



# Caracterização de biotérios, legislação e padrões de biossegurança

Politi, F.A.S.<sup>1</sup>; Majerowicz, J.<sup>2</sup>; Cardoso, T.A.O.<sup>3</sup>; Pietro, R.C.L.R.<sup>1</sup>; Salgado, H.R.N.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup>Centro de Criação de Animais de Laboratório, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>3</sup>Núcleo de Biossegurança, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz Rio de Janeiro, Brasil.

Recebido 03/06/2008 – Aceito 18/07/2008

## RESUMO

**O emprego de animais de laboratório, em conjunto com estudos realizados em humanos, fornece uma base para a compreensão de vários processos fisiológicos e patológicos importantes. Além disso, os resultados de estudos experimentais asseguram uma melhor compreensão e segurança para o desenvolvimento de técnicas cirúrgicas na clínica médica. Por se tratar de material biológico vivo, devemos garantir sua integridade física, levando-se em consideração a genética, a nutrição, as contaminações microbiológicas e a correta manipulação, a fim de se evitar que ocorram conclusões inválidas nos experimentos ou que se aumente desnecessariamente o número de animais utilizados. Em paralelo às preocupações e legislações sobre o uso de animais de laboratório, desenvolveu-se também a preocupação com o bem estar e a segurança das pessoas que manuseiam os animais de laboratório, uma vez que estas correm riscos de adquirirem doenças ocupacionais pela presença de contaminações zoonóticas ou por desenvolvimento de reações alérgicas. A prevenção requer a aplicação de modernos avanços tecnológicos no desenho do biotério e nas rotinas de trabalho. Infelizmente poucos estabelecimentos do país apresentam recursos humanos com formação apropriada e infra-estrutura básica de pesquisa que inclua os centros de criação de animais de laboratório, equivalentes àqueles existentes nos Estados Unidos e Europa.**

**Palavras-chave:** Animais de laboratório. Legislações. Biotério. Segurança.

## BREVE HISTÓRICO

Há séculos os animais são utilizados pelo homem, seja na alimentação, na força física ou em consórcio com a ciência na busca por avanços na área de saúde. Neste sentido, a melhoria e a padronização das condições de manutenção e de experimentação tornam-se fatores imprescindíveis para o controle dos resultados e o avanço das técnicas empregadas. Neste artigo é realizada uma revisão sobre biotérios, dando ênfase à caracterização, à legislação e aos critérios de biossegurança, com o intuito

de orientar os profissionais e alunos que atuam nesta área e destacar a importância dos cuidados com os animais.

Os trabalhos científicos na área biológica do conhecimento contribuem de forma inquestionável para o bem estar tanto do homem quanto dos animais. Porém, as informações necessárias para o avanço de determinadas pesquisas não podem ser obtidas somente pela observação e pelo registro daquilo que ocorre e, por isso, a experimentação científica faz-se necessária para que o conhecimento perpetue-se. O uso de animais para estudos científicos é uma prática comum, há muito tempo utilizado, e para que seja aceitável, é necessário buscar uma postura ética em todos os momentos do desenvolvimento das pesquisas (Paiva et al., 2005). Atualmente, apesar de todos os esforços da comunidade científica a fim de reduzir e substituir a utilização de animais de laboratório na experimentação biológica, ainda não foi possível abandonar o uso deles na avaliação da farmacocinética e seguridade dos mais diferentes produtos (CCAC, 1993; FELASA, 1999; CPCSEA, 2003; Marona & Lucchesi, 2004). Assim sendo, a preocupação com o bem-estar animal encorajou experimentos, inclusive por nosso grupo de estudos, com a intenção de melhorar as condições de manuseio, objetivando a melhor padronização de parâmetros necessários para a realização dos ensaios biológicos (Marona & Lucchesi, 2003; Marona & Lucchesi, 2004; Chorilli et al., 2007).

Marona & Lucchesi (2003) descreveram a adaptação da técnica clássica para a determinação da motilidade intestinal, diminuindo o tempo de jejum a que os animais são submetidos, objetivando assim a minimização do estresse do animal. Os mesmos autores desenvolveram, em 2004, um novo ensaio de trânsito intestinal em camundongos, no qual não há a necessidade de sacrificar os camundongos para a avaliação da motilidade intestinal dos produtos analisados.

Chorilli et al. (2007) realizaram o compilamento bibliográfico sobre o emprego de camundongos na experimentação animal, abordando sua biologia geral, fisiologia de reprodução, sistemas de criação, genética, habitação, alimentação, manejo, dor e eutanásia, técnicas de risco desenvolvidas na experimentação, coleta de sangue, experimentos farmacológicos e toxicológicos. Embora tendências atuais preconizem a utilização de métodos alternativos (estudos *in vitro*, culturas de células, etc.), os

\*Autor correspondente: Profa. Dra. Hérida Regina Nunes Salgado – Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, UNESP - Rodovia Araraquara/Jaú - km 1 - CEP.14801-902 – Araraquara – SP – telefone: (16) 33016967 – Fax: (16) 33220073 - e-mail: salgadoh@fcfar.unesp.br

modelos animais, como os camundongos, apresentam como principal vantagem o fornecimento de informações sobre o organismo como um todo, fato que não é conseguido com outras técnicas, o que ainda possibilita o seu emprego em pesquisas científicas.

No século XVI, na Inglaterra, Francis Bacon fez uma reflexão sobre a experimentação animal, onde afirma que o avanço da ciência se faz através de suas observações, na sua obra intitulada “*Proficiency and Advancement of Learning Divine and Human*”, publicada em 1605 (D’avilla et al., 2008).

A partir da publicação e divulgação das idéias contidas no livro “*A Origem das Espécies*” de Charles Darwin, em 1859, estabeleceram-se os pressupostos da relação existente entre as diferentes espécies animais em um único processo evolutivo. Com isto, começaram a serem encorajadas as extrapolações dos dados obtidos em pesquisas com modelos animais para seres humanos (Paiva et al., 2005). Durante muitos anos as pesquisas que utilizam modelos animais sofreram poucos questionamentos, devido, sobretudo, ao seu impacto na sociedade, trazendo melhorias e benefícios à saúde pública tais como as vacinas contra raiva, tétano e difteria, além dos interesses econômicos defendidos pelas poderosas indústrias farmacêuticas. Por outro lado, nesta mesma época surgiram inúmeras sociedades de proteção aos animais (Paiva et al., 2005).

Em 1959, a publicação do livro “*Principles of Human Experimental Technique*”, pelos biólogos William M. S. Russell e Rex L. Burch expôs uma nova alternativa na utilização de animais para experimentação. Os autores estabeleceram o conceito dos três “Rs”: *Replace* (substituir), *Reduce* (reduzir) e *Refine* (refinar). Segundo os autores, tal proposta não impediria a utilização de modelos animais em experimentação, mas realizaria uma adequação no intuito de humanizá-la (Paiva et al., 2005).

Em 1975, com a publicação do livro “*Animal Liberation*”, escrito pelo professor australiano Peter Singer, houve o ressurgimento da discussão sobre a utilização de animais em pesquisas e em outras atividades, causando muita polêmica, sobretudo por descrever as condições as quais os animais eram submetidos pela indústria de cosméticos e pelos criadores rurais (Paiva et al., 2005). No dia 27 de janeiro de 1978 a Assembléia da UNESCO, realizada em Bruxelas na Bélgica, influenciada pela grande repercussão gerada pelo livro do professor Singer, proclamou a Declaração Universal dos Direitos dos Animais (Schnaider & Souza, 2003).

No Brasil, a primeira manifestação legal sobre o bem estar dos animais foi o Decreto Federal nº 24.645, de 1934, que estabelecia penas que variavam de multas a prisões para aqueles que praticassem atos de abuso ou crueldade, seja em pesquisas ou apenas no trato cotidiano dos animais (Brasil, 1934). Em 1979, a Lei Federal nº 6.638 é promulgada, estabelecendo normas para a prática didático-científica de vivissecção de animais, porém, como não foi regulamentada, não pôde ser aplicada (Brasil, 1979). Em 1991, o então *Colégio Brasileiro de Experimentação Animal* (COBEA), atual Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL), filiado ao *International Council for Laboratory Animal Science* (ICLAS), visando suprir a ausência de uma lei que protegesse os profissionais

envolvidos com esta prática e regulamentasse o uso de animais em experimentos, elaborou 12 artigos intitulados Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA, 1991). Em 1998, entrou em vigor a Lei de Crimes Ambientais (Lei nº 9.605), devidamente regulamentada pelo Decreto nº 3.179, de 1999, a qual adotou, parcialmente, as noções contidas no conceito dos três Rs (Brasil, 1998). Atualmente, após tramitar por 13 anos, foi aprovada a Lei nº 11.794, em 8/10/2008, regulamentada pelo Decreto nº 6.899, em 15/7/2009, estabelecendo a implantação do CONCEA - *Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal*, das CEUAS - *Comissões de Ética no Uso de Animais*, além dos procedimentos e as responsabilidades para uso de animais de laboratório (Brasil, 2008; Brasil, 2009).

Desde 1995 pode-se dizer que o Brasil efetivamente atua na área de pesquisas e desenvolvimento biotecnológico de Organismos Geneticamente Modificados, ou simplesmente, transgênicos (Oda, 2001). As instituições produtoras de imunobiológicos e fármacos carecem de uma grande quantidade de animais saudáveis e com constituição genética definida, para serem utilizados no controle de qualidade, pois o produto final, por exigências farmacopeicas e de manuais da Organização Mundial da Saúde deve ser testado *in vivo* (Silva et al., 2003). Além das grandes indústrias, universidades e outros centros de pesquisa também requerem animais de boa procedência para a condução de seus experimentos. Para suprir esses centros de pesquisa, surgiram os biotérios, que são definidos como áreas destinadas à criação e à manutenção de animais de laboratório em condições sanitárias, dentro de padrões rigorosamente estabelecidos, respeitando as normas éticas e as leis de manipulação e vivissecção (Cardoso, 2001). Podem-se separar os biotérios segundo a finalidade a que se destinam. Os biotérios de criação são aqueles onde são produzidas e mantidas as matrizes das linhagens, com controle rigoroso da saúde dos animais e esquemas especiais de cruzamentos para manutenção das características genéticas, assegurando os padrões de qualidade. Os biotérios de produção são aqueles onde se criam grandes quantidades de animais para atender às pesquisas, recebendo matrizes dos biotérios de criação e, por fim, os biotérios de experimentação que se destinam a receber os animais dos biotérios de produção para utilizá-los na experimentação, funcionando como infectório (Cardoso, 2001).

## CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DOS ANIMAIS

A disponibilidade de animais de laboratório por si só não garante que a pesquisa ao qual serão utilizados seja realizada com sucesso. É preciso atentar que certas características biológicas são imprescindíveis para que os animais desempenhem suas funções eficazmente. Os animais produzidos com a finalidade de serem utilizados em trabalhos científicos devem possuir características genéticas e sanitárias avaliadas regularmente, visando assegurar padrões pré-estabelecidos (Majerowicz, 2005).

De acordo com a caracterização genética dos animais, existem dois tipos de linhagens: “inbred” e “outbred”. As criações chamadas de “outbred” são caracterizadas como linhagens geneticamente heterozigotas para muitos dos pares alélicos, sendo mantidas em sistema de cruzamentos

aleatórios. Por outro lado, as criações chamadas de “inbred”, são obtidas por acasalamentos entre irmãos por mais de 20 gerações, sendo homocigotas para quase todos os pares alélicos (Jonas, 1976; Festing, 1993; Majerowicz, 2005). Segundo Afif e Rosenkranz (1990), 98,6% é o mínimo de homocigose entre pares de genes alélicos, requerido para linhagens distintas sejam consideradas consanguíneas.

Para o uso de animais em biotérios de criação devem ser consideradas as características genéticas, que são de grande importância no que se refere à seleção e ao manejo dos animais utilizados em pesquisas na área da saúde. Vários tipos de avaliações podem ser feitos para monitorar e controlar este tipo de variabilidade, tais como simulações computadorizadas, marcadores bioquímicos, imunológicos e de DNA, ou análises genéticas quantitativas (NRC, 2003; Majerowicz, 2005).

Outro aspecto importante está relacionado à confiança e reprodutibilidade de dados obtidos com linhagens de animais de experimentação, as quais, sendo padronizadas, possibilitam-nos simular *in vivo* as interações entre órgãos e sistemas, reagindo a um determinado tipo de tratamento químico ou biológico, favorecendo a compreensão de eventos relacionados ao desenvolvimento de determinada doença. Porém, experimentos realizados com animais contaminados trazem um viés, comprometendo a exatidão dos resultados, dificultando sua interpretação ou fornecendo falsos positivos, tornando o animal inadequado como modelo experimental (Passos, 2003).

## CARACTERIZAÇÃO SANITÁRIA

A preocupação com as medidas de higiene e combate de patógenos no trato com animais de experimentação nem sempre foi prioridade. Até a década de 1960, pouca importância era dada ao controle de doenças para evitar a contaminação dos animais. Na verdade, havia um desconhecimento da ocorrência natural de doenças em roedores que podiam interferir no resultado das pesquisas. O elevado índice de mortalidade de cobaias de laboratório por doenças que ocorriam naturalmente durante os procedimentos experimentais era visto como parte inerente do processo científico. Porém, a partir dos anos 60, foram estabelecidas algumas técnicas para melhor controlar as condições sanitárias, destacando-se o uso da técnica de cesárea asséptica como um meio de repor estoques de animais infectados com filhotes não-infectados, eliminando-se, a transmissão vertical (Baker, 1998; Majerowicz, 2005).

A partir dos anos 80, houve uma redução significativa da incidência de patógenos em animais de experimentação. Com a utilização de testes sorológicos de anticorpos específicos, foi possível determinar os animais contaminados e evitar que cruzassem com animais saudáveis, padronizando as linhagens (Baker, 1998).

Atualmente, os critérios na pesquisa científica exigem animais com padrão sanitário definido, e desta forma têm sido feitos investimentos na melhoria da estrutura dos biotérios, principalmente os de criação. Com a padronização microbiológica, tem-se conseguido diminuir o número de animais usados, sobretudo poder diminuir as variações nos grupos de animais-teste, contribuindo tanto para o bem estar dos animais quanto dos profissionais

envolvidos no processo, uma vez que diminuem os riscos de zoonoses (FELASA, 1999; Majerowicz, 2005).

Majerowicz (2005) apresenta em seu trabalho os seguintes padrões sanitários (Figura 1):

**Animais “convencionais”:** os animais são criados em sistemas de gaiolas abertas com fluxo livre de pessoas e materiais, o que não confere qualquer tipo de barreira sanitária adequada para impedir a introdução de agentes externos, tornando-os susceptíveis a contaminações e infecções;

**Animais “livres de microrganismos patogênicos específicos” (*specific pathogen free* - SPF):** os animais são criados em biotérios com eficientes barreiras sanitárias ou são mantidos em acomodações que lhes privam de contato com potenciais agentes patogênicos, tornando sua microbiota controlada. Esse padrão de saúde dependerá de uma lista individual de exclusão de micro-organismos;-

**Animais “axênicos”:** os animais são criados e mantidos em isoladores que os mantêm livres de quaisquer tipos de microrganismos ou outras formas de vida associadas;

**Animais “gnotobióticos”:** os animais são criados e mantidos como os animais axênicos, porém, geralmente apresentam alguma forma de vida, não patogênica, adicional;

**Animais com “microbiota definida associada”:** os animais são criados como axênicos, porém, posteriormente são infectados intencionalmente com um ou mais microrganismos, patogênicos ou não;

**Animais “mantidos em barreiras”:** os animais são criados como tendo a microbiota definida, porém, posteriormente são removidos dos isoladores e alocados em um biotério com barreiras sanitárias definidas, para que sejam monitorados quanto à presença de microrganismos deliberadamente inoculados ou acidentalmente adquiridos;

**Animais “monitorados”:** os animais são criados e alojados em sistema de barreira de baixa segurança e que, por monitoramento periódico, revelam-se livres da maioria de patógenos;

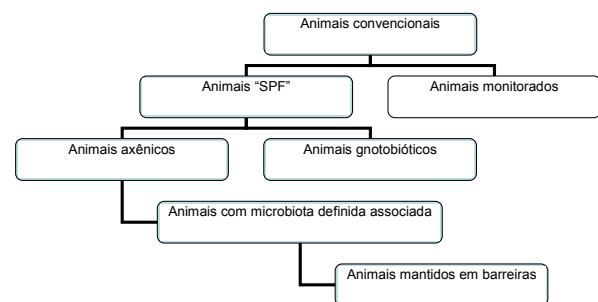


Figura 1. Padrões sanitários de criação.

A qualidade sanitária em um biotério é imprescindível para seu funcionamento regularizado. O risco de introdução de uma infecção em colônias de roedores é sempre muito alto no recebimento de novos animais. A introdução de um único animal infectado pode causar doença epidêmica, trazendo diversos transtornos, tanto com a perda de tempo, já que a eliminação da contaminação de um patógeno no biotério torna-se um processo lento e custoso, como a interferência direta nos dados levantados

na pesquisa. Como a introdução de novos animais é prática comum, e por vezes necessária, na realização de determinados projetos, é ideal que se minimizem os riscos de contaminação com medidas de precaução como exames do padrão de saúde para todos os novos animais adquiridos, definindo-se o padrão microbiológico e parasitário destes (Jonas, 1976; NRC, 1976; FELASA, 1999; IVIS, 2003). O correto é que os biotérios de criação sejam edificados com barreiras sanitárias adequadas e possuam programas de vigilância de saúde que certifiquem que suas colônias são livres de patógenos específicos, indicando ainda, quais microrganismos são monitorados (Jonas, 1976; IVIS, 2003).

Com relação ao padrão microbiológico dos animais em um biotério, nem sempre infecção é sinal de doença. A infecção indica que determinado animal é portador de algum microrganismo, não necessariamente patogênico, podendo este estar apenas estabelecendo uma relação comensal com seu hospedeiro. Porém, para efeito de pesquisas, mesmo estes microrganismos não expressando manifestações clínicas, podem interferir nos resultados dos experimentos. Sendo assim, animais muitas vezes considerados saudáveis, por não apresentarem sintomatologia aparente ou quaisquer alterações comportamentais, podem ser inadequados para pesquisas por conterem alguma forma de vida associada, como por exemplo, vírus, bactérias ou protozoários (Baker, 1998).

Devem-se assegurar os padrões microbiológicos dos animais e do ambiente do biotério. Para tanto, a quarentena passa a ser um requisito importante para a verificação do padrão microbiológico de novos animais a fim de não acarretar danos à saúde dos outros animais, dos profissionais e do ambiente do biotério (Rehg & Toth, 1998). Dessa forma, a quarentena consiste na manutenção isolada de animais recém-adquiridos para caracterizar o seu perfil sanitário, segregando aqueles que forem suspeitos de estarem infectados, ou ainda, aqueles que forem de espécies incompatíveis (USA, 1971; CCAC, 1993; NRC, 2003). Segundo o trabalho de Hesler & Moreland (1984) e o que foi exposto pelo International Veterinary Information Service (2003), o tempo de quarentena e os tipos de exames dependem da espécie animal, da origem da colônia, do modo de transporte, do sistema de barreiras de segurança, dos exames de vigilância e da destinação dos animais nas novas instalações.

Um ponto importante a ser destacado na segurança microbiológica dos animais refere-se aos profissionais bioteristas e o próprio ambiente em si, que são os vetores biológicos de origem externa, que podem transmitir contaminações (Small, 1984; FELASA, 1999). Hábitos, como higiene das mãos, reduzem a disseminação de doenças. Desta forma, a higiene pessoal é extremamente importante na manutenção da saúde dos animais (Mezadri et al., 2004). A adoção de barreiras sanitárias adequadas, para os diversos tipos de acessos em um biotério, além da adoção de medidas de controle de infestação por agentes externos, deve ser priorizada, a fim de minimizar estes e outros riscos de contaminações (FELASA, 1999).

## CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL

Devemos considerar que a condição sanitária é determinada não somente por fatores como a origem dos

animais e meio ambiente em que estão vivendo, os quais afetam diretamente suas respostas biológicas, fisiológicas e comportamentais. Assim, desde a elaboração e aprovação do projeto inicial, os biotérios devem atender às recomendações para minimizar os efeitos do meio ambiente nestas variáveis dos animais (WHO, 2001; Chorilli et al., 2007). Instalações adequadas para os padrões necessários à criação e manutenção de animais de laboratório devem possuir programas de gerenciamento das condições físicas e ambientais, garantindo cuidados que favoreçam o desenvolvimento e a reprodução dos animais, mantendo a sanidade e bem-estar, bem como minimizando as variações que podem interferir nos resultados dos ensaios (NIH, 2002). Um erro comum é a expectativa de que os animais utilizados respondam fisiologicamente da mesma forma aos interferentes externos, independentemente de onde estejam alojados (Lang & Vessel, 1976). Embora um ambiente constante em todos os parâmetros recomendados seja o ideal, isso é difícil de ser alcançado (De Luca et al., 1996).

Entende-se como microambiente o espaço físico mais próximo ao animal, ou seja, a gaiola, com parâmetros próprios para temperatura, umidade relativa, composição de gases e partículas do ar. Por outro lado, o macroambiente constitui o ambiente físico secundário, em torno do microambiente, representado, por exemplo, pela sala, o estábulo ou qualquer outro hábitat externo. Embora ambos estejam relacionados, o ambiente na gaiola pode ser bem diferente do secundário e sofre influências pelas características próprias desta interface (NRC, 1976). Segundo Lang & Vessel (1976) e Besch (1980), os fatores físicos ambientais que mais influenciam as respostas biológicas dos animais são a temperatura, umidade relativa, ventilação, iluminação, fotoperíodo, ruídos, gases e substâncias particuladas.

A maioria dos animais de laboratório tolera a mesma faixa de temperatura do homem, sendo em sua maioria, homeotérmicos, porém a temperatura do macroambiente deve ser mantida ideal para os animais em detrimento do conforto dos bioteristas. O controle de temperatura para as salas de animais deve possuir ajustes individuais de acordo com a finalidade que se destinam os animais, seja para criação ou experimentação. Segundo Majerowicz (2005), a temperatura no interior das gaiolas geralmente é superior em alguns graus à do ambiente e varia em função da área e número de animais alojados. Variações extremas de temperatura são mais prejudiciais do que temperaturas constantes próximas ao limite de tolerância, que resultam em alterações metabólicas compensatórias, as quais afetarão os padrões normais de circulação, excreção além de alterações comportamentais (Clough, 1982; De Luca, 1996; Majerowicz, 2000a). Por vezes, a exposição dos animais às temperaturas desfavoráveis, sem acesso a abrigos ou outras formas de proteção, podem induzir enfermidades, conferindo risco de mortes. Alguns animais conseguem se adaptar às interferências térmicas, porém, estas alterações fisiológicas ou morfológicas requerem tempo e nem sempre são eficazes, o que provavelmente afetará os resultados dos ensaios (Lang & Vessel, 1976).

Por se tratarem de ambientes fechados, e de pouca ventilação, os biotérios podem apresentar odores ofensivos não só para os técnicos, mas principalmente,

para os próprios animais, afetando suas respostas fisiológicas e farmacológicas em experimentos. Para combater esses odores, o correto é seguir as normas de boas práticas laboratoriais, adotando medidas de higienização sem empregar produtos químicos que possam ser tóxicos (NRC, 1976). Como a maioria das espécies de animais de laboratório é incapaz de promover sudação, o excesso de calor é eliminado com o aumento da frequência respiratória. Caso não haja um ajuste adequado na ventilação da sala de manutenção destes animais, certos produtos metabólicos começarão a se acumular no ambiente, prejudicando a saúde deles. O acúmulo de amônia, por exemplo, produto nitrogenado oriundo da ação de bactérias urease positivas sobre as excretas dos ratos, por exemplo, pode afetar o sistema respiratório destes animais, favorecendo a incidência de infecções secundárias (Majerowicz, 2000b).

O controle da umidade relativa do ar é outro parâmetro fundamental na manutenção de um ambiente ideal, embora não interfira de modo tão rigoroso no metabolismo dos animais (NRC, 1976; De Luca, 1996). Variações e extremos na umidade relativa podem, além de favorecerem o aparecimento de doenças, alterar o consumo de ração e água, gerando conflitos entre os animais (Clough, 1982; De Luca, 1996).

A maioria dos roedores é mais sensível a altas intensidades luminosas por possuírem hábitos noturnos. Os ratos albinos, por exemplo, são mais ativos nos períodos menos iluminados do dia e podem ficar cegos quando expostos a muita luz (NRC, 2003). Segundo Majerowicz (2005), uma iluminação que propicie boa visibilidade, seja uniforme e o mais próxima possível da luz natural, na ordem de 200 lux, é adequada à reprodução e assegura um comportamento normal para a maioria dos roedores.

Durante as pesquisas, é fundamental manterem-se os períodos de claro-escuro sem interrupção, pois do contrário, os animais podem sofrer estresse que desencadeará alterações metabólicas e comportamentais, tais como modificações do ciclo circadiano, ciclos reprodutivos, efetividade de drogas, etc (Majerowicz, 2005). Além disso, segundo Clough (1982), variações no fotoperíodo, em função da duração dos dias ou estações do ano, influenciam o comportamento reprodutivo, tempo de duração do parto e podem aumentar a incidência de tumores. É recomendável que o controle do iluminamento nas salas seja feito de modo automático e programado, pois o controle manual, invariavelmente, pode resultar em uma pequena variação nos períodos de claro/escuro (Majerowicz, 2000a). O que também pode interferir na quantidade e intensidade de luz que chega aos animais e prejudicar os resultados dos experimentos é a localização das gaiolas nas estantes e confiar que a iluminação obtida através de janelas ou vidraças é natural. Este tipo de luz apresenta um espectro mais vermelho, para o qual os animais são insensíveis, e que, além de elevar a carga térmica do recinto, aumenta os custos com equipamentos de ventilação (USA, 1971).

Segundo Clough (1982) e De Luca (1996), outros dois interferentes importantes do bem-estar dos animais

são a intensidade e frequência dos sons no ambiente do biotério. Segundo dados do *National Research Council* (1976), a exposição a sons acima de 85 dB pode causar tanto efeitos auditivos quanto sistêmicos, tais como: eosinopenia, aumento do peso das supra-renais, fertilidade reduzida em roedores e aumento de pressão arterial em primatas não humanos. Além dos sons na faixa audível, os animais de biotérios estão expostos a ruídos ultra-sônicos, da ordem de 80 kHz, como, por exemplo, telefones, rangidos de portas, gotejamento de torneiras, ventiladores, aparelhos de ar-condicionado, etc, constituindo fatores de estresse (Sales et al., 1998).

Além dos fatores físicos, outro fator importantíssimo para a manutenção de um ambiente saudável para os animais são os insumos alimentares e os produtos utilizados para a higienização dos materiais e do ambiente. A aquisição, transporte, estocagem e manipulação dos alimentos devem ser feitos cuidadosamente, de maneira a evitar riscos de contaminações químicas ou biológicas nas instalações do biotério, que poderiam conferir quadros de doenças ou intoxicações (NRC, 1976). Além disso, o bioterista deve estar sempre atento às quantidades de ração e água nas gaiolas, para evitar conflitos e disputas entre os animais.

A fim de evitar alterações nos resultados dos dados experimentais, o material utilizado para as camas dos animais deve ser padronizado. A maravalha, ou cepilho, subproduto do beneficiamento da madeira, é o material mais utilizado para forrar as gaiolas, com a finalidade de absorver a umidade proveniente das fezes e urina, bem como manter o equilíbrio térmico do ambiente, devendo ser isenta de compostos químicos nocivos, sejam eles naturais ou não, como por exemplo, os hidrocarbonetos aromáticos desprendidos pelo cedro. Uma alternativa bastante simples para eliminar tanto as substâncias químicas tóxicas quanto os microrganismos, além de diminuir o conteúdo de resinas e óleos essenciais, é a esterilização. Atualmente há outros materiais que podem ser utilizados como cama, tais como palha de arroz, palha de trigo, bagaço de cana-de-açúcar e sabugo de milho. Com a exceção deste último, que tem mostrado boa eficácia na absorção, configurando assim, uma diminuição no número de trocas de material contaminado por semana, conferindo maior economia, os demais materiais citados podem ser ingeridos pelos animais e são mais susceptíveis a contaminações por fungos (Majerowicz, 2000a).

A gaiola é outro ponto fundamental para se obter as condições ideais de conforto e bem estar dos animais. O material de construção varia de acordo com a espécie animal alojada, sendo preferencialmente de material leve, durável e isolante térmico, evitando-se materiais que dificultem a higienização e esterilização, como a madeira. Além disso, a arquitetura deve facilitar o acesso dos animais à água e ao alimento, de forma a propiciar conforto e bem estar e evitar competição entre indivíduos. As gaiolas utilizadas na experimentação com animais convencionais de laboratório tendem a manter dimensões padronizadas. Paiva et al. (2005) estabelecem o número ideal de animais por caixa bem como suas dimensões (Tabela 1).

**Tabela 1.** Número de animais por caixa para diferentes espécies

Tipo de caixa	Dimensões CxLxA*	Número de animais			
		Camundongo	Hamster	Rato Jovem	Rato Adulto
Pequena	30x20x13	5	-	-	-
Grande Retangular	49x34x16	20	10	8	4
Grande quadrada	41x34x16	20	10	8	4

\* comprimento x largura x altura em centímetros

Fonte: Curso de Manipulação de Animais de Laboratório, Paiva, 2005.

## INSTALAÇÃO DE BIOTÉRIOS E BIOSSEGURANÇA

Um ponto importante para a instalação de um biotério é a localização, que está diretamente relacionada à sua finalidade. Além disso, as edificações devem apresentar certas facilidades para estacionamento, local adequado para carga e descarga de animais e insumos (Merusse & Lapichick, 1996).

Para os biotérios de experimentação, é conveniente que a edificação esteja próxima ao laboratório de pesquisa, com a instalação de barreiras sanitárias de proteção, tanto para o bioterista quanto para o meio ambiente. Com relação aos biotérios de criação, é apropriado que sejam instalados em áreas distantes de centros urbanos, isolando os animais de agentes biológicos que possam infectá-los ou contaminá-los, assegurando-se assim, o cumprimento das normas sanitárias adequadas de criação e manutenção (FIOCRUZ, 1998; Cardoso, 2001).

Cardoso (2001) propõe que os biotérios podem ser implantados de duas formas: pavilhonar ou em bloco único.

O sistema pavilhonar possui separação espacial entre a área destinada ao alojamento dos animais e as demais dependências de apoio, localizadas centralmente, favorecendo o fluxo operacional (Figura 2). Os animais são facilmente separados por espécie e por categoria, em edificações próprias, contendo anexos comuns. Nas áreas dos animais encontram-se os equipamentos mecânicos e os depósitos de ração e suprimentos. Nas áreas de controle encontram-se a recepção, escritórios e sala com equipamentos para lavagem e desinfecção. Um inconveniente é que os investimentos na construção e manutenção deste tipo de biotério são muito altos (Cardoso, 2000).

O sistema de construção em bloco único reúne todas as dependências em uma só edificação, separadas através de barreiras, podendo possuir um único corredor ou um sistema de dois corredores. No primeiro caso, que é o tipo convencional, a circulação de pessoas, material limpo, lixo contaminado e outros materiais, são feitos através de um único corredor, aumentando os riscos de haverem contaminações (Figura 3a). No segundo caso, o acesso de material limpo para as salas bem como o tráfego de pessoas é feito por um corredor, chamado de corredor limpo, e a saída de material sujo ou contaminado é feito por outro corredor, chamado de corredor sujo (Figura 3b) (Cardoso, 2001).

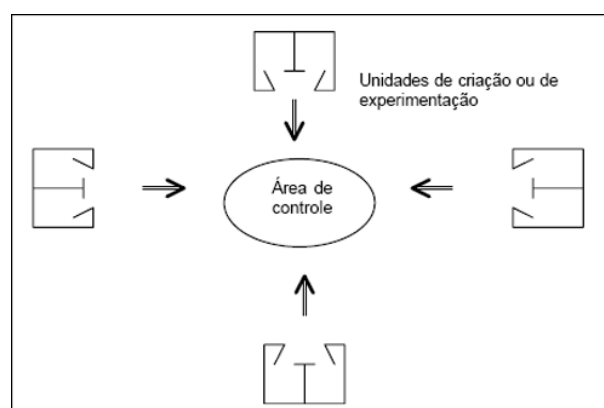


Figura 2. Sistema pavilhonar de construção.

Fonte: Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa, 64-67, 1998-2001.

Independente do tipo de construção adotado para a instalação de um biotério é necessário que este seja implantado em áreas dotadas de todos os serviços públicos de apoio, que capacitem seu perfeito funcionamento (De Luca, 1996).

O manejo dos animais de biotério confere aos profissionais alguns riscos, como o de infecção, causado pelo contato direto, contato com excretas, saliva, sangue ou tecidos coletados em necrópsias ou autópsias de espécies contaminadas, resposta alérgica, promovida de forma indireta pela inalação de aerossóis contaminados ou de poeiras originada da maravalha das gaiolas, e traumas, gerados por arranhões ou mordidas (Seamer & Wood, 1981).

Segundo o *National Research Council* (2003), no que se refere ao manejo seguro de espécies animais, especial atenção deve ser dada aos procedimentos de torça dos animais, manuseio e armazenamento de agentes de risco, dosagem e administração de medicamentos, inoculação intranasal, manuseio de tecidos e fluidos corporais, necropsias, eliminação de excretas e carcaças, além do uso correto de equipamentos de proteção individual e coletiva, capacitação e treinamento (NRC, 2003).

A biossegurança é demonstrada mediante o planejamento estrutural das instalações, determinação dos níveis de contenção física, utilização apropriada de equipamentos de proteção individual e emprego dos procedimentos de boas práticas laboratoriais (CDC, 1979; WHO, 2003). Segundo Simas (1996), os níveis de

contenção física são parâmetros diretamente relacionados à avaliação de risco, determinando a classificação dos laboratórios de experimentação em quatro níveis. (1) Laboratórios de experimentação animal de nível de biossegurança 1 (NBA 1): são aqueles utilizados no ensino básico e que não demandam nenhum tipo de cuidado especial a não ser o cumprimento das boas práticas laboratoriais, tanto para implantação quanto para manutenção, sendo apropriado para o alojamento da maioria dos estoques de animais após a quarentena e para animais inoculados com agentes biológicos da classe de risco 1; (2) Laboratórios de experimentação animal de nível de biossegurança 2 (NBA 2): são aqueles que manipulam animais infectados com microrganismos da classe de risco 2 e que, além do atendimento às normas de boas práticas laboratoriais, demandam alguns requisitos físicos na sua construção; (3) Laboratórios de experimentação animal de nível de biossegurança 3 (NBA 3): requerem desenho e construção mais especializados que os anteriores, com sistemas de barreiras mais eficientes. Além disto, os técnicos deverão receber treinamentos específicos quanto ao manuseio seguro de microrganismos; (4) Laboratórios de experimentação animal de contenção máxima, nível de biossegurança 4 (NBA 4): só devem funcionar sob o controle direto das autoridades sanitárias e, devido ao alto grau de complexidade de atividades, recomenda-se elaboração de manuais operacionais padrão previamente testados e aprovados por profissionais autorizados de procedimento de trabalho testado previamente por exercícios de treinamento (Cardoso, 2001; Neves & Guinski-Chaguri, 2001; Majerowicz, 2005).

O Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro) define em sua norma nº NIT-DICLA-028, de setembro de 2003, “Critérios para o credenciamento de laboratórios de ensaios segundo os princípios BPL (Boas Práticas de Laboratório)”. Esses critérios reúnem normativas para o estabelecimento de um padrão de qualidade que englobe o planejamento, gerenciamento, desenvolvimento, monitoramento e histórico dos estudos realizados, promovendo um instrumento diretivo que assegure uma fácil abordagem gerencial, incluindo conduta, informação e arquivamento dos estudos de laboratório (WHO, 2001; INMETRO, 2003).

No Brasil, são aplicados os critérios contidos na Norma Inmetro NIT-DICLA-028 (INMETRO, 2003), e as BPL são recomendadas pela legislação ambiental do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), sendo obrigatórias aos laboratórios das áreas de toxicologia, ecotoxicologia e ecossistemas (Silva, 2004).

Toda Unidade Organizacional (UO) deve ter *Procedimentos Operacionais Padrão* (POP) escritos, revisados, numerados e aprovados, como atestado da qualidade, pela Unidade da Garantia da Qualidade (UGQ), garantindo-se assim condições técnicas para que os ensaios que compõem uma pesquisa estejam de acordo com os critérios preconizados pelas BPL (INMETRO, 2003; Majerowicz, 2005). A composição de um sistema de POPs é um trabalho moroso e cuidadoso, porém, é imprescindível para o sucesso do estudo (WHO, 2001).

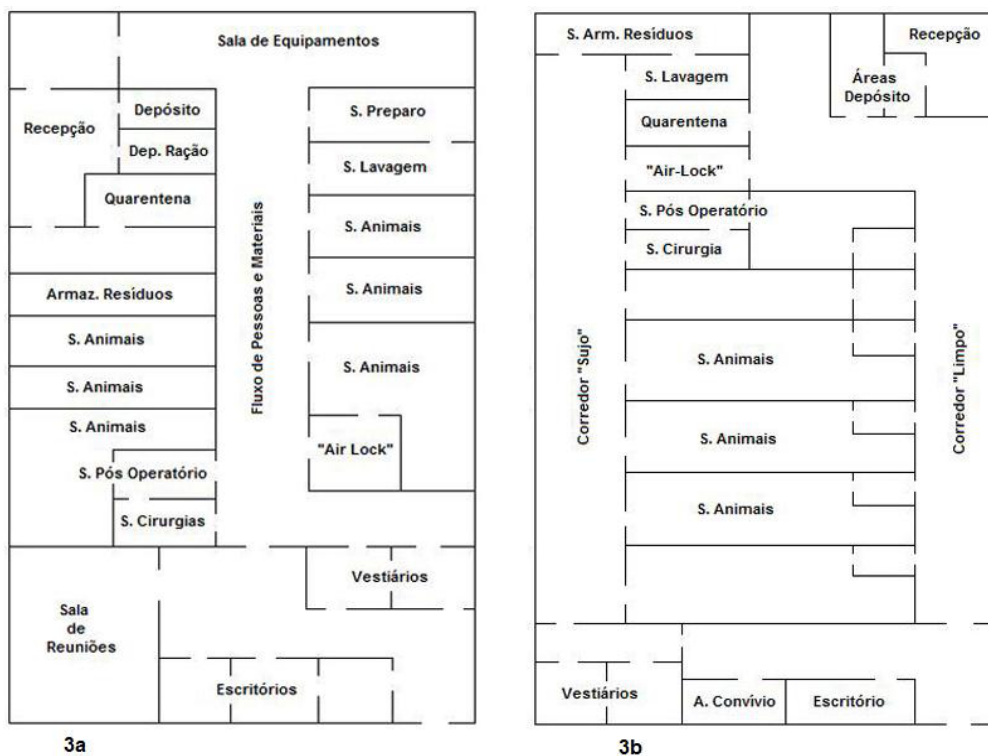


Figura 3. Biotério de corredor único (3a) e biotério com dois corredores (3b).  
Fonte: Adaptado de Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa, 64-67, 1998-2001.

Os princípios das boas práticas, os conceitos da garantia da qualidade, as legislações, as recomendações de biossegurança no manejo de animais de laboratório representam, portanto, uma etapa fundamental para o estabelecimento da qualidade, reprodutibilidade e confiabilidade nos experimentos realizados em quaisquer biotérios, além de garantir a segurança dos trabalhadores e do meio ambiente.

## BIOTERISMO

No Brasil é recente a preocupação com a qualidade dos biotérios. Mesmo com o desenvolvimento do nível científico alcançado pelo país nos últimos tempos, colocando-o em décimo terceiro colocado mundial em número de produções científicas, a atenção dada e a conscientização da importância de termos nossos biotérios adaptados aos padrões de qualidade exigidos por guias internacionais, ainda é incipiente. Na maioria das vezes, as instalações físicas e os equipamentos de segurança destinados aos animais de laboratório são impróprios e não atendem aos requisitos mínimos de segurança, conforto e higiene, faltando inclusive, qualificação técnica dos profissionais bioteristas. Como os periódicos de grande visibilidade e prestígio internacional exigem dos autores dos trabalhos com animais a declaração de que suas pesquisas foram efetuadas segundo os requisitos dos manuais e legislações recomendados pelas autoridades internacionais, o número de trabalhos publicados pelos pesquisadores brasileiros nesta área acaba sendo reduzido (Duarte, 2003).

Os primeiros trabalhos em bioterismo no país datam da década de 1940 e são de autoria de José Ribeiro do Valle e José Leal Prado. Trinta anos depois, no final da década de 1970, um trabalho internacional demonstrou a precária situação dos biotérios dos países em desenvolvimento, alcançando grande impacto junto às publicações internacionais (Rosenkranz, 1978). Houve grande repercussão na comunidade científica brasileira que passou então a rever, em conjunto com as agências de fomento, os antigos programas existentes para a Ciência de Animais de Laboratório. Na década de 1980, a necessidade de se elaborar um diagnóstico e um planejamento sobre as atividades relacionadas ao bioterismo no Brasil passou a ocupar lugar central nas primeiras discussões entre o COBEA, fundado em 1983, a Academia Brasileira de Ciências (ABC) e a Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP). As recomendações técnicas e apoio financeiro das agências de fomento na segunda metade da década de 1980 foram fundamentais para a constituição de centros de referência na produção de modelos animais em pesquisa e desenvolvimento tecnológico, técnicas cirúrgicas e produção de fármacos e imunobiológicos, adotando os parâmetros preconizados e certificados por entidades internacionais tais como ICLAS (*International Council for Animal Laboratory Science*), AALAS (*American Association for Laboratory Animal Science*) e FELASA (*Federation of European Laboratory Animal Science Associations*). Os novos padrões difundiram-se para outras instituições que também seriam reconhecidas internacionalmente e diversos especialistas brasileiros

receberam treinamento em centros dos Estados Unidos e da Europa. Consolidavam-se assim, no país, os chamados Centros de Bioterismo, com o apoio, sobretudo, da FINEP, CNPq e FAPESP. Porém, o declínio progressivo do FNDCT (Fundo Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), na década de 1990, veio a ter consequências negativas sobre essas atividades, assim como para todas as demais, consideradas como partes integrantes da infraestrutura de pesquisa e desenvolvimento no país. Seguiu-se um longo período de escassez de recursos e descontinuidade nos investimentos. Somente em 2001, com a criação dos Fundos Setoriais, o tema voltaria a merecer destaque e os investimentos voltariam a ser empregados (CGEE, 2003).

Em 2003, o Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB) da UNICAMP, atendendo a uma solicitação do CT-Infra (Fundo de Infra-Estrutura) e do CGEE (Centro de Gestão e Estudos Estratégicos), realizou um levantamento para caracterizar a situação dos biotérios no Brasil. Foram coletados dados referentes a 120 biotérios brasileiros, sendo 62 biotérios de produção e 58 biotérios de experimentação. Assumindo-se como universo de referência os atuais 250 biotérios filiados ao COBEA, esse cadastro, denominado “Cadastro Nacional de Biotérios de Produção e Experimentação”, no momento da análise, abarcava 48% do total. Essas informações cadastrais, ainda que não condizentes com a totalidade dos biotérios brasileiros, representaram uma atualização em relação ao último levantamento semelhante efetuado no país, patrocinado pelo COBEA, realizado em 1996 (CGEE, 2003).

Com exceção de poucos centros de pesquisa localizados na região Sul e Sudeste, que recebem juntos aproximadamente 86% do total de investimentos nesta área, a maioria dos biotérios do país não apresenta infraestrutura básica adequada para pesquisa, tanto no que se refere às instalações quanto no que se refere ao preparo e qualificação dos recursos humanos, deixando o Brasil longe da excelência apresentada por empresas internacionais de grande porte como “Charles River”, “Taconic”, “Harlan”, “Jackson Laboratory”, “Wistar Institute”, “National Institute of Health”, entre outras. Na região Nordeste, as condições existentes para produção e fornecimento de animais de laboratório são incompatíveis com a competência científica instalada na região. A falta de investimentos importantes nos biotérios, seja de criação ou de experimentação, torna esses locais inapropriados para a manutenção de linhagens livres de contaminações, representando um impeditivo para o desenvolvimento das pesquisas nas áreas biomédicas e constituindo uma barreira na produção de medicamentos, vacinas, testes toxicológicos, etc (CGEE, 2003).

Segundo dados do *Centro de Gestão e Estudos Estratégicos* (2003), considerando apenas os biotérios de produção, o investimento necessário estimado para adequação às normas sanitárias dos guias internacionais é algo em torno de R\$ 69.697.300,00.

Segundo Duarte (2003), a alternativa mais viável para o emprego destes recursos é a implantação de uma rede de biotérios, que consistiria em um biotério de criação central, que produziria animais de qualidade com padrões genéticos e sanitários definidos, associado a um conjunto de biotérios de experimentação de diferentes instituições. A instalação de um biotério central abastecendo uma rede



regional de biotérios permitiria racionalização dos custos, já que evitaria duplicação do número de animais reservados para procriação, assim como a padronização da qualidade dos animais utilizados e também dos funcionários, que passariam a empregar procedimentos uniformes de manuseio, condições de higiene, etc, economizando custos com treinamento individual.

## CONCLUSÃO

Não há dúvidas sobre as vantagens advindas da organização de redes de biotérios como uma forma de se contribuir para acelerar a melhoria da infra-estrutura de biotérios e, portanto contribuir para o fortalecimento das pesquisas na área da saúde e de ciências biológicas. Num país que já alcançou um determinado nível de excelência e reconhecimento internacional no que diz respeito à qualidade das pesquisas científicas, é imperativo e urgente procurarmos alternativas para melhorar as condições de instalação e funcionamento dos biotérios. Como metas principais, devemos buscar a qualificação de profissionais bioteristas (pesquisadores, veterinários, zootecnistas, técnicos de biotério, assistentes, etc.), com padronização das normas de manejo; obtenção de insumos de fornecedores com padrão de qualidade pré-estabelecido, assim como obtenção de novas cepas ou linhagens de animais com padrão sanitário definido; implantação das normas de biossegurança; consolidação das comissões de ética, estimulando a obrigatoriedade de aprovação dos protocolos experimentais, procurando minimizar ao máximo a quantidade de animais utilizados nas pesquisas, adotando técnicas e métodos alternativos (Duarte, 2003). Os avanços conquistados nestes últimos anos devem servir de incentivo à busca de novos conhecimentos na descoberta de fármacos, medicamentos e tratamentos para a melhoria da saúde humana e animal.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

## ABSTRACT

*Animal housing: characterization, legislation and biosafety standards*

**The use of laboratory animals together with studies accomplished in human patients has been supplying a base for the understanding of several physiologic and pathological important processes. Besides, the results of experimental studies make possible a better understanding and safety for the development of surgical techniques in the medical clinic. As alive biological material, it should guarantee its physical integrity, being taken into account the microbiological contaminations, the genetic, the nutrition and the correct manipulation, in order to avoid those incorrect conclusions in the**

**experiments or the increase of number of used animals unnecessarily used. In parallel to the concerns and legislations on the use of laboratory animals grew also the concern with the welfare and the people's safety that handle the laboratory animals, once these take the risks of they acquire occupational diseases for the presence of zoonotic contaminations or for development of allergies. The prevention requests the application of modern technological progresses in the design of the biotery and in the work routines. Unfortunately few establishments in Brazil present human resources with appropriate formation and a basic infrastructure of research that it includes the centers of creation of laboratory animals, equivalent to those existent ones in the United States and Europe.**

*Keywords:* Laboratory animals. Legislations. Biotery. Safety.

## REFERÊNCIAS

Afif MO, Rosenkranz A. Guia para el uso de animales de laboratorio, parte I. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 1990.

Baker DG. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. *Clin Microbiol Rev.* 1998; 11(2):231-266.

Besch EL. Environmental quality within animal facilities. *Lab Anim Sci.* 1980; 30(2):385- 406.

Brasil. Decreto-Lei nº 24.645, de 10 de Julho de 1934. *Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 jul. 1934.*

Brasil. Lei nº 6.638. Estabelece normas para a prática didático-científica da viviseção de animais e determina outras providências. *Diário Oficial da União, Brasília, DF, 10 maio, 1979.*

Brasil. Lei nº 9.605. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. *Diário Oficial da União, Brasília, DF, 13 fev. 1998.*

Brasil. Presidência da República. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do parágrafo 1º do artigo 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. *Diário Oficial da União, Brasília, DF, 9 de out. 2008.*

Brasil. Presidência da República. Decreto nº 6.899, de 15 de Julho de 2009. Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

- CONCEA, estabelece normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais - CIUCA, mediante a regulamentação da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 jul. 2009.
- CCAC. Canadian Council on Animal Care. Guide to the Care and Animal Use of Experimental. 2nd. ed. Ottawa: CCAC; 1993. 1 v.
- Cardoso TAO. Programa arquitetônico de biotérios. In: Teixeira P, org. Curso de Aperfeiçoamento em Biossegurança. Rio de Janeiro: EAD/Ensp; 2000. p.21-42.
- Cardoso TAO. Considerações sobre a biossegurança em arquitetura de biotérios. Bol. Centr. Panam. Febre Aftosa, 2001; 64-67:3-17.
- CDC. Centers for Disease Control. Laboratory safety. Atlanta, US: Dep. Health, Education and Welfare/Public Health Service; 1979. (HEW Publication, CDC79-818).
- CDC. Center for Disease Control and Prevention & National Institutes of Health (NIH). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 3rd. ed. Washington: HHS; 1993. (Publication n° 93-8359)
- CGEE. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Programa de Ação para Biotérios. Documento Síntese. São Paulo; 2003.
- Chorilli M, Michelin DC, Salgado HRN. Animais de laboratório: o camundongo. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2007; 28(1):11-23.
- Clough G. Environmental effects on animals used in biomedical research. Biol Rev 1982; 57:487-523.
- COBEA. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Princípios éticos na experimentação animal. São Paulo; 1991. Disponível em: <http://www.cobea.org.br>.
- CPCSEA. Committee for the Purpose of Control and Supervision on Experiments on Animals. Guidelines for laboratory animal facility. Indian J Pharmacol. 2003; 35:257-74.
- D'avilla AG, Zúñiga JM. La ciencia del animal de laboratorio y el procedimiento experimental. In: Zúñiga JM, Orellana JM, Tur JA. Ciencia y Tecnología del Animal del Laboratorio. Alcalá: Secal; 2008. 431p.
- De Luca RR, Alexandre SR, Marques T, Souza NL, Merusse JLB, Neves SP. Manual para Técnicos em Bioterismo. 2. ed. São Paulo: Winner Graph; 1996.
- Duarte GI. Programa de Ação para Biotérios – Rede Nordeste de Biotérios, Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE). São Paulo; 2003.
- FELASA. Federation of European Laboratory Animal Science Associations. FELASA guidance paper for the accreditation of laboratory animal diagnostic laboratories. Lab Anim. 1999; 33(suppl 1):19-51.
- Festing MF. Genetic variation in outbred rats and mice and its implications for toxicological screening. J Exp Anim Sci. 1993; 35(5-6):210-20.
- FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. Comissão Técnica de Biossegurança (CTBio). Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 1998.
- Hessler JR, Moreland AF. Design and management of animal facilities. In: Fox JG, Cohen BJ, Loew FM, editors. Laboratory Animal Medicine. Orlando: Academic Press; 1984.
- INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Critérios para o credenciamento de laboratórios de ensaios segundo os princípios BPL – Boas Práticas de Laboratório. Rio de Janeiro; 2003. (Norma n° NIT-DICLA-028). Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/kits/nitdicla028r01.doc>.
- IVIS. International Veterinary Information Service. Quality Assurance/surveillance monitoring programs for rodent colonies. In: Reuter JD, Suckow MA, eds. Laboratory Animal Medicine and Management. New York: IVIS; 2003.
- Jonas AM. The research animal and the significance of a health monitoring program. Lab Anim Sci. 1976; 26(2):339-43.
- Lang C, Vessel ES. Introduction. In: Environmental and genetics factors affecting laboratory animals: Impact on biomedical research. 59th annual meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology. New Jersey; 1976.
- Majerowicz J. Procedimentos de biossegurança para as novas instalações do laboratório de experimentação animal (Laean) de Bio-Manguinhos. [Dissertação] Rio de

- Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos; 2005.
- Majerowicz J. Procedimentos de segurança envolvendo animais de laboratório. In: Teixeira P, org. Curso de Aperfeiçoamento em Biossegurança. Rio de Janeiro: EAD/Ensp; 2000a. Cap. 18, p.1-10.
- Majerowicz J. Risco biológico e níveis de proteção. In: Teixeira P, org. Curso de Aperfeiçoamento em Biossegurança. Rio de Janeiro: EAD/Ensp; 2000b. Cap. 18. p.11-26.
- Marona HRN, Lucchesi MBB. Protocol to refine intestinal motility test in mice. *Lab Anim.* 2004; 38:257-60.
- Marona HRN. Princípios éticos da experimentação animal. *Rev Ciênc Farm.* São Paulo, 2003; 24(2):97-106.
- Marona HRN, Lucchesi MBB. Refining the intestinal motility test in mice to reduce animal stress. *Rev Ciênc Farm.* São Paulo, 2003; 24(1):79-82.
- Merusse JLB, Lapichick VB. Instalações e equipamentos. In: Manual para técnicos em bioterismo. Brasília, DF: COBEA; 1996.
- Mezadri TJ, Tomáz VA, Amaral VLL. Animais de Laboratório: cuidados na iniciação experimental. Florianópolis: Editora UFSC; 2004. 154p.
- Neves SMP, Guinski-Chaguri LCA. Biossegurança em Biotérios. In: Hirata MH, Mancini Filho J, eds. Manual de Biossegurança. São Paulo: USP; 2001.
- NIH. National Institute of Health. Environment, housing and animal management. In: Institutional Animal Care and use Committee Book guidebook. 2nd. ed. Bethesda: NIH; 2002. (Publication n°. 92-3415).
- NRC. National Research Council. Long-term holding of laboratory rodents. Washington, DC: ILAR News; 1976. v. 4.
- NRC. National Research Council. Institute of Laboratory Animal Resources. Commission on life sciences. Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório. Goiânia: AAALAC/COBEA, 2003. 162p.
- Oda L. Biossegurança no Brasil Segue Padrões Científicos Internacionais. *Biotechnol Ciênc Desenvolv.* 2001; 3(18):5-8.
- Paiva FP, Maffili VV, Santos ACS, orgs. Curso de manipulação de animais de laboratório. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz; 2005.
- Passos LAC. Análise do determinismo genético da resistência de camundongos infectados experimentalmente com a cepa y de *Trypanosoma cruzi*. Campinas; 2003. [Tese de doutorado em Ciências Biológicas, curso de Genética e Biologia Molecular] Campinas: Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas; 2003.
- Rehg JE, Toth LA. Rodent quarantine programs: purpose, principles, and practice. *Lab Anim Sci.* 1998; 48(5):438-47.
- Rosenkranz A, Jurkiewicz A, Corrado A. Situação dos biotérios brasileiros: fator limitante de estudos farmacodinâmicos e toxicológicos de produtos naturais. *Ciênc Cult.* 1978; 32(suppl.):156-63.
- Sales GD, Wilson KJ, Spencer KEV, Milligan SR. Environmental ultrasound in laboratories and animal houses: a possible cause for concern in the welfare and use of laboratory animals. *Lab Anim.* 1998; 22:369-75.
- Schnaider TB, Souza C. Aspectos éticos da experimentação animal. *Rev Bras Anestesol.* 2003; 53(2):278-85.
- Seamer JH, Wood M. Handbooks 5: Safety in the animal house. London: Laboratory Animals Ltda; 1981.
- Silva ABM. Proposta para a implantação, implementação e avaliação de um programa de gestão da qualidade nos laboratórios de referência para a vigilância epidemiológica da Fiocruz. Rio de Janeiro; 2004. [Dissertação em Mestrado Profissional em Gestão de C&T em Saúde] Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde pública, Fiocruz; 2004.
- Silva APR, Valentini FJG, Távora MFCLF, Rodrigues UP, Moreira VB, Mattaraia VGM. Animais de experimentação: cuidados e descartes. *Biotechnol Ciênc Desenvolv.* 2003; 35:16-20.
- Simas C. Biossegurança e arquitetura. In: Teixeira P, Valle S. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro, RJ: FIOCRUZ; 1996.

Small JD. Rodent and lagomorph health surveillance - quality assurance. In: Fox JG, Cohen BJ, Loew FM. Laboratory animal medicine. Orlando: Academic Press; 1984.

USA. United States of American. Departments of the Army. Navy publication nº 255. In: Technical bulletin (TB). Washington, DC: The Navy and the Air Force; 1971.

WHO. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual. 2nd. ed. [on line] Geneva. 2003. [capturado em 13 de abril de 2008] Disponível em: [http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/who\\_cds\\_csr\\_lyo\\_20034/en/](http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/who_cds_csr_lyo_20034/en/)

WHO. World Health Organization. Good Laboratory Practice Handbook. [on line] Geneva. 2001. [capturado em 14 de março de 2008] Disponível em: <http://www.who.int/tdr/publications/publications/glp-handbook.htm>