancada

Mesa cirúrgica

Fluxo laminar

Sala de experimentação

Descarte correto dos materiais

Lixo preto

- material comum (papel, seringa não contaminadas e sem agulha...)
- **NÃO** jogar maravalha suja

Lixo branco → descarte no freezer

- **APENAS** material com sangue e/ou contaminado
- carcaças de animais – imediato no freezer

Descarpack

- **APENAS** materiais perfuro-cortantes: agulha, lâmina de bisturi ou *punch*

Regras gerais

Evitar estresse para os animais

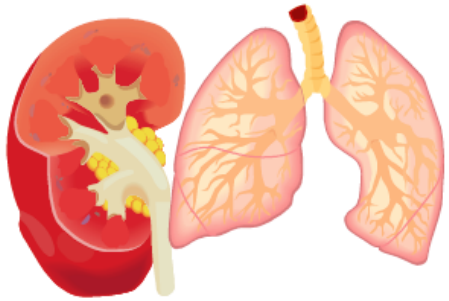
- Manter a sala de experimentação e alojamento em silêncio e limpos
- **Não** permitir “visitas” ao alojamento
- Pessoas que não fazem parte do experimento **não** devem permanecer sala de experimentação
- Evite conversas desnecessárias durante o manuseio do animal
- Não fazer uso de perfume ou cosméticos perfumados

RISCOS PROVENIENTES DO MANEJO DE ANIMAIS

- Animais podem excretar microrganismos nas fezes, urina, saliva ou aerolizá-los.

Inoculação de patógenos por mordeduras ou arranhaduras.

Transmissão direta do patógeno, por contato com o animal, seu sangue ou tecidos coletados em necrópsias e autópsias.



RISCOS PROVENIENTES DO MANEJO DE ANIMAIS

- Transmissão indireta, por inalação de poeira originada das gaiolas e camas dos animais.

- Alergia a animais de laboratório: doença ocupacional. Reação de hipersensibilidade do tipo imediato, pelo contato com a pelagem, urina, soro ou qualquer outro tipo de tecido animal.

Zoonoses comumente associadas a animais de laboratório

Camundongos e Ratos	Ectoparasitoses, leptospirose, coriomeningite linfocítica, febre da mordedura do rato, salmoneloses, hantaviroses, arboviroses
Hamsters	Ectoparasitoses, coriomeningite linfocítica, clamidiose
Coelhos	Dermatofitoses, ectoparasitoses, pasteurelose
Cobaias	Balantidiose, coriomeningite linfocítica, clamidioses, salmoneloses, dermatofitoses
Cães	Raiva, leptospirose, brucelose, histoplasmose, ectoparasitoses
Gatos	Amebíase, ectoparasitoses, raiva, doença da arranhadura do gato, toxoplasmose, tuberculose, febre Q
Primatas	Herpes B, tuberculose, hepatite, shiguelose, salmonelose, balantidiose, amebíase, giardíase

Fonte: CCAC (1993).

***Zoonoses** são infecções ou infestações provocadas por agentes patogênicos transmitidos aos seres humanos por animais vertebrados ou seus tecidos, sendo consideradas doenças de caráter ocupacional em pessoas que trabalham em biotérios.

NBA 1	NBA 2	NBA 3	NBA 4
Envolve **agentes infecciosos** bem caracterizados que comprovadamente **não causam riscos de doenças em humanos** adultos saudáveis e possuem **riscos mínimos para técnicos de laboratório e para o meio ambiente**. **(NB 1)** baixo risco individual e baixo risco para a coletividade.	Envolve **agentes infecciosos bem caracterizados** que ocasionam **riscos de doenças em humanos** adultos. **(NB 2)** moderado risco individual e baixo risco para a coletividade.	Envolve procedimentos para trabalhar com animais infectados por microrganismos que apresentam **potencial de transmissão aerógena e podem causar doenças potencialmente letais**. **(NB 3)** alto risco individual e risco moderado para a coletividade.	Envolve procedimentos para trabalhar com animais infectados por microrganismos que apresentam **alto risco de ocasionar doenças letais,** causar transmissão por aerossóis ou relacionadas com **agentes de risco de transmissão desconhecido**. **(NB 4)** alto risco individual e alto risco para a coletividade.

* Adaptado de Katia T. dos Reis - Biossegurança em Biotérios de Criação e Experimentação Animal

Biossegurança animal nível 2

Quando se manipulam animais infectados com microrganismos da classe 2.

Práticas e técnicas	Equipamentos de segurança	Instalações
Uso obrigatório de jaleco e luvas, descontaminação dos dejetos infectados e das gaiolas dos animais antes da higienização, acesso limitado e sinalização para alerta de riscos.	Barreira parcial (guichê de desinfecção), uso de EPIs (máscara, óculos protetor, etc.) para a manipulação de agentes ou animais infectados que produzem aerossóis.	Acesso limitado por portas com travamento de segurança, entre outras.

Em caso de acidentes

- Nunca entrar em pânico. Se o acidente já aconteceu, tem-se que pensar na melhor solução para minimizar os riscos e danos, mantendo a situação sob controle e sem atropelos.
- Evitar o pânico e chamar IMEDIATAMENTE o responsável pelo setor para o controle da situação.
- EVITAR AGLOMERAÇÕES na área.
- Atender o acidentado e imediatamente conter o acidente - não permitir vazamento e disseminação do material.
- Cobrir o líquido derramado ou fluido com hipoclorito de sódio, deixar repousar, não varrer o local antes de descontaminar a área e não provocar a formação de aerossóis.
- Isolar a área.
- Identificar a origem do material contaminado.
- Registrar o acidente, se possível, com testemunhas e apresentar o fato ao responsável superior no setor.
- Em caso de emergência, proceder ao encaminhamento do acidentado a um hospital ou pronto atendimento.

Com pérfuro-cortantes

- Lavar o local com sabão e cobrir o local com gaze estéril.
- Identificar o soro / sangue / paciente e falar com o responsável técnico presente.
- O Chefe do setor solicitará ao paciente / cliente uma autorização para a realização de exame diagnóstico sorológico para HIV e Hepatite com o compromisso de não divulgar o resultado.
- O procedimento torna-se necessário para o caso de um tratamento profilático com as possíveis drogas recomendadas pela OMS.
- Em caso de não autorização pelo paciente, deve-se solicitar auxílio ao setor responsável de saúde local.
- Os acidentes devem ser registrados e informadas as instâncias superiores do Setor e da Secretaria de Saúde, conforme preconizado no POP pela CIBio e pela Vigilância Sanitária.

Profilaxia

- Não há nada que se possa fazer com contaminação pelo vírus da hepatite C. Profissionais que já tenham tomado a vacina para hepatite B, não têm necessidade de nenhuma conduta após acidente com o vírus da hepatite B. Quem tomou uma dose da vacina, deve tomar outra dose logo após o acidente, juntamente com imunoglobulina (HBIG) e a última após 6 meses. Quem tomou 2 doses da vacina para hepatite B, deve tomar a última logo após o acidente, juntamente com imunoglobulina (HBIG).
- Para a contaminação com o HIV, deve-se iniciar com as drogas antivirais o mais rápido possível (1 hora até 36 horas após a exposição), utilizando-se Zidovudine 200 mg três vezes por dia, Lamivudine 150 mg duas vezes por dia e Indinavir 800 mg três vezes por dia ou Ritonavir 600 mg duas vezes por dia durante 4 semanas.

Seguimento clínico-laboratorial

- Em caso de acidentes e possíveis contaminações, procurar os locais de serviços de

infecções e após medidas imediatas pós- evento ou acidente, durante um ano, deve-se

obrigatoriamente usar preservativos em relações sexuais, evitar amamentação e nunca

doar sangue. Deve-se colher sangue com 6 semanas, 90, 180 dias e um ano, buscando

possível soroconversão para hepatite B e C e HIV.

Conduta pós-acidente

- Os acidentes devem ser registrados e documentados oficialmente. Oportunamente devem ser discutidos nas reuniões periódicas da Comissão Interna de Biossegurança (CIBio), Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA), quando devem ser identificadas e determinadas as falhas nos dispositivos, na metodologia, na segurança e no treinamento do indivíduo.
- Em reuniões periódicas deve-se ter a preocupação de analisar e sugerir atualizações e meios de revisão e fiscalização nos cuidados e medidas de proteção