

Universidade de São Paulo
Escola de Engenharia de Lorena
Departamento de Biotecnologia



Curso: Engenharia Bioquímica

Biossegurança no Manuseio de Cobaias e testes em Humanos

Prof: Tatiane da Franca Silva

tatianedafranca@usp.br

Produção de Fármacos e Vacinas



- ❑ Princípio de Bioética na pesquisa

Uso de Cobaias

- ❖ 1995, cientistas da Universidade de Harvard : orelha humana crescer nas costas de um rato graças à manipulação genética
- ❖ 1997, cientistas da universidade de Bath : girino sem cabeça

São Paulo, terça-feira, 21 de outubro de 1997

FOLHA DE S.PAULO **mun**do

[Texto Anterior](#) | [Próximo Texto](#) | [Índice](#)

Cientistas anunciam clone de rã sem cabeça

DAS AGÊNCIAS INTERNACIONAIS

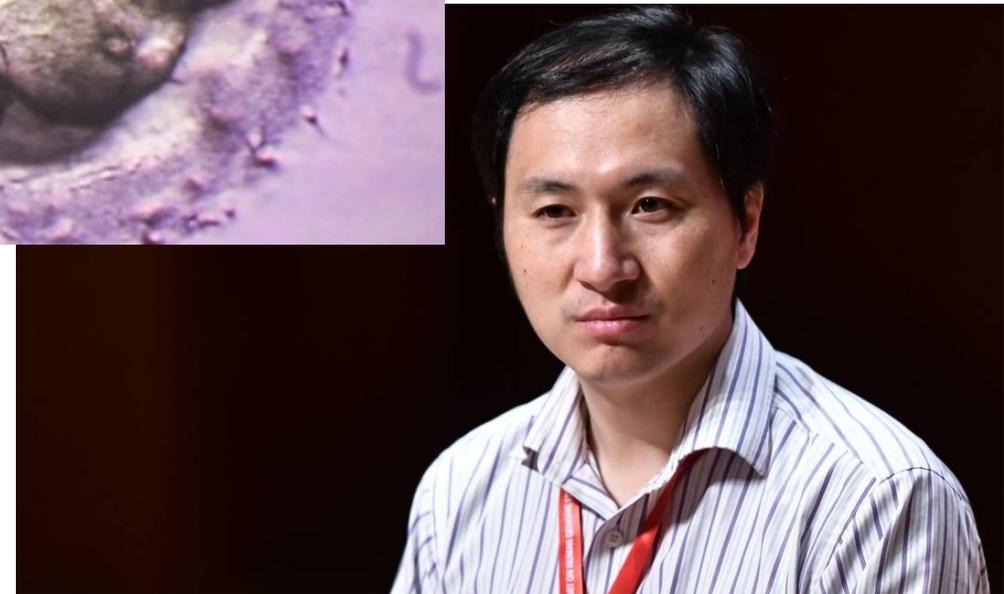
Cientistas da Universidade de Bath, no Reino Unido, anunciaram terem produzido embriões de rã sem cabeça, informou o jornal britânico "The Sunday Times".



Gêmeas Chinesas – Primeiros bebês geneticamente modificados



- ✓ Implantou embriões editados
- ✓ desativou o receptor CCR5, que permite que o HIV entre na célula.



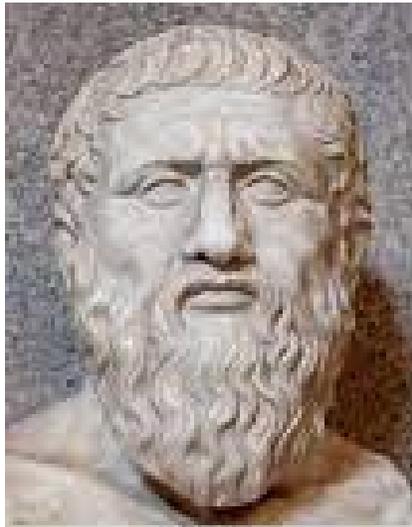
He Jiankui da Southern University of Science and Technology of China

Questões Bioéticas

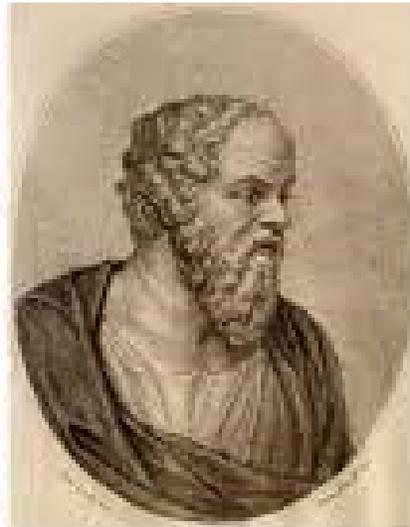
Todos os tipos de experimentos são justificáveis?



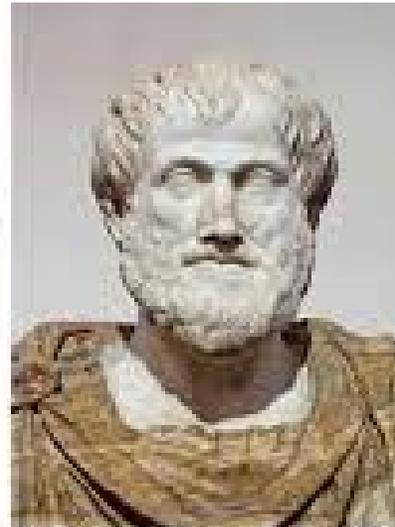
Ética: conjunto de valores, costumes, modos de ser, regras etc. que efetivamente guiam o comportamento humano na busca do bem.



Platão



Sócrates



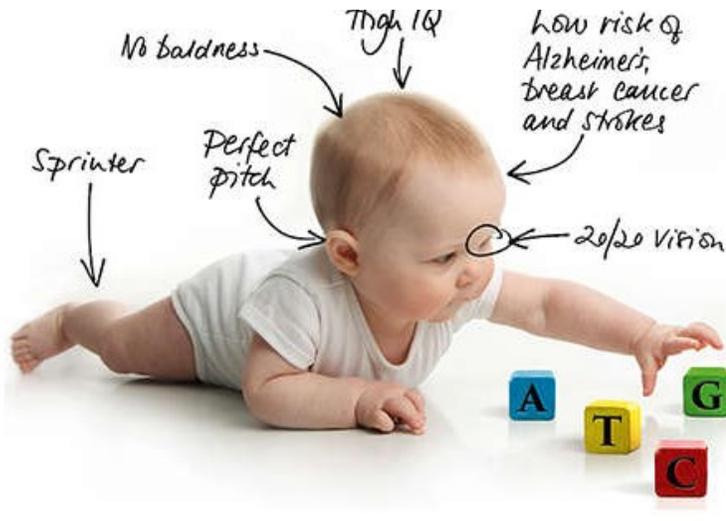
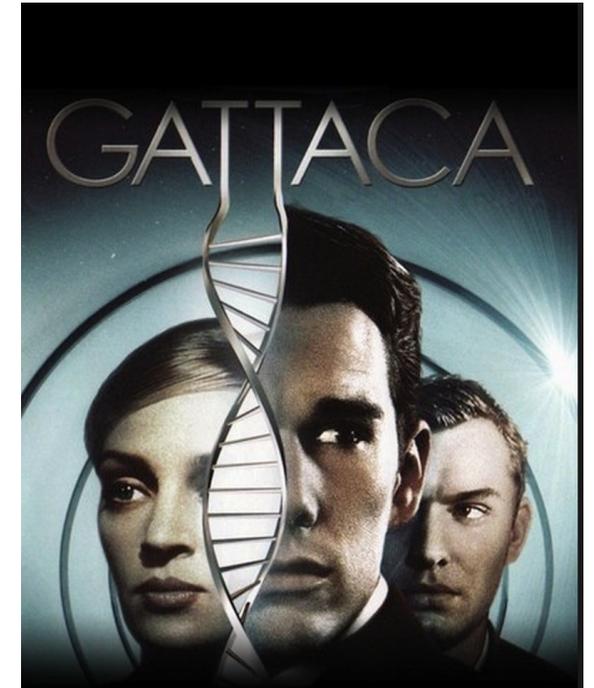
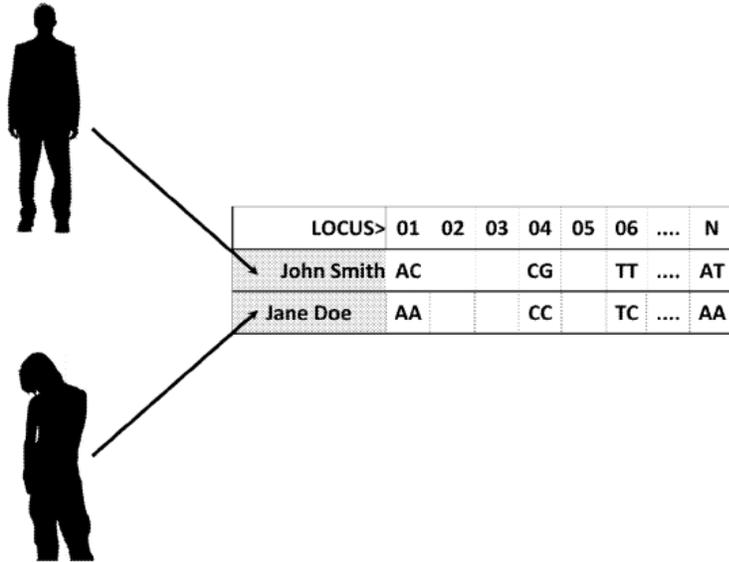
Aristóteles

Bioética

- ✓ Ética aplicada na área de ciências da vida.
- ✓ Questionamento da autoridade profissional



Questões Bioéticas: Modificações Genéticas em Humanos



"Designer Baby" Patent issued to 23andMe.com
US. 8,620,594 B2





World Health Organization

OMS

- Novo registro global para rastrear pesquisa sobre edição de genoma humano
- Países não devem permitir nenhum trabalho adicional na edição do genoma humano em linhagens germinativas em aplicações clínicas até que as questões de bioética tenham sido devidamente consideradas

Teste em Animais

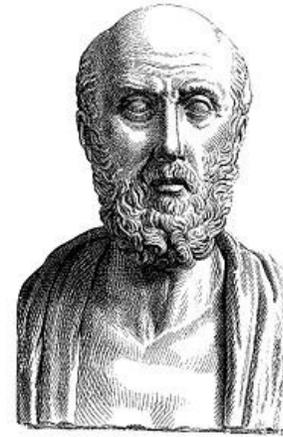
- ❖ Parte do processo de pesquisa
- ❖ Utilizados na produção de:
 - vacinas e anticorpos monoclonais;
 - estudos de farmacologia e toxicologia;
 - estudos de imunopatologia,
 - de transplante e de drogas; etc...



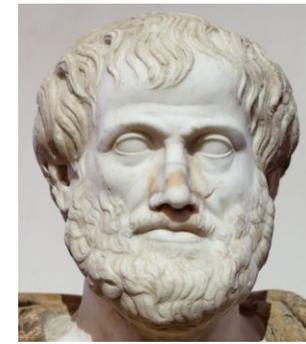
**Institute of Cytology and Genetics in
Novosibirsk, Russia**

Histórico

- ❖ Início antes de Cristo com Aristóteles, Galeno, Hipócrates
- ❖ Proibição de dissecação de cadáveres



Hipócrates 460 a.c.



Aristóteles

Atualmente:



*Council of International Organization for Medical
Science*



Galeno 129 a.c

A sensibilidade do animal é similar á humana no que se refere à dor, memória, angústia e instinto de sobrevivência (CIOMS)

❖ Primeiros transplantes de coração: Testes em cachorros

“..... quando eu contei que já tinha operado uns **200 cachorros**, mas nenhum tinha ficado vivo, ele me disse que não poderíamos fazer o procedimento ainda aquela altura. Poucas semanas depois, o sul-africano fez o primeiro transplante.” Dr. Euclides Marque equipe do Dr Zerbini.



Maio de 1968



Christiaan Barnard – médico sul africano – 1º transplante de coração

Princípios dos 3Rs

❖ **1959** Russell (zoologista) e Burch (Microbiologista):
The Principles of Humane Experimental Technique

Replace

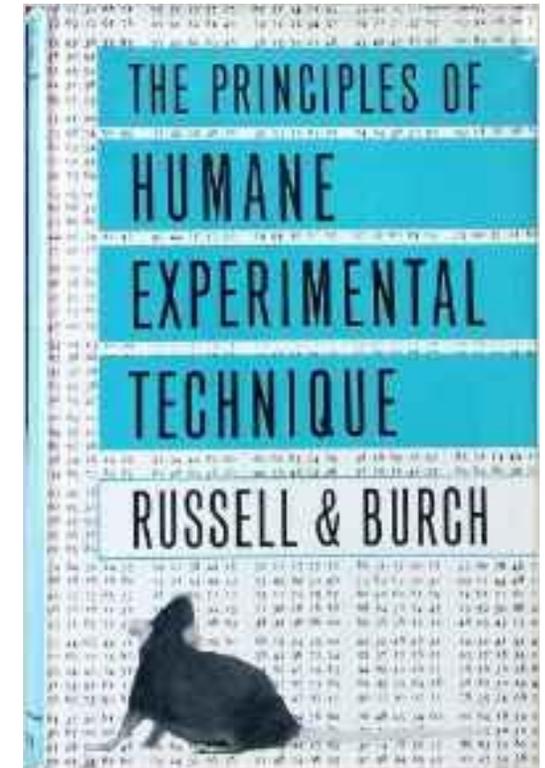
sempre que possível,
utilizar **alternativas** aos
animais vivos;

Reduce

menor número possível
de animais (viabilidade
estatística);

Refine

técnicas **menos
invasivas**,



Princípios dos 3Rs Exemplos

Replace

modelos computacionais, teste *in vitro*, cultura de células, modelos e simuladores mecânicos, vídeos para demonstração em aulas



Reduce

Escolha do modelo e linhagem adequado. Exemplo: para um teste de insulina podem ser utilizados 12 coelhos ou 96 camundongos.



Refine

Protocolos experimentais bem definidos, anestesia, analgesia, utilização de anti-inflamatórios e antibióticos. Treinamento! Exemplo: Injeção mal aplicada rompimento de fibras musculares.



No Brasil

Lei Arouca (11.794/2008): regulamenta a criação e a utilização de animais em atividade de ensino e pesquisa científica com objetivo de garantir o atendimento ético e humanitário



CONCEA
Conselho Nacional de
Experimentação
Animal

CIUCA
Sistema de Cadastro das
Instituições de Uso
Científico de Animais

CEUA
Comissões de Ética em
Uso Animal

CEUA

Analisar, emitir parecer e expedir certificado sobre os protocolos de experimentação animal compatíveis com a legislação vigente



CEUA
Comitê de Ética em Uso de Animais

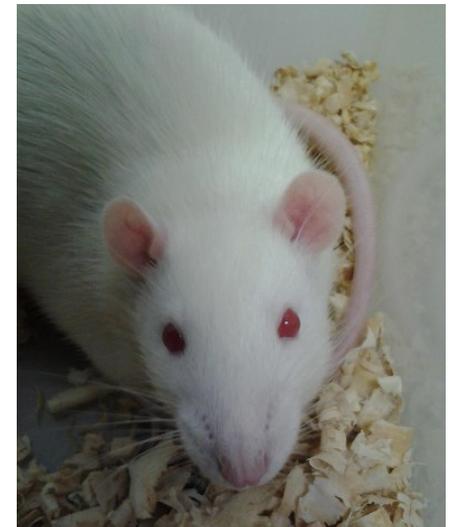
**Submissão
do Projeto**

**Ausência de
métodos
alternativos
fidedignos**

**Maior ganho de
conhecimento com
menor número de
animais**

Minimização do sofrimento

Aprovação



Biotério

Instalação destinadas a criação ou manutenção de animais, utilizados em atividade de pesquisa ou ensino. Deve proporcionar bem-estar e saúde aos animais.

Complexidade da infra-estrutura varia de acordo com a finalidade e o padrão genético sanitário dos animais



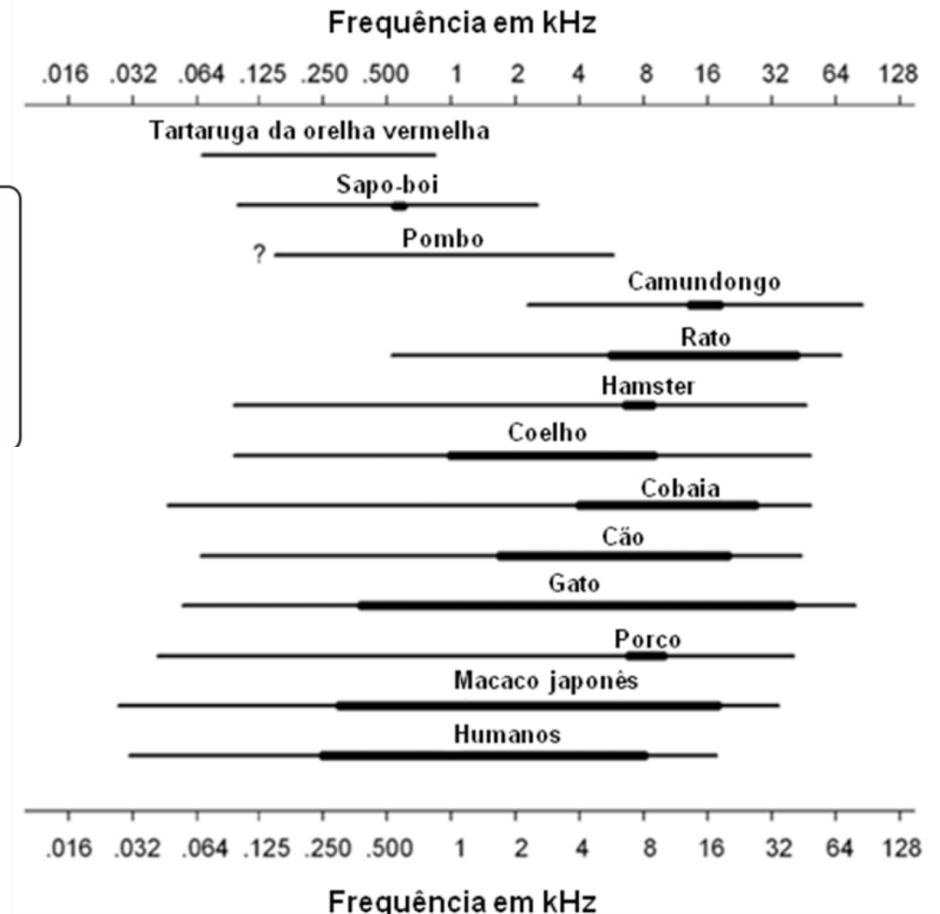
Responsabilidade pelo bem-estar dos animais

- ❖ Conhecimento da biologia da espécie (Bom alojamento manejo, alimento, etc...
- ❖ Exemplos:

Ciclo circadiano (horas de luz e escuro)



Diferentes habilidades auditivas entre as espécies



Classificação dos Animais



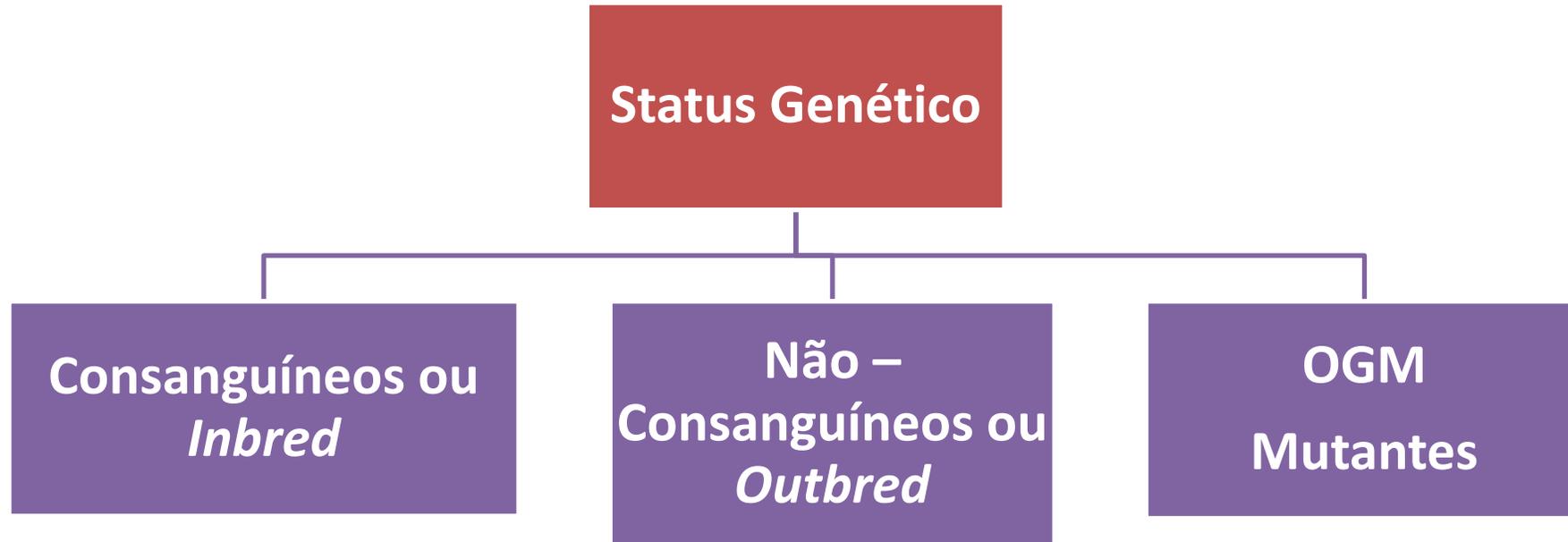
Animais Gnobióticos

- ❑ *Germfree (GF)* : totalmente livres de microbiota!
 - Obtidos pela remoção do útero no período de 24 horas antes do parto
 - Mantidos em Isoladores Barreiras Sanitárias



- ❑ Flora Definida (FD): animais GF intencionalmente contaminados com microorganismos ou parasitos específicos.

Classificação dos Animais



produto de 20 gerações consecutivas do acasalamento entre irmãos. Homozigose de 99%!

grande diversidade genética, possibilitando a reprodução de populações naturais



Mutante Nude

Experimentação com animais

- ❑ Contenção
- ❑ Paramentação correta! EPIs!
- ❑ Treinamento Especializado
- ❑ Método menos invasivo



Eutanásia

❖ Grego *euthanasia* – a morte “bela” ou “feliz” . Afastado dos outros animais;

- ❑ Tempo mínimo para a perda da consciência;
- ❑ Fácil aplicação, ação rápida e baixo custo;
- ❑ Evitar contaminações de doenças infecto-contagiosas;
- ❑ Não oferecer perigo ao profissional

Método Físico

Exemplo: Deslocamento da Cervical



Método Químico

Exemplo: Câmara de monóxido ou dióxido de carbono



Alternativas ao Uso de Cobaias

- ❑ Invertebrados: Larvas de camarão, pulga d'água

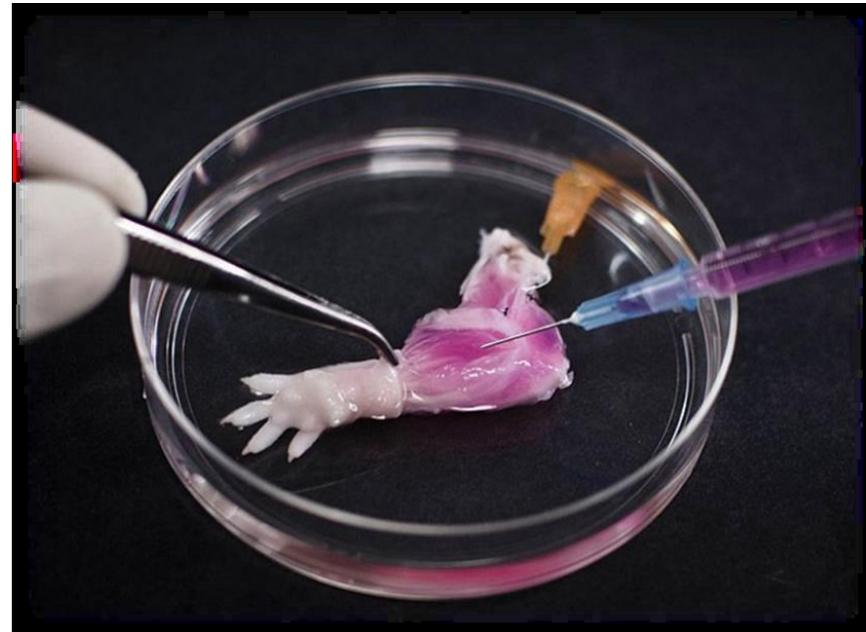


- ❑ Pele reconstituída – fragmentos de pele humana (circuncisão, sobras de cirurgia plástica);



Alternativas ao Uso de Cobaias

- Animais mortos
- Restauração de partes do corpo em sua forma funcional



Alternativas ao Uso de Cobaias

❑ Órgãos Sintéticos

❖ Primeiro órgão sintético: traquéia

2011 - Dr. Seifalian, da University College London

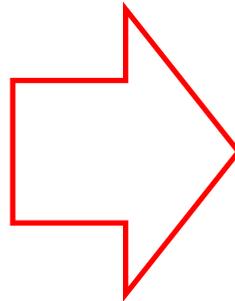


Testes Clínicos

Teste em Humanos – Histórico

Revelação dos arquivos nazistas:

- Inseminação artificial
- Congelamento
- Transplante
- Efeito do Gás mostarda, etc..



**Criação do
Código de Nuremberg-
1947**



Juramento de Hipócrates (V aC): sigilo médico e a beneficência



Código de Nuremberg

Primeiro documento ético internacional normatizando **atividade de pesquisa com humanos**

✓ Princípio vigentes até hoje para experimentação :

➤ devem ser feitos **primeiro teste em animais**

➤ **somente em voluntários**

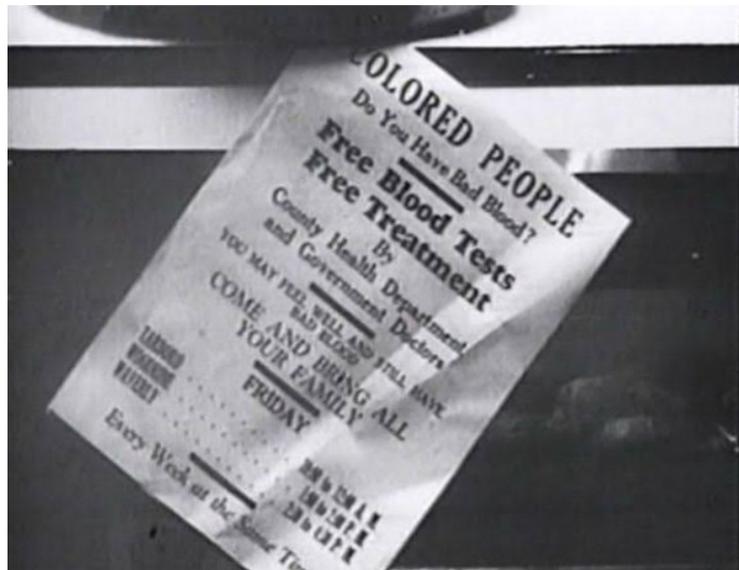
➤ **devem parar, caso prejudique um único paciente**



Médicos do regime Nazista são julgados pelos crimes cometidos

Pesquisa não éticas envolvendo seres humanos

- **Tuskegee (Alabama, EUA)** 431 negros pobres privados de tratamento contra a sífilis, entre 1932 e 1972, para permitir o estudo da história natural da doença (Reich, 1982, Filme: Miss Ever's boys).
- **Nova York (1956 a 1971)** experiências com 800 crianças deficientes mentais – inoculação do antígeno Austrália para confirmar ser um vírus o causador da hepatite.



The New York Times

*Syphilis Victims in U.S. Study
Went Untreated for 40 Years*

By JEAN HELLER
The Associated Press

Declaração de Helsinque

✓ Primeira versão -1964. Última -2013

✓ **Acesso a Saúde dos Participantes**

1º Método em estudo deve ser **comparado** com “**o melhor método da atualidade**”,
Seja ele qual for.



2º Depois de terminada a pesquisa, todos os participantes devem ter **acesso** ao “**melhor método da atualidade**”.

Até 2000 : Polêmica ! Inclusão to termo “**se possível**”. **Denúncias:**
Teste de HIV em países pobres. Exemplo: Uso de placebo em
mulheres com HIV- Transmissão para o feto!

**“O sujeito de pesquisa tem de receber o melhor
tratamento existente, não importa se ele é fácil ou não
de obter por aqui!!”**

Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)

Conselho Nacional de Saúde



Algumas Particularidades!

Brasil

- ✓ Normalmente o convite de participação parte do médico
- ✓ **Não pode envolver dinheiro**
(na Europa também)
- ✓ A maior parte das pesquisas no Brasil já se encontram na Fase III.

Estados Unidos e Canadá:

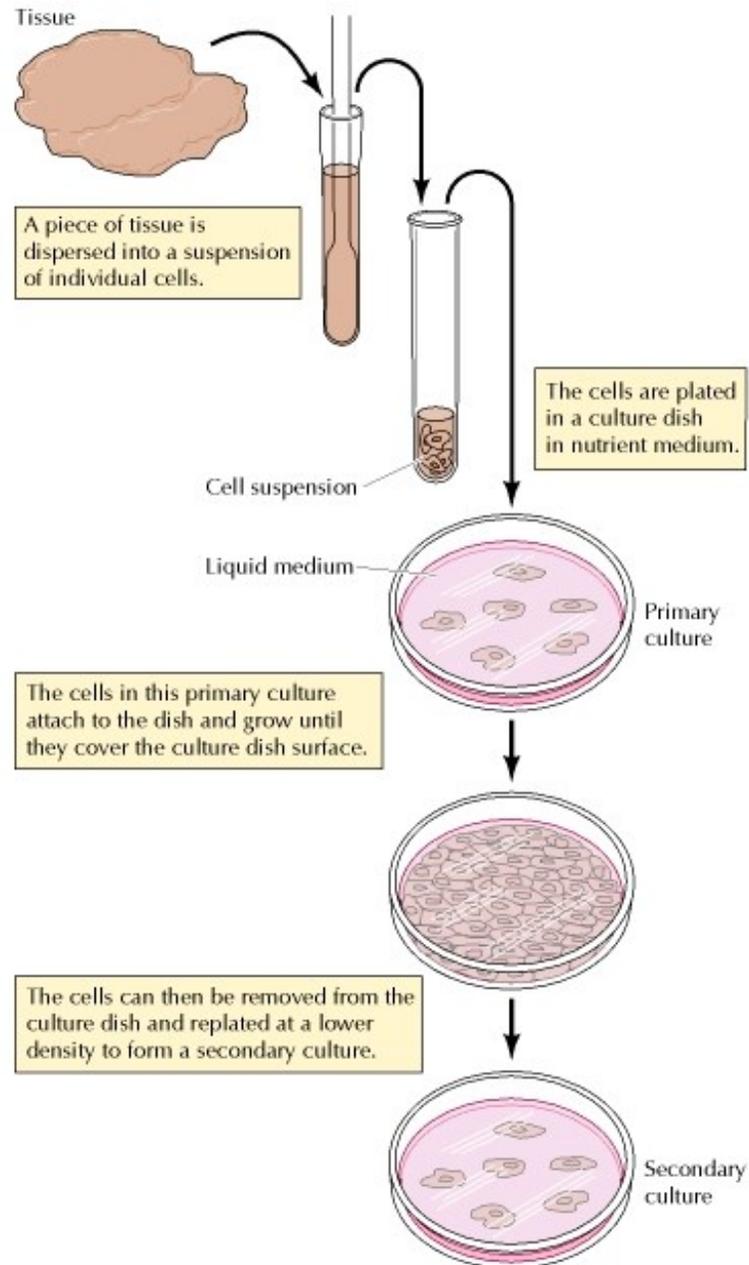
- ✓ Comum o anúncio em Rádio e TV
- ✓ **Envolve dinheiro**
- ✓ Pesquisa clínica em diferentes Fases



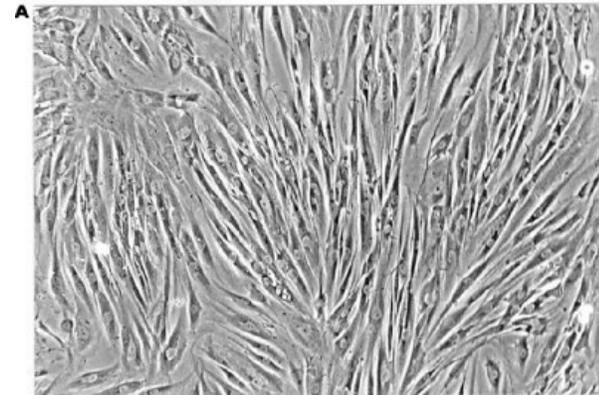
U Clinical Trial [Directive](#) and Regulation (536/2014)

- ✓ A legislação e a prática em matéria de compensação na Europa variam.
- ✓ Alguns países excluem totalmente a remuneração
- ✓ Quando houver a prática de remuneração esta deve ser analisada e aprovada pelo respectivo Comitê de Ética.
- ✓ Nenhum incentivo financeiro é dado a participantes menores incapacitados (ou a um de seus representantes legalmente designados) ou a mulheres grávidas , exceto compensação por despesas e perda de ganhos diretamente relacionados à participação no ensaio clínico.

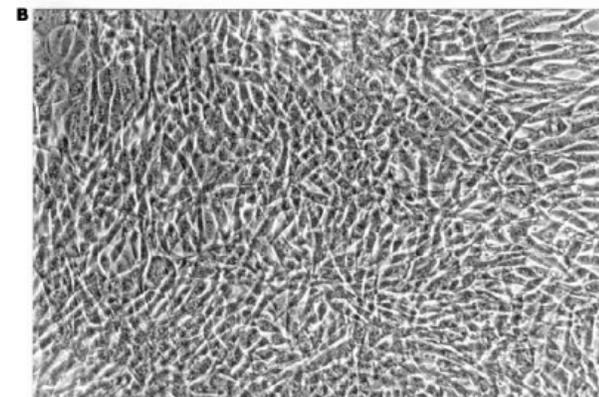
Crescimento de Microrganismos: Cultura de Células



Exemplos de tipos de célula usadas:



Fibroblastos Humanos



Fibroblastos de camundongo (3T3)

Cultura de Células Imortais

- ❑ Células Hela (1951)
- ✓ obtidas de um câncer cervical
- ✓ coletadas de Henrietta Lacks
- ✓ + de 60 mil artigos
- ✓ Poliomielite; Câncer; AIDS;

