



ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO: CUIDADOS E DESCARTES

Um biotério brasileiro que produz animais de laboratório utilizados na fabricação de soros e vacinas.

Fotografias cedidas pelos autores

Resumo

A Divisão Biotério Central do Instituto Butantan tem por finalidade a realização da produção, manutenção, descarte e fornecimento de animais de laboratório, de diversas espécies como camundongos, ratos, coelhos, cobaias, hamsters e meriones, para serem utilizados na produção e controle de qualidade de imunobiológicos e fármacos, desenvolvimento de pesquisas e alimentação de outras espécies animais tais como serpentes, aranhas e sapos. A produção, manejo e

mentos de fluxos, procedimentos operativos padrão, protocolos e certificação, que estão intimamente ligados a biossegurança dos animais e dos técnicos.

Palavras chave

Animais de laboratório, Biossegurança, Biotério, cGMP, Descarte.

Introdução

A experimentação animal data dos antigos Gregos e Romanos, porém foi durante os séculos dezoito e dezenove que progrediu lentamente de uma prática relativamente incomum, até alcançar um enfoque científico. E lentamente também, progrediam os primeiros movimentos contra o uso dos animais. A partir do século vinte intensificou-se o debate em torno das questões sobre a ética animal. Em meados do século dezoito, na Europa, uma elite social começou a questionar como os animais eram tratados, especialmente nos laboratórios de pesquisas. Com o passar dos anos essas mesmas forças sociais estavam em trabalho também na América e a prática da pesquisa com animais e a oposição a ela, começavam a crescer já no final do século dezoito.

No cenário nacional, podemos verificar que as instituições produtoras de imunobiológicos e fármacos sofreram várias manifestações éticas como as campanhas contra a febre amarela e varíola que deram origem à “revolta da vacina”. Em dez de novembro de 1904, após a publicação do decreto que tornava obrigatória a vacinação, focos de revolta explodiram em toda a cidade (RJ),

Ana Paula Rocha da Silva

(rochap@butantan.gov.br)

Pesquisadora Científica da Divisão Biotério Central do Instituto Butantan – Bióloga

Elizabete Juliana Gbiuro Valentini

(gbiuro@butantan.gov.br)

Pesquisadora Científica da Divisão Biotério Central do Instituto Butantan – Médica veterinária.

Maria de Fátima C. L. F. Távora

(fatimatavora@butantan.gov.br)

Graduanda de Biologia

Ubimara Pereira Rodrigues

(uprodrigues@butantan.gov.br)

Pesquisadora Científica e Diretora Técnica da Divisão Biotério Central do Instituto Butantan.

Virgínia Barreto Moreira

(vivimor@butantan.gov.br)

Biotecnóloga da Divisão Biotério Central – Zootecnista

Vânia G. M. Mattaraia

(vmoura@butantan.gov.br)

Pesquisadora Científica e Diretora do Serviço de Criação de Animais da Divisão Biotério Central do Instituto Butantan – Zootecnista

Endereço: Instituto Butantan

Av. Vital Brasil, 1500, Butantã – São Paulo SP

CEP: 05503-900

(11) 37267222 Ramais 2168 / 2169 / 2085



descarte dos animais são realizados obedecendo rigorosamente as Normas de Boas Práticas de Produção de Animais de Laboratórios e Biossegurança. Estas normas incluem validação de barreiras sanitárias, estabelecimento de fluxos, procedimentos operativo padrão, certificação e validação de equipamentos e processos. O objetivo deste trabalho é divulgar a estratégia empregada pelo Biotério Central do Instituto Butantan, descrevendo os principais aspectos utilizados na produção, manutenção e descarte dos animais, validação de barreiras, estabeleci-

onde vinte e três revoltosos foram mortos e sessenta e sete feridos tendo sido presos aproximadamente mil pessoas. Tudo porque o cientista Oswaldo Cruz queria salvá-los, mesmo à força, da varíola (Chalhoub, 1996).

O quanto estes movimentos são salutares? Não sabemos! Quando retrocedemos, verificamos que alguns deles foram entraves para a saúde pública e muitas vezes o que ocorreu foi o medo pelo desconhecido. Por outro lado, é importante que a sociedade exija e cobre dos governantes a criação de órgãos fiscalizadores que possam garantir o bem estar e a melhor sobrevivência do planeta. Atualmente, é grande o número de pessoas preocupadas com a proteção dos animais e mais recentemente com o padrão genético destes animais.

Desde 1995 podemos dizer que o Brasil ingressou efetivamente na era das pesquisas e no desenvolvimento dos Organismos Geneticamente Modificados, conhecidos como produtos transgênicos (Oda, 2001).

Uma questão basilar no novíssimo campo de conhecimento é biossegurança. Podemos definir biossegurança como sendo um conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes a estas atividades e que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos (Cardoso, 2001).

As instituições produtoras de imunobiológicos e fármacos necessitam de grande quantidade de animais, livres de patógenos específicos, para serem utilizados no controle de qualidade dos mesmos, pois o produto final, por exigência da farmacopéia e manual da WHO deve ser testado *in vivo*. O Instituto Butantan, que mantém tradição centenária no desenvolvimento de soros contra venenos de animais peçonhentos e a raiva, é também o maior produtor de vacinas da América Latina e principal parceiro do Ministério da Saúde nas cam-

pnhas nacionais de vacinação. “O Brasil é o único país do mundo que oferece vacinas gratuitamente para crianças, jovens e idosos” (Raw, 2004).

Com o propósito de atendermos estas necessidades, no ano de 1999 o Biotério Central do Instituto Butantan sofreu uma grande adequação física, com o intuito de produzir animais livres de patógenos específicos. Para o estabelecimento de um biotério protegido com barreiras sanitárias restritas, foi necessário o desenvolvimento de um “Plano Mestre de Validação”, criado por um grupo multiprofissional, para atuar na certificação da eficiência máxima de cada barreira. (Rodrigues et al, 2003). Foram introduzidos os princípios de zoneamento semelhantes aos utilizados na indústria farmacêutica com a utilização de uma sistemática coerente para evitar contaminações danosas, que possam vir a ocorrer durante o processo de produção, ou reduzi-las a níveis aceitáveis de acordo com as normas de *Good Manufacturing Practices* (GMP), ou em português, Boas Práticas de Fabricação (BPF). (Guias de Boas Práticas de Fabricação, 1995).

Este artigo tem como objetivo divulgar a estratégia empregada pelo Biotério Central do Instituto Butantan, descrevendo os principais aspectos utilizados na produção, manutenção e descarte dos animais, vali-

dação de barreiras, estabelecimentos de fluxos, procedimentos operativos padrão, protocolos e certificação, que estão intimamente ligados a biossegurança dos animais e dos técnicos.

Materiais e Métodos

O Biotério Central do Instituto Butantan é um biotério de produção, ou seja, em suas dependências não alojamos animais infectados ou que tenham passado por algum tipo de manipulação experimental. Nele estão alojadas as colônias de fundação, as quais dependendo do padrão genético da linhagem, têm um manejo definido. Ainda temos as colônias de expansão e de multiplicação, para que possamos atender a demanda e preservar as linhagens. Produzir animais dentro dos conceitos de BPF significa cumprir com os conceitos da Garantia da Qualidade. Boas Práticas de Fabricação é a parte da Garantia da Qualidade que assegura que os produtos são consistentemente produzidos e



controlados, com padrões de qualidade apropriados para o uso pretendido e requerido pelo registro. A aplicabilidade desses conceitos para produção de animais de laboratório é ainda muito recente, havendo dificuldades para obtenção de literatura de apoio. Portanto, descrevemos as principais práticas (BPF) aplicadas no nosso biotério:

Pessoal qualificado e devidamente treinado;

Nós, pesquisadores da Ciência de Animais de Laboratório, temos como prioridade formar pessoas para a área. Sendo assim, realizamos anualmente cursos de treinamento para técnicos de nível médio e superior, para os funcionários do biotério do Instituto e de outras Instituições. Durante os meses de setembro ou outubro realizamos

uma jornada interna, que consiste em: um funcionário de cada área apresenta para todos o seu trabalho e as suas observações. Por muitas vezes, após a avaliação do supervisor, elas podem ser aceitas e passarão a fazer parte dos Procedimentos Operativos Padrão (POP). Todos os funcionários são instruídos e incentivados a reportar aos seus supervisores quaisquer condições relativas ao ambiente, equipamento ou pessoal que considerem prejudiciais



à qualidade e integridade do trabalho por ele desenvolvido. O ingresso de um novo funcionário depende de um período de treinamento, da realização dos exames admissionais e dos exames específicos para a área de atuação.

Espaço e instalações adequadas;

O biotério é um prédio independente, isolado das demais áreas. Possui entrada e vestiários separados, sistema de ventilação, exaustão, casa de máquinas, caldeiras e gerador ex-

clusivo. Sua arquitetura é pavilhonar, sendo que cada linhagem é mantida em um pavilhão e este totalmente independente dos demais. Fig. 01.

As áreas auxiliares como; laboratório, vestiários de barreira, administração, almoxarifado, área de descanso e refeição são totalmente separadas.

O projeto arquitetônico contemplou cada pavilhão com estrutura física, equipamentos e definição de fluxos de forma a minimizar ou eliminar os riscos de contaminação através dos insumos e pessoas enviados as áreas de produção. Fig. 02. A definição do fluxo de materiais e de pessoas evita a contaminação cruzada.

Os cantos sanitários não permitem o acúmulo de sujeira e facilitam a manutenção de forma adequada nas áreas. Todos os equipamentos são regularmente validados, possuem suas especificações fixadas ao lado e os procedimentos de uso e limpeza descritos nos POPs e no Manual de Limpeza. Cada unidade de produção dispõe de salas com classificação 10.000, destinadas à criação de matrizes essas salas possuem sistema de filtração de ar, com filtros HEPA (High Efficiency Particulate Air). A construção obedece aos princípios de zoneamento, onde ocorre um efeito em cascata, com o fluxo de ar partindo da área de maior pressão, para as áreas de menor pressão. As zonas diferenciam-se pela pressão e pureza do ar, porém mantendo os demais parâmetros físicos, como: fluxo do ar não turbulento e unidirecional, velocidade, troca mínima horária, temperatura e umidade relativa, níveis de ruído e iluminação. Uma importante característica do biotério é o sistema de exaustão. Os animais são alojados em gaiolas, distribuídas em estantes metálicas com seis prateleiras cada e a exaustão é feita através de um sistema de plenos, instalados nas paredes



das estantes, atrás das gaiolas. Isto significa, que os odores fortes de amônia produzidos pela urina e fezes dos animais são exauridos diretamente das gaiolas sem circular na sala. Fig. 03.

Manuais e Procedimentos Operativos Padrão

A documentação constitui parte essencial do sistema de Garantia da Qualidade e, deve estar relacionada com todos os aspectos das BPF. Tem como objetivo garantir as informações necessárias a rastreabilidade de qualquer produto. Todos os documentos podem ser reunidos em uma única pasta, ou permanecerem separados, facilmente disponíveis, constituindo o registro de todas as informações da história do produto.

Todos os processos produtivos dos animais estão descritos nos Manuais, de uma forma mais geral e detalhadamente nos Pops. Os manuais, os procedimentos e toda documentação é descrita com a participação do funcionário da área, depois avaliada pelos supervisores e finalmente aprovada pelo corpo técnico do biotério. No Biotério temos o Manual de Procedimentos, que trata do manejo com os animais. No Manual de Biossegurança estão relatados todos os possíveis riscos e as exigências para os procedimentos dentro e fora das áreas de criação. O Manual de Limpeza trata do procedimento de limpeza de cada área, desde a forma de ser limpa até os produtos de limpeza e as suas diluições (Fig.4). O Manual de Biossegurança deve ser lido por todos os funcionários que assinam um termo, de ciência e de acordo, com o cumprimento das normas nele estabelecidas. Um outro complemento do Manual de Biossegurança é a documentação de recebimento e de instruções de uso dos equipamentos de proteção individual (EPIs). Os Pops descrevem, passo a passo, cada operação do processo de produção, seja ele manejo, esterilização, procedimento de fluxo de pessoas e insu-

mos. A elaboração da documentação deve obedecer determinadas exigências, que dependem do tipo de documento, ou seja, se é um Pop, um



protocolo (prot.), uma requisição de análise (RqA), etc. Porém existem normas comuns a todos, tais como: Os documentos devem ser redigidos, revistos e distribuídos somente as pessoas designadas. Os originais devem ser aprovados, assinados e datados pelo responsável técnico. Ne-

nhum documento deve ser modificado sem autorização prévia. O conteúdo dos documentos não pode ser ambíguo, o título e o seu objetivo devem ser apresentados de forma clara, precisa e correta. Além disso, devem ser dispostos de forma ordenada e serem de fácil verificação. Os documentos devem ser regularmente revistos e atualizados. As alterações efetuadas em qualquer documento deve ser assinada e datada, a alteração deve possibilitar a leitura da informação original.

Armazenamento e transporte adequados;

Os animais são mantidos em colônias fechadas, com sistemas de acasalamento adequado ao padrão genético de cada linhagem. Ficam em acasalamentos monogâmicos nas colônias de fundação, poligâmicos nas colônias de multiplicação e separados por sexo nas salas de estoque, onde aguardam atingir o peso ou a idade solicitada pelos usuários. Um procedimento peculiar do nosso biotério é a manutenção de uma amostra de todos os desmames realizados. Essa amostra é mantida no biotério até atingir a idade adulta, com a finalidade de possibilitar o rastreamento dos lotes dos animais fornecidos aos usuários.

O transporte dos animais é realizado de terça a quinta-feira, sempre na parte da manhã. Em condução do biotério um técnico acompanha a entrega dos animais aos diversos Laboratórios. A entrega é registrada no "protocolo de entrega", onde consta, quantidade, sexo, idade ou peso, dia e hora de fornecimento. Esse protocolo é assinado pelo requisitante e arquivado em nossa documentação.

Descarte

O procedimento de descarte dos animais do biotério obedece normas rígidas, descritas tanto no manual de procedimentos, quanto no manual de biossegurança. Os animais saem das áreas de produção pela trampa de expurgo de cada área. O funcionário recebe os animais, os conduz à câmara de euta-



násia e esta é efetuada de acordo com o procedimento descrito no Manual de Procedimentos. Nos novos conceitos de ética, as espécies convencionais com peso abaixo de 1Kg, podem ser eutanasiadas em câmeras de CO₂ Figs 05 e 06. Animais de peso superior são anestesiados antes de colocados na câmara de CO₂.

O procedimento de eutanásia é resultante de vários treinamentos com a finalidade de preparar o técnico a identificar a cessação dos sinais vitais nos animais. É realizado um revezamento entre os técnicos, com o objetivo de que estes não fiquem insensíveis ao procedimento. Após a eutanásia, os animais são acondicionados em sacos plásticos identificados com símbolo de risco biológico e levados ao freezer (-20°C) onde permanecem até a coleta do lixo. A coleta é feita pela prefeitura (Coleta de Resíduos Infectantes), em carros especiais e levada ao incinerador público, Figs. 07, 08, 09, 10 e 11.

Resultados

A adequação física do biotério foi realizada em 1999 e nestes quatro anos percebemos que a adoção destes cuidados tem permitido a

aplicação do princípio dos 3Rs. E apesar da produção científica e da produção de produtos ter aumentado ano a ano houve uma diminuição no número de animais fornecidos, isto se deve a obtenção de um animal com padrão sanitário definido.

Conclusão

Com a implantação das normas de biossegurança e de cGMP em todos os procedimentos de rotina, fomos classificados “em conformidade” pelos Órgãos de Vigilância (Auditoria/Inspeção) e nenhuma adequação ou mudança nos foi solicitada na parte física e de documentação. Sempre que fomos submetidos aos órgãos de vigilância sanitária, como ANVISA e WHO, conseguimos a aprovação dos procedimentos e a certificação dos produtos. Além do que, até o momento conseguimos manter o padrão sanitário e genético exigido pelos laboratórios de pesquisa e produção e no mesmo período não registramos nenhum tipo de acidente de trabalho.

Referências Bibliográficas

1. Cardoso, T.A.O.Considerações

- Sobre a Biossegurança em Arquitetura de Biotérios. Bol Centr. Panam. Febre Aftosa, 64-67: 3-17, 1998-2001.
2. Cidade Febril – cortiços e epidemias na corte imperial Sidney Chalhoub-SP-Ed. Cia das Letras, 1996-250p.
 3. Finarde, F. F. & Rodrigues, R.S.M. Manuseio e descarte de organismos geneticamente modificados. In: Hirata, M H.; Mancini – Filho, J. (ed.) Manual de Biossegurança . São Paulo. Manole. 2002, 233 – 245.
 4. Guia Para Boas Práticas de Fabricação Para a Indústria Farmacêutica – portaria Nº 16, de 06 de março de 1995.
 5. Mattaraia, VGM.; LCAG. Chaguri ; AP. Rocha da Silva ; MFCLF. Távorá ; UP. Rodrigues & HG. Higashi. Perspectives to alternatives methods to immunobiologicals and laboratory animals production at Instituto Butantan. Animal Research and Welfare: A Partnership - ICLAS / FELASA – Palma de Mallorca – Balearic Island, Spain, 1999.
 6. Norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) – EB-2115:1191 – Esterilização- Esterilizadores a vapor-esterilizadores grandes- Requisitos.
 7. Norma Brasileira ABNT NB 658/81
 8. Normas da ISO/TC 209
 9. Oda, L. Biossegurança no Brasil Segue Padrões Científicos Internacionais. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. Ano 03, Nº 18, 2001, 05-08.
 10. Raw, I. Unicamp testa vacina dupla contra tuberculose e hepatite B em Bio Notícias, 27/02/2004.
 11. Rodrigues, U.P.; Mattaraia, V.G. M.; Valentini, E. J.G.; Damy, S. B. Implantação de Boas Práticas de Produção (cGMP) no Biotério do Instituto Butantan. Controle de Contaminação. São Paulo, RPA editorial, 2003, 20-24.
 12. U.S. PHARMACOPEIA NATIONAL FORMULARY – USP-23; NF.18,1995.

