

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**ANDRE SIMAAN DOS SANTOS**

**DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS NO CENTRO DE CRIAÇÃO DE  
ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ**

**Brasília**

**2014**

**ANDRÉ SIMAAN DOS SANTOS**

**DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS NO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ**

Relatório de estágio apresentado para a conclusão do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Orientadora:  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Simone Perecmanis

**Brasília**  
**2014**

Simaan dos Santos, André

Descrição das atividades realizadas no centro de criação de animais de laboratório da Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz – André Simaan dos Santos, orientação de Simone Perecmanis – Brasília 2014.

Relatório de estágio – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2014.

### **Cessão de Direitos**

Nome do Autor: André Simaan dos Santos

Título de relatório de estágio para Conclusão de Curso: Descrição das atividades realizadas no centro de criação de animais de laboratório da Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz

Ano: 2014

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias deste relatório e emprestar ou vender tais cópias para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

(Assinatura)

---

André Simaan dos Santos

## FOLHA DE APROVAÇÃO

ANDRÉ SIMAAN DOS SANTOS

DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS NO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ

Relatório de estágio apresentado para a conclusão do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Orientadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Simone Perecmanis

Aprovado em:

Banca Examinadora:

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente aos meus genitores, Laila Simaan e Hamilton Mentzingen dos Santos por terem sempre me dado condições emocionais e financeiras para conduzir meus estudos acadêmicos com conforto e acolhimento.

À minha orientadora, Professora Dr.<sup>a</sup> Simone Perecmanis que sempre me apoiou, orientou e me deu ajudou quando eu mais precisava.

A toda minha família, em especial aos meus tios, Cézar Kozak, Lucia Kozak e Elen Simaan por sempre estarem presentes em todos os momentos da minha vida.

Ao meu grande amigo, mestre e conselheiro Professor Dr. Gino Chaves da Rocha por todos os anos de amizade durante a execução do meu curso de Medicina Veterinária.

Aos residentes, técnicos e estudantes que permaneceram comigo nas atividades realizadas durante os três anos de atividades no Laboratório de Microbiologia Clínica Veterinária.

Aos técnicos e funcionários do Centro de Criação de Animais de Laboratório, em especial, Tais Torres e Jenif Braga pelos bons momentos e apoio durante a execução do meu estágio curricular obrigatório.

Aos meus amigos Rafael Gomes Kouzak e Guilherme Costa pela amizade vivenciada durante meu período de graduação

Aos meus colegas de curso, em especial, Rafaelli Antes e Joana Galinkin pelo companheirismo durante as aulas, os trabalhos e nas atividades fora universidade.

## Índice de Ilustrações

<b>Figura 1. Fluxograma de acesso pessoal á área de criação de cobaias do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>38</b>
<b>Figura 2. Fluxograma de saída pessoal á área de criação de cobaias do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>38</b>
<b>Figura 3. Fluxograma de acesso pessoal á área de criação de lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>48</b>
<b>Figura 4. Fluxograma de saída pessoal á área de criação de lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>49</b>
<b>Figura 5. Fluxograma de acesso pessoal á área de criação de hamster do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>59</b>
<b>Figura 6. Fluxograma de saída pessoal á área de criação de hamster do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>60</b>
<b>Figura 7. Fluxograma de acesso pessoal á área de criação de ratos do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>70</b>
<b>Figura 8. Fluxograma de saída pessoal á área de criação de ratos do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>71</b>
<b>Figura 9. Fluxograma de acesso pessoal á área de criação de camundongos do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>81</b>

<b>Figura 10. Fluxograma de saída pessoal á área de criação de camundongos do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>82</b>
<b>Figura 11. Etiqueta de identificação de tecidos coletados durante durante necropsia do Setor de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>98</b>
<b>Figura 12. Modelo de etiqueta para alíquotas de sangue fornecido pelo Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>117</b>

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1. Tabela de acasalamento adaptado de POILEY 1970 para Colônias de cobaias do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>40</b>
<b>Tabela 2. Tabela de acasalamento adaptado de POILEY 1970 para Colônias de lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>52</b>
<b>Tabela 3. Tabela de acasalamento adaptado de POILEY 1970 para Colônias de hamster do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>62</b>
<b>Tabela 4. Tabela de acasalamento adaptado de POILEY 1970 para Colônias de ratos do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>74</b>
<b>Tabela 5. Tabela de acasalamento adaptado de POILEY 1970 para Colônias de camundongos do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>85</b>
<b>Tabela 6. Tamanho mínimo da amostra para detecção de Infecção na colônia</b>	<b>111</b>
<b>Tabela 7. Programa alimentar de animais de médio e grande porte do Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>120</b>



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>21</b>
<b>2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS</b>	<b>23</b>
<b>3. CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMIAS DE LABORATÓRIO</b>	<b>25</b>
<b>4. SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS</b>	<b>26</b>
4.1 Estrutura física	27
4.2 Controle do Macroambiente e microambiente	29
4.3 Classificação de acordo com padrão sanitário	32
<b>5. ÁREA DE CRIAÇÃO DE COBAIAS</b>	<b>33</b>
5.1 Cobaias	33
5.2 Modelos Animais	34
5.3 Estrutura e rotina da área de criação de cobaias	33
5.4 Acesso e saída pessoal à área de cobaias	37
5.5 Contenção de cobaias	39
5.6 Acasalamento de cobaias	39
5.7 Substituição de matrizes de cobaias	41
5.8 Desmame e sexagem de cobaias	42
<b>6. ÁREA DE CRIAÇÃO DE LAGOMORFOS</b>	<b>43</b>
6.1 Coelhos	43
6.2 Modelos animais	44
6.3 Estrutura e rotina da área de criação de lagomorfos	44
6.4 Acesso e saída pessoal à área de criação de lagomorfos	47
6.5 Contenção de lagomorfos	49
6.6 Acasalamento de lagomorfos	50
6.7 Substituição de matrizes de lagomorfos	53
6.8 Desmame e sexagem de láparos	53
<b>7. ÁREA DE CRIAÇÃO DE HAMSTER</b>	<b>55</b>
7.1 Hamster golden	55
7.2 Modelos animais	56
7.3 Estrutura e rotina da área de criação de hamster	57
7.4 Acesso e saída pessoal à área de criação de hamster	58
7.5 Contenção de hamster	60
7.6 Acasalamento de hamster	61
7.7 Substituição de matrizes de hamster	63
7.8 Desmame e sexagem de hamster	63
<b>8. ÁREA DE CRIAÇÃO DE RATOS</b>	<b>65</b>

8.1 Ratos	65
8.2 Modelos animais	66
8.3 Estrutura e rotina da área de criação SPF de ratos	67
8.4 Acesso e saída pessoal à área SPF	69
8.5 Contenção de ratos	71
8.6 Acasalamento de ratos	72
8.7 Programa de Substituição de matrizes e animais de produção	74
8.8 Desmame e sexagem de ratos	75
9. ÁREA DE CRIAÇÃO DE CAMUNDONGOS	76
9.1 Camundongos	76
9.2 Modelos animais	77
9.3 Estrutura e rotina da área SPF	77
9.4 Acesso e saída pessoal à área SPF	80
9.5 Contenção de camundongos	82
9.6 Reprodução de camundongos	83
9.7 Acasalamento de colônias outbred de camundongos	84
9.8 Programa de substituição de matrizes e animais de produção outbred	86
9.9 Acasalamento inbred de camundongos	86
9.10 Desmame e sexagem de camundongos	88
10. SERVIÇO DE BIOTECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO ANIMAL	89
10.1 Estrutura e rotina do serviço de biotecnologia e desenvolvimento animal	89 91
10.2 Superovulação	92
10.3 Coleta de embriões de duas células em camundongos	92
10.4 Vitrificação de embriões	93
11. SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL	94
11.1 Estrutura e rotina do serviço de qualidade animal	95
11.2 Setor de monitoramento anatomopatológico	95
11.2.1 Necropsia de animais de laboratório	95
11.3 Setor de monitoramento parasitológico	99
11.3.1 Exame endoparasitológico em roedores	101
11.3.2 Exame endoparasitológico em lagomorfos	101
11.3.3 Exame ectoparasitológico em roedores e lagomorfos	103
11.3.4 Exame endoparasitológico em produtos Hortifrutigranjeiros	103
11.4 Setor de monitoramento bacteriológico	104

11.4.1	Pesquisa de bactérias patogênicas em roedores e lagomorfos	105
11.4.2	Teste de esterilidade do sangue	106
11.4.3	Cropocultura de primatas não-humanos	106
11.5	Setor de hematologia e bioquímica	108
11.5.1	Exame Bioquímico	108
11.5.2	Hemograma	109
11.6	Setor de Imunologia	110
12.	SERVIÇO DE HEMOCOMPONENTES E DERIVADOS ANIMAIS	113
12.1	Estrutura e rotina do serviço de hemocomponentes e derivados animais	113
12.2	Coleta de sangue de animais de médio e grande porte	114
12.3	Coleta de sangue de roedores e lagomorfos	115
12.4	Aliquotagem de sangue e derivados	116
12.5	Programa de reprodução de caprinos	117
12.6	Desmame de caprinos e ovinos	118
12.7	Programa alimentar de médio e grande porte	119
13.	REFERÊNCIAS	120
14.	ANEXOS	128

## **Anexos**

<b>Anexo 1</b>	<b>Ficha de controle zootécnico para camundongos, ratos e cobaias outbred do Serviço de Roedores e Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório</b>	<b>128</b>
<b>Anexo 2</b>	<b>Ficha de controle zootécnico para lagomorfos outbred do Serviço de Roedores e Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório</b>	<b>128</b>
<b>Anexo 3</b>	<b>Ficha de Registro do controle zootécnico para camundongos, ratos e cobaias outbred do Serviço de Roedores e Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório</b>	<b>129</b>
<b>Anexo 4</b>	<b>Ficha de controle zootécnico para camundongos inbred do Serviço de Roedores e Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório</b>	<b>130</b>
<b>Anexo 5</b>	<b>Ficha de controle zootécnico para animais da colônia de reservados do Serviço de Roedores e Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório</b>	<b>131</b>
<b>Anexo 6</b>	<b>Ficha de requisição de exames do Serviço de Controle da Qualidade de Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório</b>	<b>132</b>
<b>Anexo 7</b>	<b>Mapa de trabalho de exame sorológico de ratos do Setor de Imunologia do Serviço de Controle da Qualidade de Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz</b>	<b>133</b>

<b>Anexo 8</b>	<b>Mapa de trabalho de exame sorológico de camundongos do Setor de Imunologia do Serviço de Controle da Qualidade de Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>134</b>
<b>Anexo 9</b>	<b>Tabela para anestesia e eutanásia dos animais do Centro de Criação de Animais de Laboratório Cecal/Fiocruz</b>	<b>18</b>

## 1. INTRODUÇÃO

---

Há vários séculos animais de laboratório vem sido amplamente utilizado em pesquisas biomédicas que permitiram o avanço significativo da ciência e tecnologia. Porém, anteriormente estes eram apenas utilizados na investigação científica sem levar em consideração sua qualidade genética e sanitária e os laboratórios não possuíam estrutura adequada e pessoal habilitado para desenvolver suas atividades, ou seja, os resultados obtidos não eram confiáveis (ANDRADE 2002; MAJEROWICZ 2008; MAGALHÃES 2009).

Atualmente, porém, a pesquisa científica exige que os animais atendam parâmetros de qualidade genética e sanitária para certificar os resultados e a confiabilidade dos experimentos. Portanto, os pesquisadores necessitam de animais definidos para dar garantias aos seus respectivos experimentos (ANDRADE 2002; MAJEROWICZ 2008; MAGALHÃES 2009).

Segundo ANDRADE 2002, animais de laboratório definidos são aqueles criados e produzidos em condições ideais e mantidos em um ambiente controlado, com conhecimento e acompanhamento microbiológico e genético seguros, obtidos por monitoração regular. Os chamados animais de laboratório convencionais podem satisfazer as exigências da experimentação biológica, ao passo que animais obtidos na natureza não as satisfazem, pois não são submetidos a nenhum tipo de controle.

Os animais de laboratório são fundamentais para os novos métodos de prevenção e cura de doenças, assim como modelo de doenças que ainda não possuem tratamentos efetivos. Na área da cirurgia eles também são essenciais para desenvolvimento de novas técnicas. Eles ainda possuem alto valor para o controle de produtos farmacêuticos que necessitam testes de eficácia, esterilidade, toxicidade e potencia de diversos medicamentos. (ANDRADE 2002; ACLAM 2004)

Para pesquisa biomédica são necessários modelos que possam ser comparados com o homem, principalmente no que consiste em uma semelhança geral anatômica

e fisiológica. Modelos animais são animais que melhor respondem ao experimento e possibilitam a sua reprodutibilidade, sendo fundamentais para os avanços das ciências médicas. Estes permitem inúmeras vantagens como o conhecimento da evolução de uma enfermidade, reprodutibilidade de doenças, testes terapêuticos, estudo de fatores ambientais e estudo específicos de linhagens de animais de laboratório. (JONAS 1976; ANDRADE 2006; MAJEROWICZ 2008).

A produção de vacinas monoclonais e fornecimento de sangue e hemoderivados animal para suas diversas utilizações nas indústrias farmacêutica e química, bem como na produção de insumos de laboratório, necessitam de animais que possuam garantias sanitárias e tenham qualidade certificada. Neste campo, é necessário a utilização de animais de laboratório definidos, na maioria das vezes de médio e grande porte, para garantir a saúde da população (ANDRADE 2002; MAJEROWICZ 2008; MAGALHÃES 2009).

Portanto, é fundamental que o biotério possua rotina e estrutura bem definida para assegurar a produção de animais que atendam parâmetros de qualidade genética e sanitária requisitados nas pesquisas biomédicas, bem como garantir o fornecimento adequado de sangue e hemoderivados animal de boa qualidade (JONAS 1976; NRC 2003).

## 2. Atividades Desenvolvidas

---

Este trabalho tem como objetivo descrever as atividades desenvolvidas durante a realização de meu estágio curricular realizado no Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz durante o período de 10 de março de 2014 á 13 de junho de 2014.

Durante a realização do estágio, foram desenvolvidas atividades no Serviço de Biotecnologia e Desenvolvimento Animal, Serviço de Controle da Qualidade Animal, Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais, Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos e atividades nas áreas de lavagem e esterilização de coelhos e cobaias.

O estágio teve inicio no Serviço de Biotecnologia e Desenvolvimento Animal com duração total de cinco dias onde foram acompanhadas as atividades de superovulação de camundongos, coleta de embriões de duas células e vitrificação de embriões murinos.

Na segunda semana, foram realizadas atividades no Serviço de Controle da Qualidade Animal para acompanhamento dos principais procedimentos dos setores de monitoramento anatomopatológico, setor de monitoramento bacteriológico, setor de hematologia e bioquímico e setor de imunologia. O serviço conta ainda com um setor de monitoramento genético, entretanto não houve acompanhamento de suas atividades. Os principais procedimentos de rotina do Serviço de Controle da Qualidade Animal incluem a necropsia de animais de laboratório, exame endoparasitológico de roedores e lagomorfos, exame ectoparasitológico de roedores e lagomorfos, exame endoparasitológico de produtos hortifrutigranjeiros, pesquisa para bactérias patogênicas de roedores e lagomorfos, teste de esterilidade do sangue, cropocultura de primatas não-humanos, exame bioquímico, hemograma e monitoramento imunológico.

Durante a terceira semana da realização do estágio houve o acompanhamento das atividades do Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais. O serviço é localizado em edifício anexo destinado à criação de animais de médio e grande porte para coleta de sangue e derivados. As principais atividades desenvolvidas incluíram a coleta de sangue de roedores e lagomorfos, coleta de sangue de animais de médio e grande porte, aliquotagem de sangue e derivados, programa de reprodução de caprinos e ovinos, programa alimentar de animais de médio e grande porte e o desmame de ovinos e caprinos.

A partir da última semana do primeiro mês do meu estágio, iniciaram-se as atividades no Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos, bem como o acompanhamento dos procedimentos da área de higienização e esterilização. As atividades se encerraram no final do período do estágio totalizando onze semanas. As principais atividades desenvolvidas neste setor foram a contenção, acasalamento, manejo nutricional, manejo ambiental e desmame de 65 linhagens de camundongos (*Mus musculus*), ratos (*Rattus norvegicus* da linhagem *Wistar*), cobaias (*Cavia porcellus* variedade *Short Hair*), hamsters (*Mesocricetus auratus* raça *Sírio* ou *Golden*) e coelhos (Espécie *Oryctolagus cuniculus* raça *Nova Zelândia*). As atividades na área de higienização e esterilização totalizaram cinco dias da permanência das atividades do Serviço de Roedores e lagomorfos com a realização de lavagem, esterilização e preparo de gaiolas e insumos.

### **3. Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz**

---

O Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz é a unidade técnica da Fiocruz responsável pela produção e fornecimento de animais de laboratório, sangue e hemoderivados. Também presta serviços de controle de qualidade animal e biotecnologia associada à ciência de animais de laboratório, o que confere ao centro um papel estratégico na área do bioterismo nacional (MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWLADO CRUZ).

O Centro tem como missão a produção, criação, manutenção e fornecimento de animais de laboratório e hemocomponentes, além de prestar serviços e assessoria em ciência de animais de laboratório, com qualidade, contribuindo para o desenvolvimento de atividades na Fiocruz e instituições congêneres em prol da ciência e tecnologia (C&T). (MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWLADO CRUZ).

Seu principal objetivo é contribuir com os programas e projetos de pesquisa biomédica, produção e controle de qualidade de insumos estratégicos, desenvolvimento tecnológico, controle de qualidade e ensino da Fiocruz e demais instituições de pesquisa e ensino. A grande capacidade de produção de diversas espécies e linhagens animais e de subprodutos torna o Cecal um importante centro de produção e de prestação de serviços para biotérios no país. Sua equipe técnica, capacitada e especializada nas diversas áreas do bioterismo, presta assessoria técnica aos usuários da Fundação e de outras instituições, além de contribuir com a formação de profissionais por meio da realização de cursos e da participação em eventos (MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWLADO CRUZ).

Para então fundamentar seus objetivos, o Cecal pode ser dividido em cinco serviços principais que atuam de maneira integrada para garantir a confiabilidade

dos resultados nos diversos programas e projetos da Fiocruz. Estes serviços incluem o Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos (SCRL), Serviço de Criação de Primatas não humanos (SCPrim), Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais (SHDA), Serviço de Biotecnologia e Desenvolvimento Animal (SBDA) e Serviço de Controle da Qualidade Animal (SCQA) (MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWLADO CRUZ).

#### **4. Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos**

---

O Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos é um biotério de criação destinado á manutenção e reprodução de matrizes das diversas espécies e linhagens, nas quais os objetivos visam a controlar e definir as características animais, como *status* sanitário e carga genética (CARDOSO 2001). Os animais definidos são destinados à pesquisa e ao desenvolvimento tecnológico em saúde pública dos Programas e Projetos da Fiocruz, dos laboratórios públicos ou privados nacionais e internacionais (MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWLADO CRUZ).

Seu sistema de produção é do tipo fechado, onde todos os animais são criados internamente e a introdução linhagens oriundos de outras fontes não é permitido no biotério (CARIMISSI, MERUSSE 2009). Atualmente, a colônia do SCRL conta com 65 linhagens de camundongos (*Mus musculus*), ratos (*Rattus norvegicus* da linhagem *Wistar*), cobaias (*Cavia porcellus* variedade *Short Hair*), hamsters (*Mesocricetus auratus* raça *Sírio* ou *Golden*) e coelhos (Espécie *Oryctolagus cuniculus* raça *Nova Zelândia*) (<http://www.cecal.fiocruz.br/content/roedores-e-lagomorfos>).

#### 4.1 Estrutura Física do SCRL

A estrutura física do SCRL é constituída dede um edifício de dois andares dotados de salas de animais, corredores, casa de máquinas, área de apoio e três áreas de higienização e esterilização. No térreo encontram-se todos os setores exceto a casa de maquinas localizado no segundo andar. Ela é responsável pelas centrais das instalações hidráulica, elétrica e gás. O acesso ao segundo andar é externo, pois a conexão entre este e o primeiro pode servir como porta de entrada de contaminantes para o interior do biotério (CARIMISSI, MERUSSE 2009). A drenagem de efluentes das instalações é realizada por sistema que impede o refluxo de água, animais silvestres, insetos e gases. A instalação hidráulica garante a pureza da água com sua filtração.

Segundo CARIMISSI, MESSURE 2009, um biotério deve possuir características construtivas que facilitem as rotinas dos procedimentos operacionais de limpeza e higienização. Portanto, as paredes são de concreto liso e impermeável com tubulações elétricas embutidas e os tubos do sistema hidráulico são devidamente afastados da parede para facilitar sua limpeza. Os cantos entre as paredes, forros e pisos são arredondados para evitar o acumulo de sujeira. O teto é de concreto sem fundo falso para evitar a presença de insetos (MAJEROWICZ 2008). As janelas são inexistentes e as portas são de madeira revestida com alumínio e equipadas com janelas.

As salas de criação alojam animais de acordo com a espécie e/ou linhagem individualmente para evitar a transmissão de microbiota normal que pode ser patogênica para outras espécies/linhagem do setor (SIROIS, 2007). Os tipos de instalações, suas barreiras sanitárias e o procedimento de acesso pessoal às salas de criação variam de acordo com a espécie/linhagem e status sanitário dos animais. Estas são consideradas áreas limpas e somente quem trabalham nelas tem acesso. (MAJEROWICZ 2008).

Os corredores do SCLR tem a importante função de determinar o fluxo de acesso e saída das salas de animais através de dois tipos independentes, de

recolhimento e o de distribuição. Apesar de diferenças das barreiras sanitárias quanto às espécies e/ou linhagens mantidas, esta divisão espacial permite distinguir as áreas limpa e suja. A primeira é destinada ao preparo do material a ser enviado para a sala de animais incluindo o corredor de distribuição. A área suja compreende as áreas de higienização e esterilização, bem como o corredor de recolhimento. O fluxo de pessoal e matérias é realizado em sentido unidirecional ('área limpa' para 'área suja'), e todo material enviado e de retorno das salas de animais passa por autoclave de dupla porta (COUTO 2002).

As áreas de higienização e esterilização são localizadas nas extremidades do prédio para evitar que os níveis elevados de ruídos, odores, calor e vapor causado por seus equipamentos possam causar distúrbios aos animais e minimizar problemas nas áreas vizinhas (CARDOSO 2001; MAJEROWICZ 2008; SIROIS 2007). O setor conta com três destas áreas que realizam sua função de acordo a espécie/linhagem do material enviado. Estas contemplam a higienização e esterilização de coelhos e cobaias, roedores convencionais/convencional controlado e roedores SPF (specific pathogen free). Equipamentos como tanques, autoclaves, máquinas de lavar gaiolas, estufas de esterilização e refrigeradores são instaladas nestas áreas. Esta área é separada em ambientes limpos e sujos que evitam a contaminação cruzada causada pelo material proveniente das salas de animais e o higienizado e esterilizado (COUTO 2002).

Para o exercício de atividades complementares do biotério, o serviço conta ainda com suas áreas de apoio. A área de administração possui banheiros, saguão, hall, recepção, secretaria, sala de aula e reuniões, sala de funcionários e cozinhas. Existem ainda depósitos destinados à estocagem de rações peletizadas e materiais utilizados como cama dos animais, bem como material de enriquecimento ambiental. (MAJEROWICZ 2008). O setor de rouparia é responsável pela lavagem e esterilização dos uniformes utilizados no interior das dependências da unidade e administra a distribuição de EPI e kits de higienização para os trabalhadores. Locais de outras unidades da Fiocruz, como tratamento de resíduos, almoxarifados, e incineradores também prestam assistência para o bom funcionamento Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz.

## 4.2 Controle do macroambiente e microambiente

As reações fisiológicas e comportamentais estão diretamente ligadas às condições genéticas, sanitárias e aos fatores ambientais. Este último pode ter efeitos significativos na saúde e bem-estar animal, bem como nos resultados experimentais. Para evitar grandes alterações metabólicas e influência no comportamento dos animais, o ambiente deve ser mantido em padrões recomendados à cada espécie animal (JONAS 1976; BESCH 1980; CLOUGH 1982; CARDOSO, 2001; NIH 2002; BRAGGIO et al., 2003; CPCSEA 2003. NRC 2003; MAJEROWICZ 2008).

Segundo MAJEROWICZ 2008, o microambiente corresponde ao espaço físico imediatamente próximo ao animal, ou seja, à gaiola, com parâmetros próprios para temperatura, umidade, relativa, composição de gases e partículas de ar. O macroambiente, por sua vez refere-se ao ambiente físico secundário – como, por exemplo, a sala, o estábulo ou habitat externo. Estes estão relacionados, porém, o microambiente pode ser alterado pelo macroambiente e sofrer sua influência. (NRC 2003).

Os fatores físicos ambientais que mais influenciam as respostas biológicas dos animais são a temperatura, a umidade relativa, a ventilação, a intensidade de luz, o fotoperíodo, os ruídos, o controle de vetores, os gases e as substâncias particuladas (LANG, VESSEL 1975; BESCH 1980; CPCSEA 2008; MAJEROWICZ 2008).

A temperatura na criação do SCRL é mantida constante pelo resfriamento ou aquecimento do ar através de sistema de ar-condicionado central. Alterações no ideal de temperatura e suas largas variações resultam em alterações de padrões metabólicos, circulatórios, comportamental e nos resultados experimentais (MAJEROWICZ 2008). Para tanto, as salas de pequenos roedores são mantidos em temperaturas de 21°C a 24°C. Nas áreas de cobaias e coelhos são a temperatura é controlada entre 18°C e 22°C.

A umidade relativa é o maior responsável pela rapidez de evaporação e dispersão de gotículas que podem propiciar o desenvolvimento de microrganismos

(MAJEROWICZ 2008). O controle da umidade é necessário, porém não necessita de precisão e controle como da temperatura (CLOUGH 1982; NRC 2003). Flutuações extremas na umidade podem propiciar o surgimento de infecções, principalmente respiratórias, bem como alterações no consumo de ração e água. (CLOUGH 1982). Os roedores e lagomorfos da unidade possuem ambientes com umidade controlada através de trocas de ar para sua manutenção na faixa de 40% a 55%.

O fotoperíodo é um dos mais importantes itens que influenciam o ritmo biológico de animais de laboratório, interferindo no seu comportamento e reprodução. (DOS SANTOS 2002). Roedores são mais ativos à noite e sensíveis a luz de alta intensidade (MAJEROWICZ 2008), deste modo, as salas de criação possuem controle automático de luz com 12 horas de claro e 12 horas de escuro com intensidade luminosa mantida na ordem de 150 Lux a um metro do piso.

Um sistema de ventilação que produza trocas de ar nas salas de animais é fundamental para controle de temperatura, umidade e diluição de possíveis poluentes químicos (DOS SANTOS 2002). O Serviço de Roedores e Lagomorfos possui sistema de ventilação por ar condicionado e exaustão mecânica que utiliza ar externo filtrado. O ambiente é controlado com 10 a 15 trocas de ar por hora (volume do ambiente) que visam à eliminação dos odores, gases, e auxiliam na manutenção da umidade e temperatura. As salas e corredores contam com gradientes de pressão diferenciados, mantendo as salas de animais com pressão positiva em relação aos corredores e salas adjacentes.

Os ruídos dentro de um biotério de criação são inevitáveis, porém devem ser minimizados (DOS SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008). Em camundongos, a exposição de sons acima de 85 dB pode causar efeitos auditivos e sistêmicos, como, por exemplo eosinopenia, aumento da pressão da glândulas adrenais, fertilidade reduzida. (SALES ET AL 1998). Os biotérios de criação do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz buscam sempre evitar sons acima do tolerado tendo em vista seu efeito nos animais.

Os insetos vetores e animais silvestres são responsáveis pela grande parte das doenças e zoonoses que afetam os animais de laboratório (SANTOS 2006). As

barreiras sanitárias e projeto das instalações do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz visam o impedimento do seu acesso. A inexistência de janelas, *air locks*, controle de vetores artrópodes e controle de roedores são suas principais estratégias no controle integrado de pragas e vetores. O controle de vetores artrópodes é realizado através de armadilhas localizadas no exterior do edifício. No caso do controle de roedores, armadilhas são dispostas no interior e exterior do edifício e a dedetização ocorre trimestralmente, intercalando a líquida com gel. Os materiais e insumos são armazenados acima do acesso ao piso para evitar o acesso de outros animais.

O alojamento apropriado é essencial para o bem-estar animal, para qualidade das pesquisas, para desenvolvimento adequado dos animais e sua reprodução. As dimensões adequadas das gaiolas proporcionam saúde e segurança aos animais de laboratório bem como das pessoas envolvidas nas atividades. (MAJEROWICZ 2008). Os animais são mantidos em gaiolas com tamanho e materiais adequados respeitando sua classificação sanitária.

Os materiais e insumos utilizados são de grande importância para manutenção da classificação sanitária e saúde dos animais. A contaminação de alimentos líquidos ou sólidos pode causar efeitos em processos bioquímicos e fisiológicos. (NRC 2003). A água e ração oferecida em determinados setores passam por esterilização por autoclave, sendo estocados em locais adequados e em poucas quantidades visando evitar sua deteriorização. Sua reposição e oferta são realizadas diariamente para evitar acúmulos e possíveis contaminações.

A forração das gaiolas é utilizada para manter os animais secos e limpos e proporcionar um ambiente confortável, servindo também como ninho para pequenos roedores (MAJEROWICZ 2008). A maravalha de madeira é o material de cama empregado para animais no Centro de Criação de Animais de Laboratório, sendo esterilizada por autoclave. Vale ressaltar que durante a esterilização a maravalha pode ter sua capacidade absorviva diminuída (MAJEROWICZ 2008), portanto ela passa processo de secagem em uma estufa de esterilização após seu tratamento.

Outros materiais utilizados com finalidade de enriquecimento ambiental e ninho, como a semente de girassol e algodão hidrofóbico, possuem tratamento igual a da cama antes da sua disposição nas gaiolas dos animais.

#### **4.3 Classificação dos animais de acordo com o padrão sanitário**

A classificação dos animais de acordo com seu padrão sanitário pode ser definida como a relação dos animais associado ao ambiente físico, que inclui os organismos associados aos animais e eficiência das barreiras sanitárias. A padronização sanitária dos animais visa à minimização de erros por diferenças ambientais nos procedimentos experimentais (COUTO 2002; MAJEROWICZ 2008; CARIMISSI, MERUSSE 2009).

Animais “convencionais” são aqueles criados em biotérios desprovidos de barreiras sanitárias eficientes para impedir a introdução de microrganismos. Sua microbiota é desconhecida tanto patogênica quanto não patogênica. Esta classificação de padrão sanitária é comumente oriunda de animais criados em sistemas de gaiolas abertas e condições de livre acesso à sala de animais. Vale ressaltar que se as instalações possuírem sistemas de barreira de baixa segurança. Estes animais podem ser denominados animais “convencionais monitorados ou controlados” dependendo das barreiras sanitárias instauradas (NCR 1976; GÓRSKA 2000; MAJEROWICZ 2008).

Animais “livres de microrganismos patogênicos específicos” (Specific Pathogen Free – SPF) são ausentes de organismos patogênicos específicos que causam doenças clínicas ou subclínicas, ou ainda, potencialmente patogênicos de uma determinada espécie animal. Os animais SPF são criados e mantidos em barreiras sanitárias rigorosas ou isoladores para garantir seu padrão sanitário (GÓRSKA 2000; COUTO 2002; CARIMISSI, MERUSSE 2009).

Animais “axênicos” compreendem os derivados de histerectomia totalmente livre de microbiota. Estes são mantidos e criados em isoladores para evitar contaminações associadas. Já animais “gnotobióticos” são criados e mantidos como

axênicos, porém podem apresentar uma ou mais formas não patogênicas associadas. (NCR 1976; GÓRSKA 2000; MAJEROWICZ 2008; CARIMISSI, MERUSSE 2009).

Existem também as classificações em menor uso, como animais com “microbiota definida associada” e animais “mantidos em barreiras”, que não são de uso comum no Brasil (CARIMISSI, MERUSSE 2009).

## **5. Área de Criação de Cobaias**

---

A área de criação de cobaias é responsável pela manutenção de biotério de criação convencional destinado à criação e reprodução de matrizes de cobaia (*Cavia porcellus*) da variedade Short Hair.

### **5.1 Cobaias**

As cobaias, ou porquinho da Índia, é um roedor da família *Cavidae* nativo da América do Sul. Estes roedores são amplamente utilizados em biotérios de criação e experimentação, sendo a espécie mais utilizada para pesquisa a *Cavia porcellus*. Eles possuem pelo curto, liso e macio; pelos longos e sedosos e pelos curtos, ásperos, que crescem em redemoinhos ou “rosetas” (MENENDEZ 1985; COUTO 2002; SIROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009).

Estes animais possuem características próprias em relação a outros roedores. Seus corpos são reforçados com membros relativamente curtos e delicados com quatro dedos em cada membro anterior e quatro em cada membro posterior. Os jovens nascem prematuros e totalmente com pelos, de olhos abertos e capazes de comer alimento sólido em poucas horas. (COOPER, SCHILLER 1975; JOSEPH, PATRICK 1976; WAGNER, HARKNESS 1983; COUTO 2002; SIROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009).

Natural de florestas temperadas, tropicais e paisagens temperadas, o roedor vive em áreas abertas e gramadas. Eles não escavam suas próprias tocas, mas

utilizam tocas deixadas por outros animais. Diferente da maioria dos outros animais da ordem Rodentia, são ativas na maior parte do período de 24 horas (SIROIS 2007). Os adultos frequentemente mordem as orelhas dos jovens e podem ser violentos em disputas pela fêmea no estro. As cobaias podem vocalizar em situações de dor ou estresse, e há estímulos prazerosos, como um saco de comida sendo aberto (SIROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009).

As cobaias tendem a ter hábitos dietéticos meticulosos e costumam não responder bem a alterações nutricionais. Seu alimento deve ser específico e de alta qualidade, não podendo a ração de coelho ser um substituto devido à seu alto teor de fibra e baixos níveis de proteínas em relação aos exigidos pela espécie (SIROIS 2007).

Assim como primatas, cobaias apresentam a incapacidade de sintetizar ácido ascórbico por deficiência genética da enzima hepática gluconolactona (SAIZ ET AL 1983; WAGNER, HARKNESS 1983; COUTO 2002; SIROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009). A maioria das rações específicas para espécie vem suplementada de vitamina C, porém ela é muito instável e facilmente destruída pelo calor e luz ultravioleta. Esta deve ser suplementada na água a fim de garantir níveis adequados aos animais (COUTO 2002; SIROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009).

## 5.2 Modelos Animais

Segundo COUTO, FERREIRA 2009, as primeiras utilizações com fins experimentais foram feitas por Lavoisier em 1790 em estudos com calor. Atualmente, as cobaias são reativos biológicos nos estudos de nutrição devida sua semelhança com primatas. Além de ser o animal de escolha para obtenção do “complemento”, estudos hormonais e audiológicos são amplamente realizadas devida suas características anatômicas e fisiológicas (SIROIS 2007). As cobaias possuem importante papel no diagnóstico clínico e isolamento do *Mycobacterium tuberculosis*, variedade *hominis*. (COUTO, FERREIRA 2009).

### 5.3 Estrutura e Rotina da área de criação de cobaias

Devido sua classificação sanitária em animais “convencionais”, as cobaias do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos são criadas em ambiente desprovidos de barreiras sanitárias eficientes para impedir a introdução de microrganismos. Portanto, sua microbiota é desconhecida tanto patogênica quanto não patogênica (COUTO 2002; NCR 1976; MAJEROWISC 2008; GÓRSKA 2000; SIROIS 2007; CAMIRISSI, MERUSSE 2009).

A instalação convencional da área de criação de cobaia consiste em cinco salas de animais, um depósito e um corredor de distribuição com porta de metal simples abrindo para o corredor de recolhimento central (SIROIS 2007). Sua equipe é composta por dois técnicos que executam diariamente os procedimentos determinados pelo responsável do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz

As cobaias são agrupadas nas salas de acordo com sua finalidade em colônias de reservados, produção e crescimento. Os reservados são animais solicitados para pesquisa que são mantidos no setor até seu envio. A colônia de produção possui a função da geração de novos indivíduos para crescimento e/ou reservados. As cobaias em crescimento permanecem no setor até atingir a maturidade sexual para renovação de animais reprodutores (POP N°1 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGORMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ). A área de criação possui três salas para animais em produção, uma para animais reservados e outra para animais em crescimento.

Cobaias são altamente susceptíveis a alterações ambientais e não suportam extremos de temperatura, principalmente ao calor excessivo (SIROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009). Tendo conhecimento destas características, as salas de animais são aclimatizadas com ar-condicionado para temperatura de 18°C á 22°C e umidade de 40% á 60%.

A colônia de cobaia possui 180 gaiolas, sendo 120 gaiolas destinadas aos reprodutores, 30 gaiolas de animais reservados e 30 para crescimento. Os animais são separados em seis grupos para o programa de acasalamento para renovação de matrizes e fornecimento de animais reservados. Não há identificação individual dos animais, sendo o controle zootécnico feito por gaiola, através de fichas em porta etiquetas de plástico.

As gaiolas para cobaias são do tipo aberta de fundo sólido fabricada de polipropileno autoclavável. Estas possuem dimensões de 90 cm x 60 cm x 30 cm, sendo alocadas em *troullers* com a capacidade máxima de quatro gaiolas cada um. Os comedouros são em formato de J confeccionado em chapa galvanizada com bordas rebatidas. Os bebedouros são do tipo de bico e disposto no exterior da gaiola com auxílio de suporte. A cama utilizada para forrar as gaiolas é de maravalha de madeira autoclavada.

No primeiro dia útil da semana ocorre a troca de gaiolas onde, a antiga é enviada para área de higienização e esterilização de cobaia e coelhos, e substituída por gaiola previamente preparada contendo maravalha autoclavada. No momento da troca, são oferecidos aproximadamente 100 gramas de feno autoclavado do tipo *coast cross* por gaiola. Este material reduz a chance que elas arranquem os pelos umas das outras (COUTO 2002).

A ração para cobaia peletizada de 50 mm não necessita de tratamento térmico devido à sua classificação sanitária de “animal convencional” (GÓRSKA 2000; MAJEROWICZ 2008). Sua oferta é sempre realizada diariamente em pequenas quantidades para evitar seu acúmulo e contaminação (MAJEROWICZ 2008). A água autoclavada é diariamente trocada e suplementada com 100 gramas de vitamina em pó C por litro devido à incapacidade de sintetizar ácido ascórbico por deficiência genética da enzima hepática gluconolactona (WAGNER, HARKNESS 1983; SAIZ ET AL 1983; COUTO 2002; SIROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009). A ração nos comedouros é inspecionada diariamente, e substituídas no momento próximo ao seu esgotamento.

A desmama, sexagem e o acasalamento são executados no último dia útil da semana e seus resultados são registrados à caneta na caneta nas fichas zootécnicas dispostas no exterior das gaiolas. Semanalmente e/ou mensalmente, é realizado um relatório com base nos dados obtidos e submetido ao responsável pelo Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos.

#### **5.4 Acesso e saída pessoal à área de criação de cobaia**

Para acessar a área de criação de cobaia, deve-se retirar o uniforme na rouparia e realizar sua troca no vestiário, sendo apenas aceito o uso de óculos de grau e aliança. O uniforme consiste em vestimenta de macacão de mangas compridas e botas brancas, ambas limpas e autoclavadas. No corredor de acesso, deve-se fazer a lavagem e assepsia das mãos com álcool 70%. A paramentação é finalizada com pro pé, toca, máscara cirúrgica e luva cirúrgica. (POP N°2 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Na saída, deve-se retirar a paramentação no corredor de acesso e descartar em lixo comum devidamente identificado. A saída do setor é permitida após a assepsia das mãos com álcool 70%. O banho antes das atividades não é obrigatório, mas é recomendado. (POP N°2 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).



FIGURA 1 - Fluxograma de acesso pessoal à área de criação de cobaias do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°2 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ

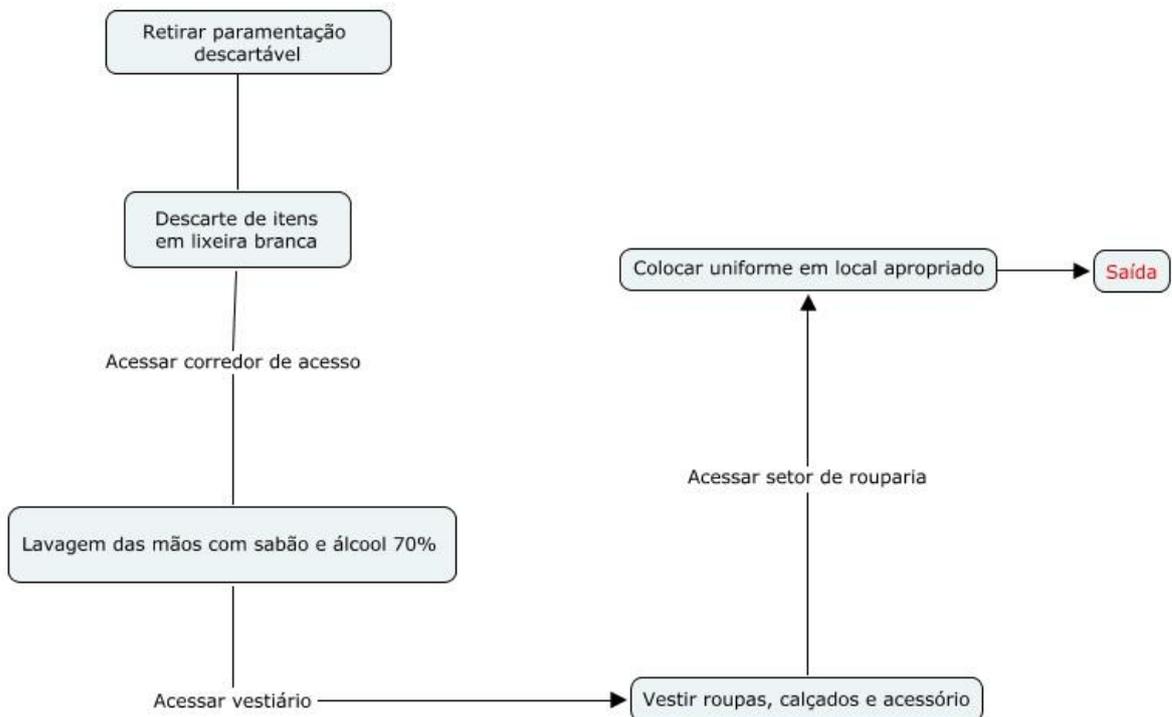


FIGURA 2 - Fluxograma de saída pessoal à área de criação de cobaias do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°2 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ

## 5.5 Contenção de cobaias

O método de contenção para transporte e sexagem corresponde em segurar o animal pelo tórax e apoiar com a outra mão a parte posterior do animal de forma que possibilite que fique sentado na palma da mão. Também é aceito para transporte, segurar o animal pelo tórax e apoiar o animal na palma da mão e parte anterior do antebraço. Para soltar a cobaia, deve-se dispor lentamente o animal próximo ao fundo da gaiola forrada com cama para minimizar o estresse. (COOPER, SCHILLER 1975; JOSEPH, PATRICK 1976; WAGNER, HARKNESS 1983; COUTO 2002; SIROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009).

## 5.6 Acasalamento de cobaias

As cobaias fêmeas possuem ciclo estral de quinze a dezessete dias com ovulação espontânea. São animais poliéstricos não sazonais com o primeiro cio ocorrendo comumente aos 68 dias de idade. O período de gestação é de 59 a 73 dias com aproximadamente três filhotes por ninhada. A puberdade dos machos ocorre aproximadamente em 70 dias, porém maturidade só é atingida com 14 a 19 semanas com o aumento do número de espermatozoides e secreção de andrógenos (COUTO, FERREIRA, 2009; HARKNESS, WAGNER, 1993; SIROIS, 2007).

Os animais da área são mantidos em criação chamadas de outbred, ou heterogênicos, por serem linhagens geneticamente heterozigotas para muitos pares de alelos e criadas em sistema de cruzamento randômico (JONAS 1976; FESTING 1993; DOS SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008,). Estes possuem uma constituição genética de alta heterozigose (99%) e com grande diversidade genética (vários alelos) que possibilita a reprodução de populações naturais (DOS SANTOS 2002).

Segundo DOS SANTOS 2002, o principal objetivo na manutenção de animais outbred é assegurar que a colônia permaneça constante em todas suas características genéticas em maior numero de gerações possível. Para que uma

colônia permaneça constante em suas características, deve ser fechada, isto é, não deve receber reprodutores externos à essa colônia, sem seleção para novas características e que tenha menos de 1% do índice de homozigose por geração (POILEY 1970; MAJEROWICZ 2008).

Na área de criação de cobaias, os machos são mantidos em acasalamento poligâmico permanentemente com cinco fêmeas. O sistema de acasalamento adotado é o método Poiley ou sistema rotacional. Seu principal objetivo consiste em evitar acasalamentos entre parentes próximos e garantir que as gerações futuras venham de um espectro mais amplo de pais do que o sistema de acasalamento ao acaso (POILEY 1970; DOS SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008; SIROIS 2007).

Para manutenção do sistema rotacional de acasalamento, a colônia é subdividida em seis grupos e os acasalamentos são arranjados entre eles de maneira sistemática. A escolha dos animais reprodutores é realizada entre objetivos da própria colônia baseadas nos índices zootécnicos registrados. O acasalamento de cobaia é programado para substituição de matrizes que atingem vinte e quatro meses e produção de animais reservados.

GRUPO DO MACHO	GRUPO DA FÊMEA	GRUPO A FORMAR
1	3	4
2	4	5
3	6	1
4	5	6
5	2	3
6	1	2

Tabela 1 - Quadro de acasalamento adaptado de POILEY 1970 adotado para colônia de cobaias do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°6 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ

O acasalamento pode ser realizado quando as fêmeas tiverem aproximadamente três meses de idade (400-500g) e machos tiveram quatro meses (500-600g), porém na área de criação de cobaia o acasalamento ocorre com animais de oito á dez semanas (SIROIS 2007). Deve-se evitar que as fêmeas sejam fecundadas com idade superior á seis meses devido á sínfise púbica tender a soldar mais firmemente pelo processo de clarificação, produzindo um estreitamento mecânico do canal do parto que pode resultar em partos distócicos (COUTO, FERREIRA 2009).

## **5.7 Substituição de Matrizes de Cobaias**

Após o fim do período reprodutivo, o macho é eutanasiado de acordo com os procedimentos para descarte zootécnico e as fêmeas permanecem nas gaiolas por setenta dias para verificação de prenhez. Em caso de positivo, as fêmeas são encaminhadas para o descarte zootécnico e os filhotes são destinados á colônia de reservados após o desmame. (POP N°7 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Uma nova gaiola com um macho e cinco fêmeas pré-selecionados e com idade reprodutiva da colônia de crescimento é alocada na produção para substituição das antigas matrizes segundo o sistema de acasalamento rotacional ou método Poiley. Caso ocorra a morte do macho ou mais de duas fêmeas antes do período de 24 meses, é necessário realizar o programa de substituição de matrizes. (POP N°7 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Sempre ao realizar a substituição das matrizes uma nova ficha zootécnica é preenchida á caneta e registrada no sistema produtivo do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos (SCRL). Novos dados de número de gaiola são gerados e

completados com número de grupo formado, data de origem e grupo de origem dos pais (POP N°7 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

## **5.8 Desmame e sexagem de cobaias**

Ao atingirem de dezoito á vinte e um dias ou um peso superior á 180 gramas os animais seguem para o desmame (COUTO 2002). Os filhotes são desmamados em gaiolas separados pelo grupo, sexo e idade. No desmame, as cobaias podem ser destinadas á colônia de crescimento ou colônia de reservados segundo o planejamento do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos.

Tanto os machos quanto as fêmeas apresentam uma distância similar entre orifício genital e ânus. Nos machos, o ofício genital é ligeiramente arredondado com sulco úmido e continuo entre a abertura da uretra e o anus, enquanto nas fêmeas este sulco interrompido pela membrana vaginal, exceto durante o estro e a gravidez. Os testículos são palpáveis e o pênis pode ser exteriorizado por uma pressão na região inguinal (COOPER, SCHILLER 1975; JOSEPH, PATRICK 1976; WAGNER, HARKNESS 1983; COUTO 2002; SIOROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009).

Os filhotes desmamados para colônia de crescimento são separados por sexo e idade, onde permanecem em grupos de no máximo sete fêmeas ou cinco machos até atingirem a idade reprodutiva. No caso de cobaias destinadas ao fornecimento, os filhotes são alojados em gaiolas da colônia de reservados segundo os mesmos parâmetros em grupos de até doze animais (POP N°8 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

Sempre ao realizar o desmame as fichas zootécnicas devem ser atualizadas á caneta e registrada no sistema produtivo do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos (POP N°8 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

## 6. Área de Criação de Lagomorfos

---

A área de criação de lagomorfos é responsável pela manutenção de biotério de criação convencional destinado à criação e reprodução de matrizes de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia de cor branca.

### 6.1 Coelhos

Os coelhos foram originalmente classificados dentro da ordem *Rodentia*. Porém, por possuírem dois pares de dentes incisivos superiores, eles foram reclassificados na ordem *Lagomorfa* (SIROIS 2007; POUGH 2008). A família *Leporidae* inclui os gêneros *Oryctolagus* e *Sylvilagus*, que correspondem aos coelhos e lebres respectivamente. De origem Ibérica, o coelho doméstico (*Oryctolagus cuniculus*) passou seleções de cruzamento que alteraram suas características comportamentais e os transformou em animais convencionais de laboratório (COUTO 2002; SIROIS 2007). A raça Nova Zelândia pesa entre 4 kg e 6 kg, e possui uma uniformidade que é desejável nas reações experimentais. Seu fácil manejo, docilidade, reprodução e conhecida docilidade, os torna animais de escolha em biotérios de criação (COUTO 2002).

Além dos dois pares de incisivos superiores, os coelhos possuem corpo leve quando comparados à seu peso devido à sua alta relação músculo/osso e grandes quantidades de gordura. Os machos tendem a ser menores que as fêmeas, e os membros anteriores são menores que os posteriores. Não possuem coxins plantares e os pés são recobertos por pelos. Seus dedos possuem unhas longas quase retas. A cauda é curta e estes animais possuem clavícula rudimentar. Os coelhos têm orelhas menores e mais curtas que as lebres, sendo bem dotados de pelos, exceto na região escrotal e rostral. Os láparos nascem com uma média de 60 gramas, e os olhos se abrem ao décimo dia. Eles iniciam a alimentação sólida com 15 dias após o nascimento (SAIZ ET AL 1983; SIROIS 2007; COUTO 2002)

Seu comportamento em vida livre é em grupos com contato próximo entre eles. As lutas não são comuns devidos á um sistema hierárquico altamente definido. Em cativeiro, brigas envolvendo animais do mesmo sexo são mais frequentes, pois há disputas territoriais e sexuais envolvidas. São animais alertas com ações regulares de sentar-se nas patas de trás, sozinhos ou se apoiando, com orelhas levantadas e viradas em direção ao estímulo para analisar o ambiente (VERGA ET AL 1978; MOURA, MATTARAIA 2009).

Por possuírem ceco funcional, os coelhos possuem uma população microbiana simbiótica que permite a absorção de ácidos orgânicos pela parede e intestinal e formação de cecotrofos. (CHEEKE 1987; DE BLAS 1989) Os cecotrofos diferem das fezes duras ou verdadeiras em sua composição devido às relações complexas entre o metabolismo bacteriano e a excreção fecal (PROTO, 1976; VERNAY 1987). A cecotrofia, processo pelo qual o coelho ingere as fezes moles inteiras, permite um aproveitamento adicional de nutrientes devido á um novo processo de digestão e sua degradação enzimática normal (MOURA, MATTARAIA 2009).

## **6.2 Modelos Animais**

Os coelhos foram os primeiros animais utilizados para modelos de artrosclerose. Atualmente existem colônias de coelhos para hipercolesterolemia persistente nos EUA. Seu fácil acesso para coleta de sangue através das veias auriculares os torna escolha para produção de anticorpos e fornecimento de sangue. Testes de controle de qualidade para colírios, e avaliação de irritação ocular são comumente realizados nestes animais (SIROIS 2007).

## **6.3 Estrutura e Rotina da área de criação de Lagomorfos**

Apesar de sua classificação sanitária em animais “convencionais” e sua microbiota ser desconhecida tanto patogênica quanto não patogênica, os coelhos do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos são criados com algumas barreiras sanitárias que visam impedir a introdução de microrganismos. (NCR 1976; GÓRSKA

2000; COUTO 2002; SIROIS 2007; CAMIRISSI, MERUSSE 2009; MAJEROWISC 2008).

A instalação convencional da área de criação de cobaia consiste em três salas de animais, uma área de recebimento e preparação de materiais e um corredor de distribuição com porta de metal simples abrindo para o vestiário. Sua equipe conta com quatro técnicos que executam diariamente os procedimentos determinados pelo responsável do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos.

Os coelhos são agrupados nas salas de acordo com sua finalidade em colônia de reservados, produção e crescimento. Os reservados são aqueles solicitados para pesquisa e mantidos no setor até seu envio. A colônia de produção possui a função da geração de novos indivíduos para crescimento e reservados. A colônia de crescimento permanece no setor até atingir a maturidade sexual para renovação de animais reprodutores (POP N°11 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGORMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ). A área de criação possui duas salas para animais em produção e uma para animais reservados e crescimento.

O vestiário é localizado na entrada da área de higienização e esterilização de coelho e cobaias, sendo o único acesso para a área de criação de coelhos. Ele possui duas áreas distintas separadas por boxe de higienização corporal. Esta organização espacial permite a separação das áreas limpa e suja da colônia da unidade (CARDOSO 2001).

A área de recebimento e preparo de material é destinada á montagem das gaiolas e depósito de materiais e insumos esterilizados. Este local possui barreiras sanitárias e de contenção que visam impedir que agentes indesejáveis tenham acesso ás áreas de criação animal e que agentes patogênicos venham se dispersar no ambiente de trabalho ou para o exterior do prédio (MAJEROWICZ 2008). Os materiais e seu fluxo de envio para área de higienização é realizado através de uma autoclave horizontal de dupla-porta. Além desta barreira, a área conta ainda com um porto de passagem e tanque de imersão.

A criação de coelhos possui três *air locks* que conectam as salas de animais com o corredor de recolhimento central. Estes são ambientes pequenos com pressão negativa em relação á sala de animais, que tem por finalidade impedir a penetração ou saída de ar do ambiente contíguo, e dá maior segurança no fluxo unidirecional de recolhimento. (COUTO 2002; CARDOSO 2001). Os air locks da área de criação de coelhos possuem ainda armadilhas para vetores artrópodes para o controle integrado de pragas da unidade.

Os coelhos toleram temperaturas frias com maior resistência que temperaturas elevadas. (HARKNESS, WAGNER 1989; SIROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009) Para tanto, as salas de animais são aclimatizadas com ar-condicionado para temperatura de 17°C á 21°C e umidade de 30% á 70%.

A colônia de coelhos possui 496 gaiolas, sendo 396 gaiolas destinadas aos reprodutores, 50 gaiolas de animais reservados e 50 para crescimento. Os animais são separados em seis grupos para o programa de acasalamento Não há identificação individual dos animais, sendo o controle zootécnico feito por gaiola, através de fichas em porta etiquetas de plástico.

As gaiolas para coelhos são do tipo aberta com fundo perfurado, fabricada de polipropileno autoclaváveis e com armado de aço inox que se abrem pela frente. Estas ficam suspensas por racks com bandejas de aço inox forradas com maravalha autoclava para coleta de resíduos. A alocação permite a manutenção de até três gaiolas por estante.

As dimensões das gaiolas são de 90 cm x 60 cm x 40 cm, sendo equipados com comedouro em formato de J confeccionado em chapa galvanizada com bordas rebatidas. Os bebedouros de bico são do tipo automático e dispostos no exterior da gaiola com auxílio de suporte.

No primeiro dia útil da semana ocorre a troca de gaiolas e bandejas onde, as antigas são enviadas para área de higienização e esterilização de covaia e coelhos, e substituídas por material autoclavado e previamente forrada com maravalha estéril. A ração para coelho peletizada de 50 mm não necessita de tratamento

térmico devido à sua classificação sanitária de animal “convencional” (MAJEROWICS 2008; GÓRSKA 2000). Sua oferta é sempre realizada diariamente em pequenas quantidades para evitar acúmulo e contaminação (MAJEROWICS 2008). A água autoclavada e a ração são inspecionadas diariamente, e substituídas no momento próximo ao seu esgotamento.

A desmama, sexagem e o acasalamento são executados no último dia útil da semana e seus resultados são registrados à caneta à caneta nas fichas zootécnicas dispostas no exterior das gaiolas. Semanalmente e/ou mensalmente, é realizado um relatório com base nos dados obtidos e submetido ao responsável pelo Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos.

#### **6.4 Acesso e saída pessoal à área de criação de lagomorfos**

Para acessar a área de criação de lagomorfos, deve-se acessar a “área suja” do vestiário e higienizar a cavidade oral com escova, pasta e antisséptico bucal. Posteriormente, toda a roupa é retirada e o funcionário segue para o Box de higienização, onde o banho com xampu neutro e sabonete antisséptico é obrigatório. Após a lavagem e higienização corporal, a área limpa do vestiário pode ser acessada e o uniforme deve ser colocado. Este consiste em vestimenta de macacão de mangas compridas, capuz e botas brancas. Ainda no vestiário, é necessário fazer a assepsia das mãos com álcool 70%. A paramentação é finalizada com máscara e luvas cirúrgicas (POP N°14 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

Na saída, deve-se retirar a paramentação no corredor de distribuição e descartar em lixo comum devidamente identificado. Na área limpa do vestiário, é necessário fazer retirar todo o uniforme, e realizar o procedimento do banho no Box de higienização corporal. Na área suja, a roupa é vestida e a saída pode ser realizada. (POP N°14 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO FIOCRUZ).

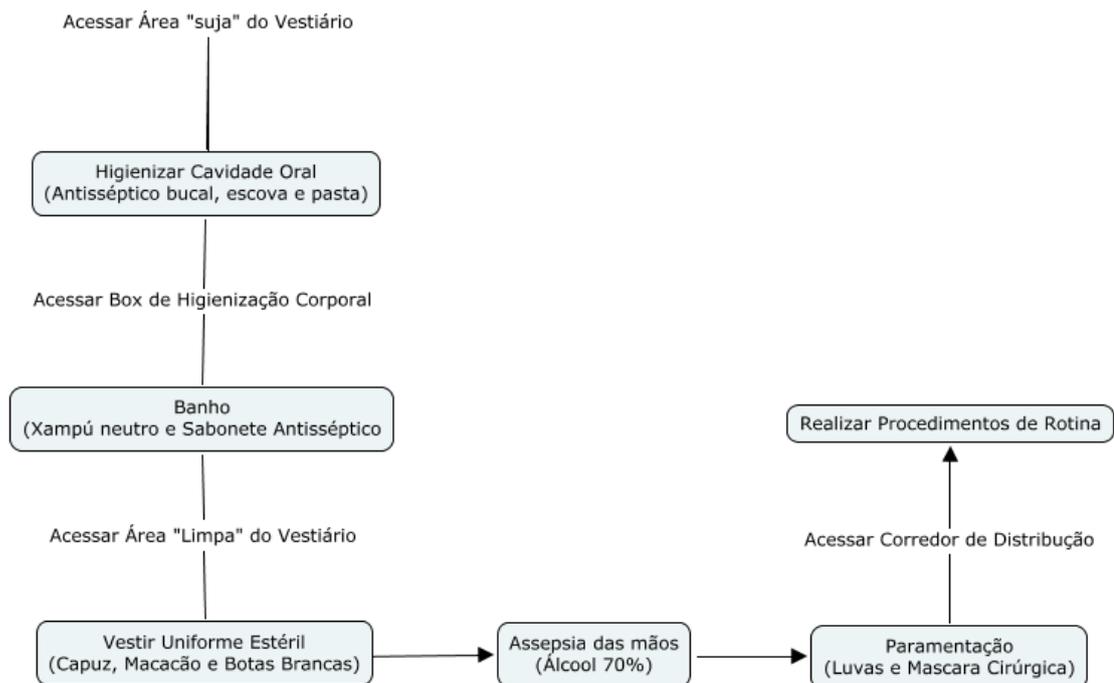


FIGURA 3 - Fluxograma de acesso pessoal à área de criação de Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°14 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ.

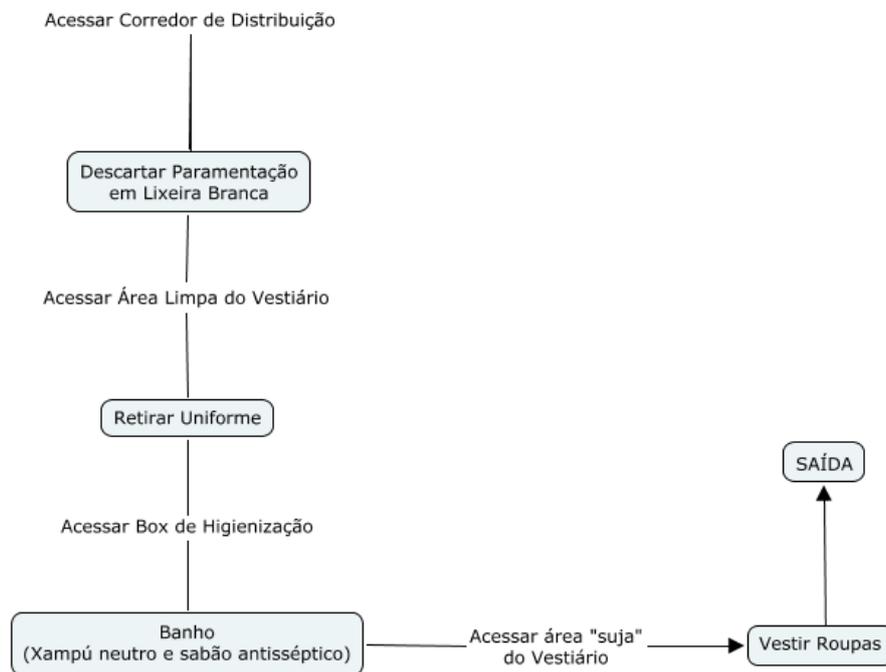


FIGURA 4 - Fluxograma de saída pessoal à área de criação de Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°14 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ

## 6.5 Cotenção de Lagomorfos

A contenção de coelhos é um procedimento que merece atenção especial devido à sua facilidade de estresse e possíveis lesões. Muitas vezes, a manipulação inadequada pode ocasionar uma condição comum chamada de paralisa posterior. Esse quadro é comum quando os animais tentam chutar e seus membros posteriores torcem, ocorrendo fraturas usualmente na sétima vértebra lombar. Além do risco para os coelhos, seus poderosos membros e unhas podem lesionar o manipulador (HARNKESS, WAGNER 1989; CHEEKE ET AL 2000; COUTO 2002; SIROIS 2007).

A maneira mais segura de remover um coelho da gaiola é agarrando-se pela pele solta atrás do pescoço. Para remover o animal, deve-se agarrá-lo por essa região e apoiar os membros posteriores com a outra mão e colocar a cabeça do animal sob o braço, dispondo o animal ao longo do braço. (HARNKESS, WAGNER 1989; CHEEKE et al 2000; COUTO 2002; SIROIS 2007).

Outros métodos de contenção são aceitáveis, como caixa de contenção e hipnose física através de leve massagem no abdômen (SIROIS 2007). Entretanto, devido aos principais procedimentos da área de criação lagomorfos não necessitar de procedimentos mais invasivos, estes não são utilizados.

## **6.6 Acasalamento de Lagomorfos**

O ciclo estral da coelha, ao contrário de outros mamíferos, não é regular, sendo a ovulação induzida 10 horas após a cópula. A fêmea pode ser fecundada durante 12 dos 16 dias do ciclo ovariano. As manifestações externas do estro são variáveis á discretas. A coloração da vulva e o comportamento do macho na presença da fêmea são seus principais indicadores. A aceitação máxima do macho é obtida para vulvas de coloração vermelha á roxa, enquanto o mínimo é atingido para a cor branca. O estado da turgidez da vulva é favorável para cobrir (HARKNESS, WAGNER 1989; ALVARIÑO 1989; COUTO 2002).

O período de gestação é de 30 a 32 dias com aproximadamente de seis á oitos láparos por ninhada. Casos excepcionais podem alcançar até 15 filhotes por ninhada (COUTO 2002; MOURA, MATTARAIA 2009). Os machos iniciam as primeiras tentativas de montagem são feitas com entre 60 e 70 dias e os primeiros acasalamentos com cerca de 100 dias. Entretanto, maturidade sexual somente ocorre em torno de 120 dias (COUTO 2002; CHEEKE ET AL 2000).

A pseudogestação é um distúrbio reprodutivo comum em coelhos que pode ser facilmente desencadeado pela presença do macho ou quando montada por outra fêmea (COUTO 2000). Segundo CARDOSO 2002, esses estímulos determinam a ovulação e o corpo lúteo, que persiste de 18 a 21 dias, quando então ocorre secreção de progesterona, a qual promove o aumento das mamas e o início da retirada dos pelos do abdômen para fazer o ninho. Na detecção deste, a fêmea da colônia é imediatamente encaminhada para o descarte zootécnico.

Os animais da área são mantidos em criação chamadas de outbred, ou heterogênicos, por serem linhagens geneticamente heterozigotas para muitos pares de alelos e criadas em sistema de cruzamento randômico (JONAS 1976; FESTING 1993; SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008). Estes possuem uma constituição genética de alta heterozigose (99%) e com grande diversidade genética (vários alelos) que possibilita a reprodução de populações naturais. (DOS SANTOS 2002).

Segundo DOS SANTOS 2002, o principal objetivo na manutenção de animais outbred é assegurar que a colônia permaneça constante em todas suas características genéticas em maior numero de gerações possível. Para que uma colônia permaneça constante em suas características, deve ser fechada, isto é, não deve receber reprodutores externos á essa colônia, sem seleção para novas características e que tenha menos de 1% do índice de homozigose por geração (POILEY 1970; MAJEROWICZ 2008).

Na área de criação de lagomorfos, os reprodutores são alojados em gaiolas individuais e acasalados em sistema poligâmico na relação de um macho para cada seis fêmeas. O sistema de acasalamento adotado é o método Poiley ou sistema rotacional. Seu principal objetivo consiste em evitar acasalamentos entre parentes próximos e garantir que as gerações futuras venham de um espectro mais amplo de pais do o sistema de acasalamento ao acaso (POILEY 1970; SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008; SIROIS 2009).

Para manutenção do sistema rotacional de acasalamento, a colônia é subdividida em seis grupos contendo seis machos e trinta e seis fêmeas cada. Os acasalamentos são arranjados entre eles de maneira sistemática. A escolha dos animais reprodutores é realizada entre objetivos da própria colônia baseadas nos índices zootécnicos registrados. O esquema segue indefinidamente de modo que os descendentes ao retornarem as gaiolas de origem, seus ancestrais já não mais se encontram nas mesmas (POILEY 1970; SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008; SIROIS 2009). A substituição de matrizes é programada para animais que atingem dois anos. (POP N°16 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

<b>GRUPO DO MACHO</b>	<b>GRUPO DA FÊMEA</b>	<b>GRUPO A FORMAR</b>
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>6</b>	<b>1</b>
<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>5</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>

TABELA 2 - Tabela de acasalamento adaptado de POILEY 1970 adotado para colônia de lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°6 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ

O acasalamento é realizado quando as fêmeas e machos tiverem aproximadamente seis meses de idade ou 3 Kg á 3,5 Kg. Cada macho é acasalado á cada 15 dias com a levada da fêmea á gaiola do macho, segundo o sistema rotacional ou método Poiley. Após um exame dos sinais clínicos do estro, a fêmea é levada para a gaiola do macho para facilitar o acasalamento e evitar brigas. Os coelhos podem ser mantidos em atividade reprodutiva durante três á quatro anos dependendo de seus índices reprodutivos (POP N°16 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

A cobertura deve ocorrer em alguns minutos, e caso necessário o técnico deve assistir ao procedimento fazendo a contenção da fêmea. Após constatar a primeira copula, a fêmea é mantida na gaiola do macho para possibilidade de ocorrência de uma segunda relação sexual. Em seguida é necessário verificar a presença de líquido seminal na vagina e relocar a fêmea em sua gaiola. Caso a fêmea não aceite o macho, ela deve ser retirada e colocada na gaiola de outro macho do mesmo grupo. (SIROIS 2007; COUTO, FERREIRA 2009).

## **6.7 Substituição de Matrizes de Lagomorfos**

Após o fim do período reprodutivo, o macho é eutanasiado de acordo com os procedimentos para descarte zootécnico e as fêmeas permanecem nas gaiolas por setenta dias para verificação de prenhez. Caso positivo, os filhotes desmamados são encaminhados para colônia de crescimento ou reservados, e as fêmeas são encaminhadas para o descarte zootécnico. (POP N°25 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

A nova gaiola com um macho ou fêmea é pré-selecionado de acordo com a idade reprodutiva na colônia de crescimento. Esta é alocada na colônia de produção para substituição das antigas matrizes segundo o sistema de acasalamento rotacional ou método Poiley (POP N°25 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

Sempre ao realizar a substituição das matrizes uma nova ficha zootécnica é preenchida á caneta e registrada no sistema produtivo do serviço de criação de roedores e lagomorfos (SCRL). Novos dados de número de gaiola são gerados e completados com número de grupo formado, data de origem e grupo de origem dos pais (POP N°25 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

## **6.8 Desmame e sexagem dos láparos**

Ao atingirem de quarenta dias ou um peso superior á 800 gramas os animais seguem para o desmame. Durante o procedimento, os filhotes são separados de acordo com o grupo, idade e sexo dos animais (COUTO 2002). No desmame, os coelhos podem ser destinadas á colônia de reservados ou crescimento de acordo com o planejamento do Serviço de Roedores e Lagomorfos. (POP N°18 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Com dois a três dias antes do parto, é colocada na gaiola da fêmea uma porção de 200g de algodão hidrofóbico esterilizado para formação do ninho. A fêmea prepara o ninho com o material e com pelos retirados do abdômen para facilitar a amamentação e aquecimento dos láparos. Deve-se ter extremo cuidado para manusear o ninho, evitando assim que a fêmea rejeite seus filhotes (ALVARIÑO 1993; COUTO, 2002; MOURA, MATTARAIA 2009).

Quando o parto excede dez filhotes, estes são transferidos para outra fêmea do mesmo grupo, de modo que cada uma fique com no máximo oito láparos. Diariamente são verificados os ninhos, retirando os láparos mortos. Antes de manusear os láparos é obrigatório esfregar a mão no ninho para evitar a rejeição dos láparos e canibalismo. A fêmea que pratica canibalismo é submetida ao descarte zootécnico. (COUTO 2002; POP N°27 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

De acordo com COUTO 2002, à distância ano-genital nos machos recém-nascidos é visivelmente maior do que nas fêmeas. A determinação do sexo se faz contendo-se adequadamente o animal, trazendo-o contra seu corpo, separando-se as patas posteriores com uma das mãos e com o polegar vai-se empurrando ligeiramente para dentro os órgãos genitais externos. Os machos apresentam o pênis com extremidade arredondada e as fêmeas apresentam abertura vaginal e a vulva. Em algumas raças as características sexuais secundárias são aparentes. As fêmeas podem apresentar papadas e os machos são mais gordos e têm a cabeça quadrada.

Quando a finalidade do desmame for a renovação das matrizes, os animais são colocados na colônia de crescimento em grupos de no máximo quatro fêmeas ou três machos até atingirem a idade reprodutiva. Coelho destinados ao fornecimento são alojados em gaiolas da sala de reservados em grupos de até dez animais (POP N°27 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

Sempre ao realizar o desmame as fichas zootécnicas devem ser atualizadas á caneta e registrada no sistema produtivo do serviço de criação de roedores e lagomorfos (POP N°18 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

## **7. Área de Criação de Hamster**

---

A área de criação de hamster é responsável pela manutenção de biotério de criação convencional destinado á criação e reprodução de matrizes de hamster (*Mesocricetus auratus*) da raça golden.

### **7.1 Hamster golden**

O nome popular, hamster, abrange diversos roedores da família *Cricetidae*, que divergem nas características físicas e no número de cromossomos. Os hamsters são habitantes de regiões semiáridas do sudeste da Europa e Ásia Menor (ADLER 1948; GATTERMANN ET AL 2001; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; MORI ET AL 2009).

O hamster golden possui pele abundante e flácida, pelo curto e macio, corpo compacto e cauda muito curta e com pelos. A coloração de seu dorso é avermelhada, com região ventral cinza, entretanto, outras variações fenotípicas podem ser encontradas (DOS SANTOS 2002; WHITTAKER 2006; SIROIS 2007; MORI ET AL 2009).

As bolsas guturais são uma de suas mais marcantes características, que os permitem transportarem alimentos, objetos e esconder os filhotes. Esta é uma invaginação da parede bucal lateral que se estende até a região escapular. Devido á ausência de uma drenagem linfática, a estrutura previne o sistema imune de respostas normais (SIROIUS 2007; MORI ET AL 2009).

Seu comportamento natural é pouco conhecido, entretanto, sabe-se que são animais escavadores que constroem tocas. São animais solitários e extremamente territoriais com fêmeas maiores que os machos. O acasalamento de animais adultos pode causar brigas e ferimentos. Para tanto, o acasalamento em cativeiro deve ser realizado logo após a desmama para evitar lesões entre os animais. (GATTERMANN 2001; SIROIS 2007; MORI ET AL 2009).

São os únicos animais de laboratório sazonais, com grande quantidade de tecido adiposo marrom. Em condições naturais, na baixa oferta de recursos e períodos de dias curtos com baixa luminosidade e temperatura (menores que 5°C), os hamsters podem hibernar permanecendo assim até a melhora das condições ambientais. Para evitar esse fenômeno num biotério de criação, deve-se manter a temperatura ambiente na média de 22°C e períodos de 12 horas de claro (SIEGEL 1987; CANTRELL, PADOVAN 1987; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; MORI ET AL 2009).

## **7.2 Modelos Animais**

O hamster golden é um popular objeto de pesquisa devido sua gestação curta e facilidade de reprodução. São animais virtualmente livres de doenças espontâneas e muito susceptíveis á agentes patogênicos introduzidos. Suas bolsas gutorais são comumente utilizadas em estudos de carcinogênicos. Devido sua semelhança nas coroas dentárias com humanos, cáries dentárias podem ser induzidas facilmente na espécie por alterações dietéticas. Os hamsters são resistentes a efeitos deletérios radioativos, o que os torna potencialmente importantes na radiobiologia. A hanseníase humana, *diabetes mellitus*, e brucelose são altamente susceptíveis nesta espécie. (DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; MORI ET AL 2009)

### **7.3 Estrutura e Rotina da área de criação de hamster**

Devido sua classificação sanitária em animais “convencionais”, os hamsters do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos são criados em ambiente desprovidos de barreiras sanitárias eficientes para impedir a introdução de microrganismos. Portanto, sua microbiota é desconhecida tanto patogênica quanto não patogênica (COUTO 2002; NCR 1976; MAJEROWISC 2008; GÓRSKA 2000; SIROIS 2007; CAMIRISSI, MERUSSE 2009). A instalação convencional da área de criação de hamster consiste em uma sala e um corredor de distribuição com porta de metal simples abrindo para o corredor de recolhimento central (SIROIS 2007). Sua equipe conta com uma técnica, que executa diariamente os procedimentos determinados pelo responsável do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos.

Os hamsters são agrupados na sala de acordo com sua finalidade em colônias de reservados, produção e crescimento. Os reservados são animais solicitados para pesquisa que permanecem no setor até seu envio. A colônia de produção possui a função da geração de novos indivíduos para crescimento e reservados. Os hamsters em crescimento permanecem na colônia de crescimento até atingir a maturidade sexual para renovação de animais reprodutores (POP N°23 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGORMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Estes animais comumente são solitários e com capacidade de hibernação (SIROIS 2007). A sala de animais é aclimatizada com ar-condicionado para temperatura de 20°C á 22°C e umidade de 40% á 60%. A colônia de hamster possui 120 gaiolas, sendo 60 gaiolas destinadas aos reprodutores, 15 gaiolas de animais reservados e 15 para crescimento. Os animais são separados em seis grupos segundo o programa de acasalamento para renovação de matrizes e fornecimento de animais reservados. Não há identificação individual dos animais, sendo o controle zootécnico feito por gaiola, através de fichas em porta etiquetas de plástico.

As gaiolas para hamster são do tipo microisolador de fundo sólido fabricada de policarbonato autoclavável. Estas possuem dimensões de 90 cm x 60 cm x 30 cm, sendo alocadas em estante convencional com a capacidade máxima de 56 gaiolas. Estas possuem suporte armado para bebedouro sem bico de 350 mL e ração em V. A cama utilizada para forrar as gaiolas é de maravalha de madeira autoclavada.

No primeiro dia útil da semana ocorre a troca de gaiolas onde, a em uso é enviada para área de higienização e esterilização de roedores convencionais, e substituída por gaiola previamente preparada contendo maravalha autoclavada. No momento da troca, são oferecidos aproximadamente 10 gramas de semente de girassol e algodão hidrofóbico esterilizado.

A ração utilizada para hamster é a de tipo peletizada de 15 mm que não necessita de tratamento térmico devido à classificação sanitária do mesmo como “animal convencional” (MAJEROWICZ 2008; GÓRSKA 2000). Sua oferta é sempre realizada semanalmente em pequenas quantidades para evitar acúmulo e contaminação (MAJEROWICZ 2008). A água de beber é autoclavada e trocada semanalmente. A ração nos comedouros é inspecionada diariamente, e substituído no momento próximo ao seu esgotamento.

A desmama, sexagem e o acasalamento são executados no último dia útil da semana e seus resultados são registrados à caneta à caneta nas fichas zootécnicas dispostas no exterior das gaiolas. Semanalmente e/ou mensalmente, é realizado um relatório com base nos dados obtidos e submetido ao responsável pelo Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos.

#### **7.4 Acesso e saída pessoal à área de criação de hamster**

Para acessar a área de criação de hamster, deve-se retirar o uniforme na rouparia e realizar sua troca no vestiário, sendo apenas aceito o uso de óculos de grau e aliança. O uniforme consiste em vestimenta de macacão de mangas compridas e botas brancas, ambas limpas e autoclavadas. No corredor de acesso, deve-se fazer a lavagem e assepsia das mãos com álcool 70%. A paramentação é

finalizada com pro pé, toca, máscara cirúrgica e luva cirúrgica. (POP N°34 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Na saída, deve-se retirar a paramentação no corredor de acesso e descartar em lixo comum devidamente identificado. A saída do setor é permitida após a assepsia das mãos com álcool 70%. O banho antes das atividades não é obrigatório, mas é recomendado. (POP N°34 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

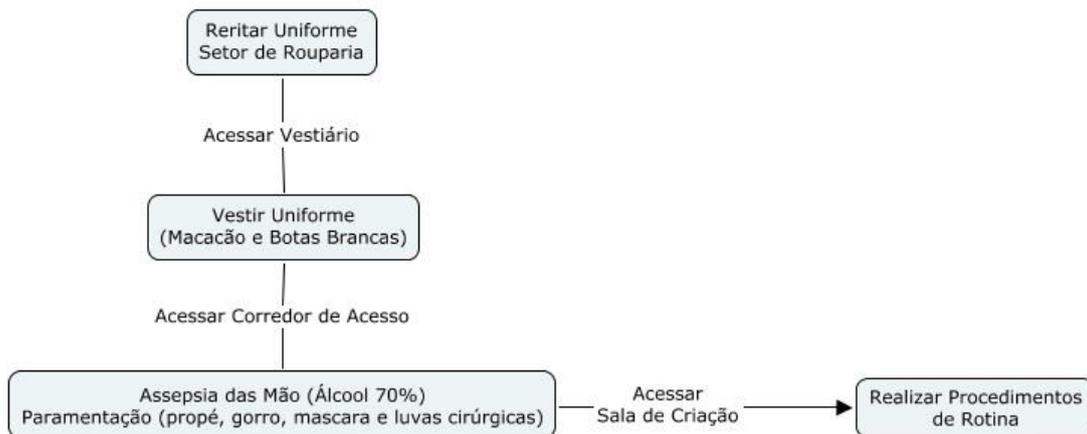


FIGURA 5 - Fluxograma de acesso pessoal à área de criação de Hamster do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°34 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ

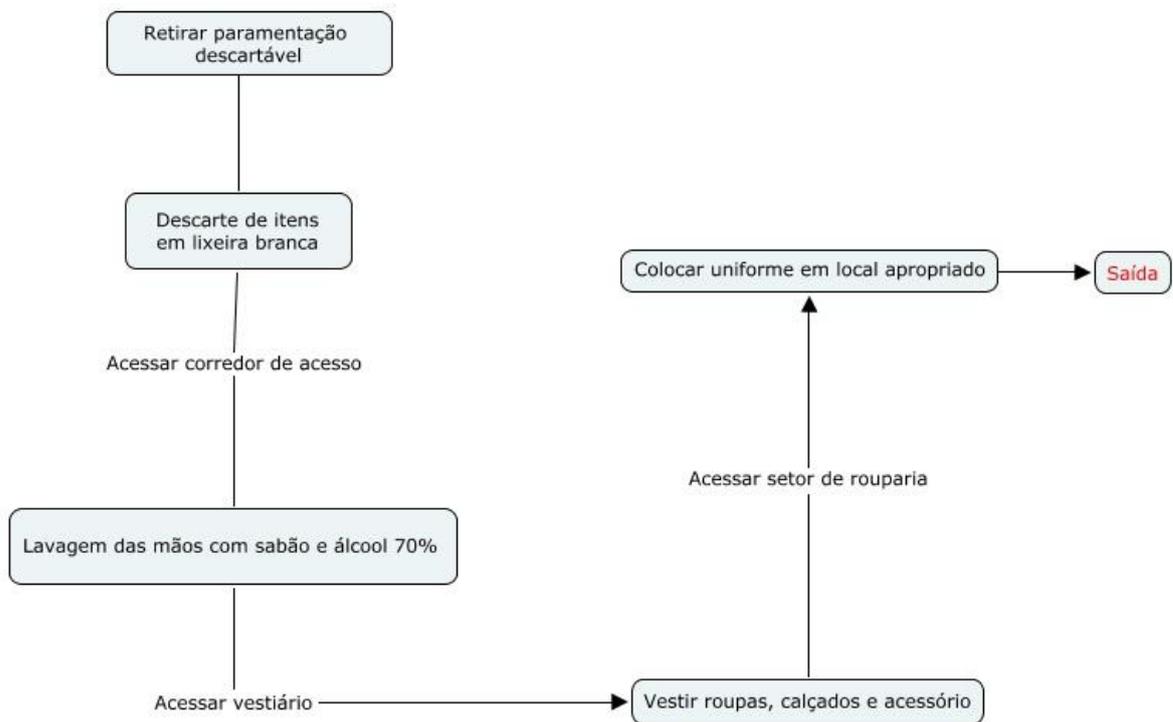


FIGURA 6 - Fluxograma de saída pessoal á área de criação de Hamster do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°34 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ

## 7.5 Cotenção de hamster

A contenção do hamster é favorecida pela sua pele frouxa. Ao realizar a contenção do hamster, é importante se mostrar presente ao animal para evitar mordeduras. Para contenção, deve-se agarrar o hamster pela pele solta atrás do pescoço com os dedos de uma única mão como uma pinça no dorso do animal (MORI ET AL 2009). Nos casos onde uma contenção mais firme é necessária, o roedor pode ser agarrado todo pela mão do manipulador pela pele solta atrás do pescoço. A mão como uma concha pode ser utilizada para transportar filhotes ou mover hamsters para outra gaiola próxima. (DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; MORI ET AL 2009).

## 7.6 Acasalamento de Hamster

O ciclo estral do hamster golden é regular com duração de quatro dias. A ovulação pode ser confirmada pela observação de secreções vaginais opaca, grossa, esbranquiçada e de odor característico (MORI ET AL 2009). A aceitação do macho pode ser confirmada pela posição de lordose da fêmea. A cópula pode ocorrer em até 50 vezes num período de 30 a 60 minutos (SIROIS 2007; MORI ET AL 2009).

A gestação tem duração de 16 dias sendo uma das mais rápidas entre roedores. A prenhez é confirmada pelo aumento de volume abdominal e duas proeminências simétricas na região lombar. Os filhotes nascem com olhos e orelhas fechadas, desprovidos de pelos e com os dentes incisivos. Normalmente é comum o nascimento de até 16 filhotes por ninhada, entretanto a fêmea geralmente só cria até o desmame de 6 a 8 deles (CANTRELL, PADOVAN 1997; SIEGEL 1987; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; MORI ET AL 2009).

Os animais da área são mantidos em criação chamadas de outbred, ou heterogênicos, por serem linhagens geneticamente heterozigotas para muitos pares de alelos e criadas em sistema de cruzamento randômico (JONAS 1976; FESTING 1993; DOS SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008,). Estes possuem uma constituição genética de alta heterozigose (99%) e com grande diversidade genética (vários alelos) que possibilita a reprodução de populações naturais. (DOS SANTOS 2002).

Segundo DOS SANTOS 2002, o principal objetivo na manutenção de animais outbred, também conhecido como heterogênicos ou exocriados, é assegurar que a colônia permaneça constante em todas suas características genéticas em maior numero de gerações possível. Para que uma colônia permaneça constante em suas características, deve ser fechada, isto é, não deve receber reprodutores externos á essa colônia, sem seleção para novas características e que tenha menos de 1% do índice de homozigose por geração (POILEY 1970; MAJEROWICZ 2008).

Segundo MORI ET AL 2009, no Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz foi estabelecido o acasalamento monogâmico permanente, no qual os animais são acasalados após o desmame. O pareamento dos animais é feito obedecendo ao sistema rotacional Poiley. O macho nunca é retirado da gaiola da fêmea. Com isso conseguiu-se não só aumentar a produtividade das fêmeas, como também tornar os animais mais dóceis. O acasalamento é realizado quando as fêmeas tiverem aproximadamente 35 dias de idade e machos tiveram 42 dias.

Para manutenção do sistema rotacional de acasalamento, a colônia é subdividida em seis grupos e os acasalamentos são arranjados entre eles de maneira sistemática. A escolha dos animais reprodutores é realizada entre objetivos da própria colônia baseadas nos índices zootécnicos registrados. O esquema segue indefinidamente de modo que os descendentes ao retornarem as gaiolas de origem, seus ancestrais já não mais se encontram nas mesmas (POILEY 1970; DOS SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008; SIROIS 2009). O acasalamento de hamster é programado para substituição de matrizes que atingem um ano e produção de animais reservados (POP N°26 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

<b>GRUPO DO MACHO</b>	<b>GRUPO DA FÊMEA</b>	<b>GRUPO A FORMAR</b>
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>6</b>	<b>1</b>
<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>5</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>

TABELA 3 - Tabela de acasalamento adaptado de POILEY 1970 adotado para colônia de hamster do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°6 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ

## **7.7 Substituição de Matrizes de Hamster**

Após o fim do período reprodutivo, o macho é eutanasiado de acordo com os procedimentos para descarte zootécnico. As fêmeas permanecem nas gaiolas por quarenta dias para verificação de prenhez. Caso positivo, os filhotes desmamados são encaminhados para colônia de crescimento ou reservados e as fêmeas são encaminhadas para o descarte zootécnico. (POP N°27 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Uma nova gaiola com um macho e uma fêmea pré-selecionados e com idade reprodutiva da colônia de crescimento é alocada na colônia de produção para substituição das antigas matrizes segundo o sistema de acasalamento rotacional ou método Poiley. (POP N°27 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Sempre ao realizar a substituição das matrizes uma nova ficha zootécnica é preenchida á caneta e registrada no sistema produtivo do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos. Novos dados de número de gaiola são gerados e completados com número de grupo formado, data de origem e grupo de origem dos pais (POP N°27 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

## **7.8 Desmame e sexagem de Hamster**

Ao atingirem 21 dias ou um peso superior á 40 gramas os animais seguem para o desmame. Os filhotes são desmamados em novas gaiolas de acordo com sexo, grupo e idade (DOS SANTOS 2002). No desmame, os hamsters podem ser destinadas á colônia de reservados ou crescimento segundo o planejamento da colônia.

A sexagem de hamsters adultos é muito fácil devido ao tamanho e ao caráter proeminente dos testículos. Nos filhotes é possível distinguir o sexo pela maior distancia da genitália externa masculina do ânus.

Quando a finalidade do desmame for á renovação das matrizes, os animais são acasalados e alocados na colônia de crescimento imediatamente. No caso de hamsters destinadas a colônia de reservados, estes são alojadas em grupos do mesmo sexo, idade e grupo em até dez animais por gaiola (POP N°28 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

Sempre ao realizar o desmame as fichas zootécnicas devem ser atualizadas á caneta e registrada no sistema produtivo do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos (POP N°28 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

## 8. Área de Criação de Ratos

---

A área de criação de ratos é responsável pela manutenção de biotério de criação SPF (*specific pathogen free*) destinado á criação e reprodução de matrizes de ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar.

### 8.1 Ratos

O gênero *Rattus* possui cerca de 300 espécies, pertencendo à ordem *Rodentia* e à família *Muridae*. Os mais conhecidos e mais utilizados em experimentação animal são o *Rattus rattus* e *Rattus norvegicus*. Sua ecologia e aparência diferem entre si em alguns aspectos. O *Rattus norvegicus* comumente possui pelagem agouti e vive principalmente em tocas ao nível do solo. A outra espécie possui principalmente pelagem marrom escuro ou preto, e tende a ocupar áreas elevadas. As orelhas e caudas do *Rattus rattus* são comparativamente maiores em relação ao *Rattus norvegicus* (KOHN, BARTHOLD 1984; KOOLHAAS 2006; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; EBUSI ET AL 2009).

As duas espécies são cosmopolitas e podem ser encontradas em todos os continentes. O *Rattus norvegicus* é de origem Asiática, enquanto o *Rattus rattus* fazem parte do cenário europeu pelo menos a partir do século III, onde foi associado com a disseminação da peste bubônica (DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; EBUSI ET AL 2009)

Os ratos são mamíferos de corpo fusiforme e cauda longa com escamas sobrepostas que auxiliam no equilíbrio e termorregulação. São animais com glândulas sudoríparas apenas no coxim plantar sem pelo. Os membros anteriores com quatro dígitos são relativamente menores que os posteriores com cinco dígitos. Suas epífises são não fecham e o animal possui crescimento contínuo ao longo da vida. Possuem pelos recobrimdo todo corpo, exceto na cauda, palmas, narizes, solas e lábios (KOOLHAAS 2006; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; EBUSI ET AL 2009).

Seus olhos são pouco protuberantes com uma glândula lacrimal denominada de glândula de Harder. Essa glândula secreta porfirina, que pode aumentar em situações de estresse e perda de higiene sendo um bom indicador de problemas em biotérios. Os ratos tem a capacidade de fechar as narinas quando submersos, o que os permitem nadar longas distancias (SIROIS 2007; EBUSI et al. 2009).

São animais geralmente dóceis que podem responder agressivamente em proteção dos filhotes. Os ratos interagem pontualmente com novos objetos do ambiente. Eles ficam em pé para explorar o ambiente, limpam-se com frequência e são sociáveis. São animais noturnos com notável capacidade de balancear nutrientes (KOHN BARTHOLD 1984; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; EBUSI et al. 2009).

## **8.2 Modelos Animais**

Os ratos são extensivamente utilizados como modelo animal (SIROIS 2009). Estudos toxicológicos o preferem devido á incapacidade de vomitar. Seu tamanho grande faz deles um modelo cirúrgico mais adequado que camundongos. O cruzamento intencional para susceptibilidade á doenças humanas específicas inclui *diabetes insipidus*, catarata e obesidade. Sua fácil adaptação aos novos ambientes faz do animal modelo em estudos comportamentais. Outras áreas de pesquisa com ratos incluem audiologia, oncologia, teratologia, embriologia, gerontologia, endocrinologia e imunologia (SIROIS 2007; EBUSI et al. 2009).

### 7.3 Estrutura e Rotina da área de criação SPF de Ratos

Devido sua classificação sanitária em animais “livres de microrganismos patogênicos específicos” (*specific pathogen free* – SPF), os ratos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz possuem microbiota isenta de microrganismos patogênicos ou potencialmente patogênicos que causam doenças clínicas e/ou subclínicas. Para tanto, os animais são criados com barreiras sanitárias rigorosas e em rack ventilado para garantir seu padrão sanitário. (NCR 1976; GÓRSKA 2000; COUTO 2002; SIROIS 2007; MAJEROWISC 2008; CAMIRISSI, MERUSSE 2009).

Os animais SPF do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz são mantidos em instalações com restrição no setor SPF. A instalação com restrição do setor SPF possui sala de animais com duas portas, cada uma se abre para o corredor “limpo” e corredor “sujo”. O tráfego é unidirecional, com gaiolas e suprimentos limpos apenas no corredor “limpo” e materiais sujos apenas no corredor “sujo”. As pessoas não saem pelo corredor sujo e devem tomar banho na entrada e saída. Todo material e insumos é autoclavado e sua entrada é feita por autoclave horizontal de dupla porta da área de higienização externa. Materiais que não resistem à autoclave somente entram no setor através de porto de passagem. As roupas e a paramentação é autoclavada sendo expurgadas por uma porta especial para lixo. O ar é controlado com filtros de ar de alta eficiência (HEPA, *high efficiency particulate air*).

O setor é acessado pelo vestiário localizado no exterior do edifício. Ele possui duas áreas distintas separadas por boxe de higienização corporal. Esta organização espacial permite a separação das áreas limpa e suja da colônia da unidade (CARDOSO 2001). A área de criação de ratos é composta de uma sala com capacidade para 330 gaiolas distribuídas em seis racks ventilados. A colônia piloto de ratos é em espelho e possui seis grupos segundo seu programa de acasalamento. Não há identificação individual dos animais, sendo o controle zootécnico feito por gaiola, através de fichas em porta etiquetas de plástico.

Os ratos são agrupados nos racks ventilados de acordo com sua finalidade em colônias piloto, produção, crescimento e reservado. Os reservados são aqueles solicitados para pesquisa que são mantidos no setor até seu envio. A colônia piloto abriga as matrizes, e possui a função da geração de novos indivíduos da colônia de produção e crescimento. Os animais de produção são acasalados ao acaso para produção de animais reservados. (POP N°43 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGORMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

A área de recebimento e preparo de material SPF é destinada à montagem das gaiolas e depósito de insumos esterilizados. Este local possui barreiras sanitárias e de contenção que visam impedir que agentes indesejáveis tenham acesso às áreas de criação animal e que agentes patogênicos venham se dispersar no ambiente de trabalho ou para o exterior do prédio (MAJEROWICZ 2008). Os materiais e seu fluxo de envio para área de higienização é realizado através de uma autoclave horizontal de dupla-porta. Além desta barreira, a área conta ainda com um porto de passagem e tanque de imersão.

Segundo SIROIS 2007, a baixa umidade predispõe os ratos à uma condição chamada cauda enrolada. A sala de rato é aclimatizada com ar-condicionado para temperatura de 18°C à 22°C e umidade de 40% à 60%. As gaiolas para ratos são do tipo microisolador com fundo sólido, fabricada de polisulfona autoclavável. Estas possuem dimensões de 90 cm x 60 cm x 30 cm alocados em estante rack ventilado com a capacidade máxima de 56 gaiolas. Estas possuem suporte armado para bebedouro sem bico de 550 mL e ração em V. A cama utilizada para forrar as gaiolas é de maravalha de madeira autoclavada.

No decorrer da semana as gaiolas são trocadas. As usadas são enviadas para área de higienização e esterilização SPF, e substituídas por material autoclavado e previamente forrada com maravalha de madeira estéril. O procedimento é realizado em cabine de segurança biológica com fluxo ligado, desinfetada com álcool 70% e após a aplicação de luz ultravioleta por 30 minutos. Os ratos são trocados com auxílio de pinça estéril com pontas de borracha imersa em álcool 70%. Após manipular todos os animais de uma mesma gaiola, deve-se novamente afundar a pinça na solução.

A desmama, sexagem e o acasalamento são executados durante a troca e seus resultados são registrados á caneta á caneta nas fichas zootécnicas dispostas no exterior das gaiolas. Semanalmente e/ou mensalmente, é realizado um relatório com base nos dados obtidos e submetido ao responsável pelo Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos.

#### **8.4 Acesso e saída pessoal á área SPF**

Para acessar a área de criação SPF, deve-se higienizar a cavidade oral na área suja do vestiário com escova, pasta e antisséptico bucal. Posteriormente, toda a roupa é retirada e o funcionário segue para o Box de higienização, onde o banho com xampu neutro e sabonete antisséptico é obrigatório. Após a lavagem e higienização corporal, a área limpa do vestiário pode ser acessada e o uniforme autoclavado deve ser colocado. Este consiste em vestimenta de macacão de mangas compridas, capuz e botas brancas. É necessário fazer a assepsia das mãos com álcool 70% antes de calçar as luvas cirúrgicas. O acesso á área de criação SPF é permitido após colocação de máscara e calçamento de luvas cirúrgicas (POP N°44 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

Na saída, deve-se retirar toda paramentação no corredor de recolhimento e descartar em lixo comum devidamente identificado. Na área limpa do vestiário, é necessário fazer a retirada de todo o uniforme, e realizar o procedimento do banho no Box de higienização corporal. Na área suja, a roupa é vestida e a saída pode ser realizada. (POP N°44 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

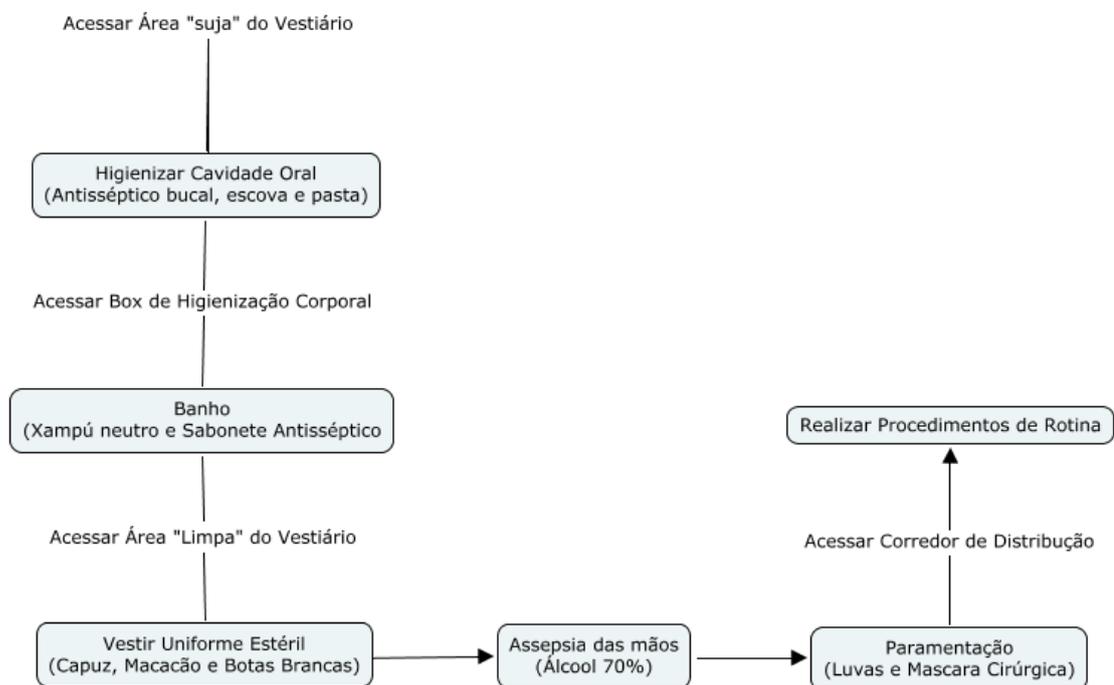


FIGURA 7 - Fluxograma de acesso pessoal à área de criação de ratos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°44 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ

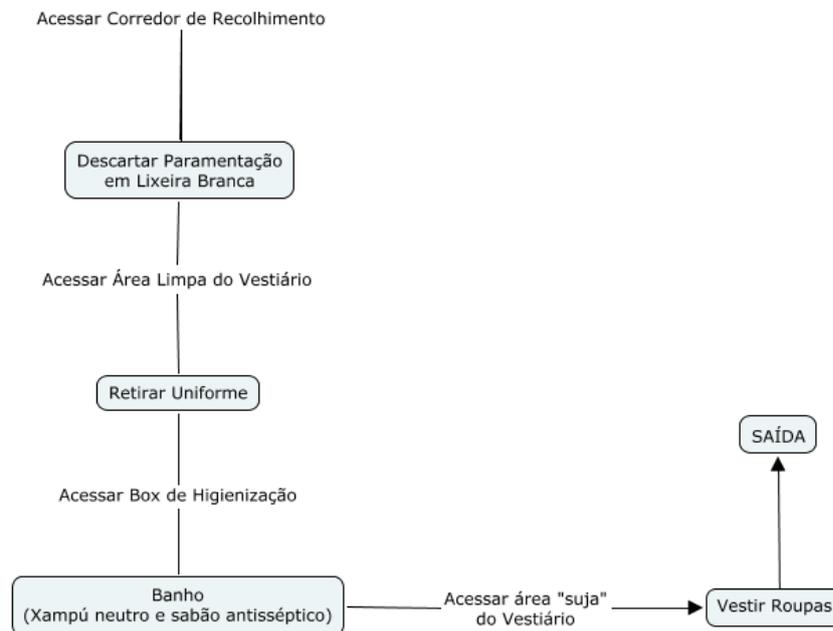


FIGURA 8 - Fluxograma de saída pessoal á área de criação de Ratos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°44 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ

## 8.5 Contenção de ratos

Ratos são animais dóceis que podem ser facilmente manipuláveis. Em casos de animais mansos, eles costumam aceitar bem o manuseio do técnico. Para transferência de gaiolas, deve-se agarrar o rato rapidamente pela base da cauda. É necessário tomar cuidado para não pegar pela outra extremidade e meio dessa região devido ao risco de lesões (DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; EBUSI ET AL 2009).

É aconselhável que ao realizar uma contenção para um procedimento mais rigoroso, dar apoio aos membros anteriores do animal. Esta posição pode ser facilmente alcançada apoiando o animal sobre o armado da gaiola. Nesse ponto, é possível agarrar uma grande parte de pele sobre a cabeça e as mandíbulas ou colocar a mão sobre o tórax diretamente atrás dos cotovelos e empurrar gentilmente as pernas para frente (DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; EBUSI ET AL 2009).

## **8.6 Acasalamento de ratos**

O ciclo estral da rata possui duração de quatro á cinco dias. Após o parto, a fêmea tem seus níveis de estrógenos aumentados e progesterona diminuídos, devido á estas características, a rata possui um estro pós-parto fértil. As fêmeas iniciam sua maturidade sexual, assim como os machos, com 40 á 60 dias de idade. O estro pode ser detectado através de secreções vaginais, em que o esfregaço contendo células epiteliais queratinizadas é um bom indicativo (KHON BARTHOLD 1984; DOS SANTOS 2002; KOOLHAAS 2006; SIROIS 2007; EBUSI ET AL 2009).

O período de gestação é de 21 a 23 dias com aproximadamente de seis á quatorze filhotes por ninhada. Os filhotes nascem com aproximadamente cinco gramas, olhos fechados e desprovidos de pelos. É comum a coprofagia no período neonatal (COUTO 2002; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007).

Os animais da área são mantidos em criação chamadas de outbred, ou heterogênicos, por serem linhagens geneticamente heterozigotas para muitos pares de alelos e criadas em sistema de cruzamento randômico (MAJEROWICZ 2008, JONAS 1976; FESTING 1993; SANTOS 2002). Estes possuem uma constituição genética de alta heterozigose (99%) e com grande diversidade genética (vários alelos) que possibilita a reprodução de populações naturais. (SANTOS 2002).

Segundo SANTOS 2002, o principal objetivo na manutenção de animais outbred é assegurar que a colônia permaneça constante em todas suas características genéticas em maior numero de gerações possíveis. Para que uma colônia permaneça constante em suas características, deve ser fechada, isto é, não deve receber reprodutores externos á essa colônia, sem seleção para novas características e que tenha menos de 1% do índice de homozigose por geração (POILEY 1970; MAJEROWICZ 2008).

Na área de criação de ratos, as matrizes da colônia piloto são mantidas em sistema permanente monogâmico. O sistema de acasalamento adotado é o método Poiley ou sistema rotacional. Seu principal objetivo consiste em evitar acasalamentos entre parentes próximos e garantir que as gerações futuras venham de um espectro mais amplo de pais do o sistema de acasalamento ao acaso (POILEY 1970; SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008; SIROIS 2009).

Para manutenção do sistema rotacional de acasalamento, a colônia piloto é subdividida em seis grupos, e os acasalamentos são arranjados entre eles de maneira sistemática. A escolha dos animais reprodutores é realizada entre objetivos da própria colônia baseadas nos índices zootécnicos registrados. O esquema segue indefinidamente de modo que os descendentes ao retornarem as gaiolas de origem, seus ancestrais já não mais se encontram nas mesmas (POILEY 1970; SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008; SIROIS 2009). O acasalamento da colônia piloto de ratos é programado para substituição de matrizes que atingem de um ano e geração de animais de produção. (POP N°46 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

<b>GRUPO DO MACHO</b>	<b>GRUPO DA FÊMEA</b>	<b>GRUPO A FORMAR</b>
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>6</b>	<b>1</b>
<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>5</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>

TABELA 4 - Tabela de acasalamento adaptado de POILEY 1970 adotado para colônia de ratos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°6 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ

Na colônia de produção, os animais são acasalados com dois meses de idade em sistema poligâmico permanente na proporção de um macho para cada duas fêmeas. O sistema adotado é ao acaso, ou seja, a escolha dos animais e seu acasalamento são ao acaso. Devido ao grande número de animais na colônia, o índice de acasalamento entre parentes é baixo. (MAJEROWICZ 2008). O objetivo do acasalamento de animais de produção é a geração de animais reservados.

### **8.7 Programa de substituição de matrizes e animais de produção**

Após o fim do período reprodutivo, o macho é eutanasiado de acordo com os procedimentos para descarte zootécnico, e as fêmeas permanecem nas gaiolas por quarenta dias para verificação de prenhez. Em caso positivo, os filhotes desmamados são encaminhados para colônia de reservados e as fêmeas, são encaminhadas para o descarte zootécnico. (POP N°47 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Uma nova gaiola com animais provenientes da colônia de crescimento é pré-selecionada de acordo com a idade reprodutiva segundo o sistema rotacional ou método Poiley. Esta é alocada na colônia piloto ou produção para substituição das antigas matrizes. (POP N°47 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Sempre ao realizar a substituição das matrizes uma nova ficha zootécnica é preenchida á caneta e registrada no sistema produtivo do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos. Novos dados de número de gaiola são gerados e completados com número de grupo formado, data de origem e grupo de origem dos pais (POP N°47 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

### **8.8 Desmame e sexagem de ratos**

Ao atingirem de vinte e um dias ou um peso superior á 35 gramas os animais seguem para o desmame. Durante o procedimento, os filhotes são separados de acordo com o grupo, idade e sexo dos animais. Os animais são alojados em gaiolas de até cinco animais (DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; EBUSI ET AL 2009).

No desmame das matrizes da colônia piloto, os filhotes podem ser destinados à colônia de crescimento ou reservados de acordo com o planejamento estabelecido no setor. A desmama dos animais de produção é exclusivamente destinado ao fornecimento de animais (POP N°48 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

Sempre ao realizar o desmame as fichas zootécnicas devem ser atualizadas á caneta e registrada no sistema produtivo do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos (POP N°48 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

## 9. Área de Criação de Camundongos

---

A área de criação de camundongos SPF é responsável pela manutenção de biotério de criação convencional controlado destinado à criação e reprodução de matrizes de camundongos (*Mus musculus*) de 56 linhagens diferentes.

### 9.1 Camundongos

O camundongo (*Mus musculus*) laboratório é pertencente à ordem *Rodentia* da família *Muridae*. Ele tem sua origem evolutiva no subcontinente da Índia, porém atualmente é cosmopolita podendo ser encontrado em todos os continentes. O camundongo é o animal de laboratório mais utilizado em pesquisas e ensaios biológicos devido ao seu fácil manuseio, curto ciclo de vida, alta fecundidade, fundo genético conhecido, curta gestação, pequeno tamanho e baixo custo (BOURSOT ET AL 1993; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA ET AL 2009).

Seu corpo é fusiforme e a cauda pode ultrapassar seu comprimento. Sua coloração natural é marrom escura no dorso, com ventre mais claro e cinzento. Assim como o rato, não possui glândulas sudoríparas. Possuem quatro dígitos nos membros anteriores e cinco nos posteriores. A medula óssea permanece ativa a vida toda e seus incisivos possuem raízes abertas com crescimento contínuo. É um animal extremamente dócil e tímido, podendo ser facilmente manipulado. (DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA 2009).

## 9.2 Modelos Animais

Os camundongos são objetos de estudo há vários séculos com extensos cruzamentos para características específicas, fornecendo um vasto arranjo de variedades genéticas bem caracterizadas anatômica e fisiologicamente. A teratologia, genética e gerontologia amplamente empregam este animal devido suas características reprodutivas. A disponibilidade de camundongos susceptíveis á vírus específicos e ao desenvolvimento de tumores, os torna objeto de estudo em oncologia e virologia. Os estudos de histocompatibilidade são possíveis em virtude dos cruzamentos consanguíneos bem caracterizados. Os camundongos também são usados em inúmeros estudos de diabetes, comportamento, doença renal, giardíase, obesidade e doenças autoimunes (DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA ET AL 2009).

## 9.3 Estrutura e Rotina da área de criação SPF de camundongos

Devido sua classificação sanitária em animais “livres de microrganismos patogênicos específicos” (*specific pathogen free* – SPF), os camundongos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz possuem microbiota isenta de microrganismos patogênicos ou potencialmente patogênicos que causam doenças clínicas e/ou subclínicas. Para tanto, os animais são criados com barreiras sanitárias rigorosas e em rack ventilado para garantir seu padrão sanitário. (NCR 1976; COUTO 2002; GÓRSKA 2000; SIROIS 2007; MAJEROWISC 2008; CAMIRISSI, MERUSSE 2009).

Os animais SPF do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz são mantidos em instalações com restrição no setor SPF. A instalação com restrição do setor SPF possui sala de animais com duas portas abrindo cada uma para o corredor “limpo” e corredor “sujo”. O tráfego é unidirecional, com gaiolas e suprimentos limpos apenas no corredor “limpo” e materiais sujos apenas no corredor “sujo”. As pessoas não saem pelo corredor sujo e devem tomar banho na entrada e saída. Todo material e insumos é autoclavado e sua entrada é feita por autoclave horizontal de dupla porta conectada à área de higienização e esterilização SPF. Materiais que não resistem à autoclave somente entram no setor através de porto de passagem. As roupas e a paramentação é autoclavada sendo expurgadas por uma porta especial para lixo. O ar é controlado com filtros de ar de alta eficiência (HEPA, *high efficiency particulate air*).

A área de criação SPF de camundongos é composta de quatro salas. Cada uma possui a capacidade para 960 gaiolas distribuídas em cinco racks ventilados. Não há identificação individual dos animais, sendo o controle zootécnico feito por gaiola, através de fichas em porta etiquetas de plástico. As salas são aclimatizadas com ar-condicionado para temperatura de 19°C à 22°C e umidade de 40% à 60%.

O setor é acessado pelo vestiário localizado no exterior do edifício. Ele possui duas áreas distintas separadas por boxe de higienização corporal. Esta organização espacial permite a separação das áreas limpa e suja da colônia da unidade (CARDOSO 2001).

A área de recebimento e preparo de material SPF é destinada à montagem das gaiolas e depósito de insumos esterilizados. Este local possui barreiras sanitárias e de contenção que visam impedir que agentes indesejáveis tenham acesso às áreas de criação animal e que agentes patogênicos venham se dispersar no ambiente de trabalho ou para o exterior do prédio (MAJEROWICZ 2008). Os materiais e seu fluxo de envio para área de higienização é realizado através de uma autoclave horizontal de dupla-porta. Além desta barreira, a área conta ainda com um porto de passagem e tanque de imersão.

As gaiolas para camundongos são do tipo microisolador com fundo sólido, fabricada de polisulfona autoclavável. Estas possuem dimensões de 30 cm x 19,5 cm x 12 cm alocados em estante rack ventilado com a capacidade máxima de 192 gaiolas. As gaiolas possuem suporte armado para bebedouro sem bico de 350 mL e ração em V. A cama utilizada para forrar as gaiolas é de maravalha de madeira autoclavada.

No decorrer da semana as gaiolas são trocadas. As antigas são enviadas para área de higienização e esterilização SPF, e substituídas por material autoclavado e previamente forrada com maravalha de madeira estéril. O procedimento é realizado em cabine de segurança biológica com fluxo ligado, desinfetada com álcool 70% e após da aplicação de luz ultravioleta por 30 minutos. Os camundongos são trocados com auxílio de pinça com pontas de borracha estéril imersa em álcool 70%. Após a troca de cada gaiola, deve-se novamente afundar a pinça na solução.

A desmama, sexagem e o acasalamento são executados durante a troca e seus resultados são registrados á caneta á caneta nas fichas zootécnicas dispostas no exterior das gaiolas. Os procedimentos de acasalamento e divisão das colônias dependem do *status* genético do animal. Semanalmente e/ou mensalmente, é realizado um relatório com base nos dados obtidos e submetido ao responsável pelo serviço de criação de roedores e lagomorfos.

#### **9.4 Acesso e saída pessoal á área SPF**

Para acessar a área de criação SPF, deve-se higienizar a cavidade oral na área suja do vestiário com escova, pasta e antisséptico bucal. Posteriormente, toda a roupa é retirada e o funcionário segue para o Box de higienização, onde o banho com xampu neutro e sabonete antisséptico é obrigatório. Após a lavagem e higienização corporal, a área limpa do vestiário pode ser acessada e o uniforme autoclavado deve ser colocado. Este consiste em vestimenta de macacão de mangas compridas, capuz e botas brancas. É necessário fazer a assepsia das mãos com álcool 70% antes de calçar as luvas cirúrgicas. O acesso á área de criação SPF é permitido após colocação de máscara e calçamento de luvas cirúrgicas (POP N°59 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

Na saída, deve-se retirar toda paramentação no corredor de recolhimento e descartar em lixo comum devidamente identificado. Na área limpa do vestiário, é necessário retirar todo o uniforme, e realizar o procedimento do banho no Box de higienização corporal. Na área suja, a roupa é vestida e a saída pode ser realizada. (POP N°59 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

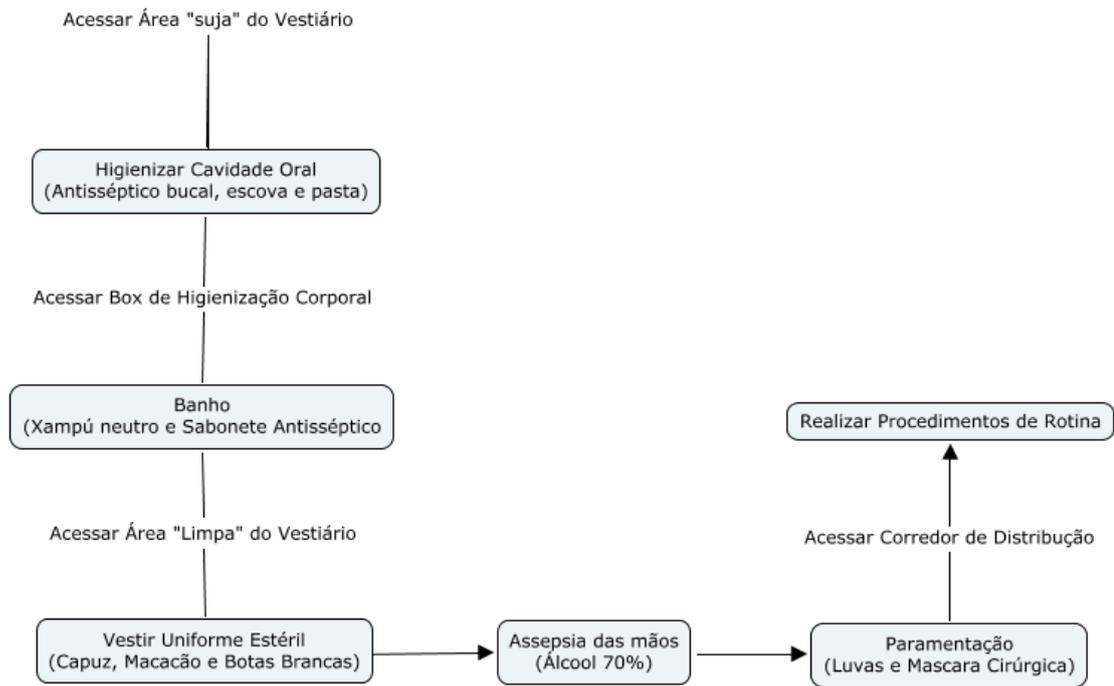


FIGURA 9 - Fluxograma de acesso pessoal á área de criação de camundongos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°59 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ

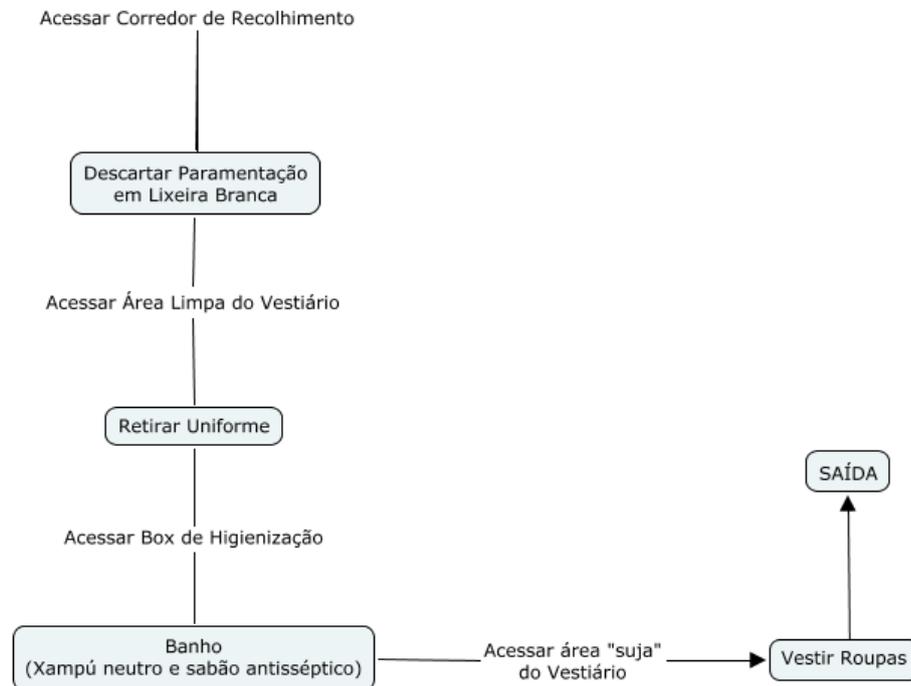


FIGURA 11 - Fluxograma de saída pessoal á área de criação de camundongos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°59 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ

## 9.5 Contenção de camundongos

Camundongos são animais que acostumam facilmente com a manipulação frequente e podem ser facilmente contidos. Para transferência de gaiolas é possível agarrar a base da cauda do camundongo com os dedos como uma pinça ou com auxílio de uma pinça com borracha nas extremidades. Animais mais dóceis e filhotes podem ser transferidos com a mão do manipulador em forma de concha (DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA 2009).

É aconselhável que ao realizar uma contenção para períodos mais prolongados, segurar o animal em um recipiente para contenção ou mantido seguro pela pele solta atrás do pescoço com a cauda ancorada (DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA 2009).

## 9.7 Reprodução de camundongos

As fêmeas de camundongos são poliéstricas contínuas com ciclo de 4 a 5 dias. O cio tem duração aproximada de 9 a 20 horas. A maturidade sexual ocorre em torno de 50 dias, tanto para machos quanto para fêmeas. A ovulação é espontânea e a copula pode ser confirmada através da visualização de um tampão vaginal na fêmea. Um cio pós-parto frequentemente ocorre de 14 a 12 horas, e os filhotes nascem aproximadamente no desmame da primeira ninhada (COOK 1983; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA 2009).

A gestação dura em média de 19 a 21 dias com ninhadas de 10 a 12 filhotes. Podem ocorrer variações no tamanho das ninhadas, especialmente em animais resultantes de acasalamentos consanguíneos, onde os filhotes são consideravelmente menores. Os filhotes nascem cegos e desprovidos de pelos com a coloração vermelha. Aos três dias de idade as orelhas externas se abrem (COOK 1983; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA 2009).

Fêmeas alojadas juntas em um grupo grande e sem a presença de macho permanecem em anestro. Quando expostas a um macho ou ao seu odor, as fêmeas começam o cio em três dias, esse fenômeno é denominado de efeito Whitten e permite a o cruzamento sincronizado de grandes grupos de fêmeas. Outro fenômeno importante na manutenção de camundongos é o efeito Bruce, onde se uma fêmea prenhe for exposta a um novo macho ou a seu odor dentro de quatro dias após a cobertura, geralmente abortará e irá retornar ao cio (COOK 1983; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA 2009).

## 9.8 Acasalamento das colônias Outbred de camundongos

Os animais outbred, ou heterogênicos são linhagens geneticamente heterozigotas para muitos pares de alelos e criadas em sistema de cruzamento randômico (JONAS 1976; FESTING 1993; DOS SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008). Estes possuem uma constituição genética de alta heterozigose (99%) e com grande diversidade genética (vários alelos) que possibilita a reprodução de populações naturais. (DOS SANTOS 2002).

Segundo DOS SANTOS 2002, o principal objetivo na manutenção de animais outbred é assegurar que a colônia permaneça constante em todas suas características genéticas em maior numero de gerações possível. Para que uma colônia permaneça constante em suas características, deve ser fechada, isto é, não deve receber reprodutores externos á essa colônia, sem seleção para novas características e que tenha menos de 1% do índice de homozigose por geração (POILEY 1970; MAJEROWICZ 2008).

Nas colônias piloto de camundongos outbred, as matrizes da colônia piloto são mantidas em sistema permanente monogâmico. O sistema de acasalamento adotado é o método Poiley ou sistema rotacional. Seu principal objetivo consiste em evitar acasalamentos entre parentes próximos e garantir que as gerações futuras venham de um espectro mais amplo de pais do o sistema de acasalamento ao acaso (POILEY 1970; SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008; SIROIS 2009).

Para manutenção do sistema rotacional de acasalamento, a colônia é subdividida em oito grupos, e os acasalamentos são arrançados entre eles de maneira sistemática. A escolha dos animais reprodutores é realizada entre objetivos da própria colônia baseadas nos índices zootécnicos registrados. O esquema segue indefinidamente de modo que os descendentes ao retornarem as gaiolas de origem, seus ancestrais já não mais se encontram nas mesmas (POILEY 1970; DOS SANTOS 2002; MAJEROWICZ 2008; SIROIS 2009). O acasalamento da colônia piloto de camundongos é programado para substituição de matrizes que atingem de um ano de idade e geração de animais de produção. (POP N°58 DO SERVIÇO DE

CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

GRUPO DO MACHO	GRUPO DA FÊMEA	GRUPO A FORMAR
1	8	2
2	3	5
3	4	6
4	5	7
5	6	8
6	7	1
7	1	3
8	2	4

TABELA 5 - Tabela de acasalamento adaptado de POILEY 1970 adotado para colônia de camundongos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°58 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ

Na colônia de produção, os animais são acasalados com dois meses de idade em sistema poligâmico permanente na proporção de um macho para cada duas fêmeas. O sistema adotado é ao acaso, ou seja, a escolha dos animais e seu acasalamento são ao acaso. Devido ao grande número de animais na colônia, o índice de acasalamento entre parentes é baixo. (FESTING 1979; MAJEROWICZ 2008). O objetivo do acasalamento de animais de produção é a geração de animais reservados.

### **9.9 Programa de substituição de matrizes e animais de produção outbred**

Após o fim do período reprodutivo, o macho é eutanasiado de acordo com os procedimentos para descarte zootécnico, e as fêmeas permanecem nas gaiolas por quarenta dias para verificação de prenhez. Caso positivo, os filhotes desmamados são encaminhados para colônia de reservados e as fêmeas, são encaminhadas para o descarte zootécnico. (POP N°59 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Uma nova gaiola com animais provenientes da colônia de crescimento é pré-selecionada de acordo com a idade reprodutiva segundo o sistema rotacional ou método Poiley. Esta é alocada na colônia piloto para substituição das antigas matrizes. (POP N°59 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Sempre ao realizar a substituição das matrizes uma nova ficha zootécnica é preenchida á caneta e registrada no sistema produtivo do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos (SCRL). Novos dados de número de gaiola são gerados e completados com número de grupo formado, data de origem e grupo de origem dos pais (POP N°59 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

### **9.10 Acasalamento das colônias Inbred de camundongos**

Segundo MAJEROWICZ 2008, as linhagens inbred, isogênicas, consangüíneas ou endocriadas são aquelas obtidas por 20 ou mais gerações de acasalamentos entre irmãos. Esse tipo de acasalamento é o mais utilizado, contudo o acasalamento é entre pais e filhos podem ser empregados em situações especiais que não se disponha de um casal de irmãos. Essas linhagens são obtidas de um único casal e tem índice de homozigose entre pares de genes alelos de pelo menos 98,6%, que é

o mínimo requerido para ser considerada uma linhagem consangüínea (AFIFI, ROSENKRANZ 1990; FESTING 1993; COBEA 1996; MAJEROWICZ 2008).

As colônias inbred do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz são estruturadas em colônia piloto, crescimento, produção e reservados. A colônia piloto é em espelho, e tem como objetivo a perpetuação e manutenção de toda linhagem. Ela consiste de um casal que é o núcleo da colônia, ancestral comum de todos os animais. A partir daí, três casais formam a colônia piloto para uma colônia de até 100 famílias. Os animais da colônia piloto são acasalados em sistema permanente monogâmico. A terceira ninhada do par núcleo da colônia fornece o casal que substitui os pais e perpetua a linhagem isogênica. Quando esse par atinge a idade reprodutiva, os pais estarão com a sexta ninhada e devem ser afastados da reprodução (COOK 1983; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA 2009).

Os outros filhotes da colônia piloto são transferidos para colônia de crescimento. Essa colônia tem como objetivo ampliar a colônia de piloto, uma vez que esta tem número reduzido de casais. Os filhotes gerados na colônia piloto também são utilizados na colônia de produção (COOK 1983; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA 2009).

Na colônia de produção, os animais são acasalados com dois meses de idade em sistema poligâmico permanente na proporção de um macho para cada duas fêmeas. O sistema adotado é ao acaso, ou seja, a escolha dos animais e seu acasalamento são ao acaso. Devido ao grande número de animais na colônia, o índice de acasalamento entre parentes é baixo. (MAJEROWICZ 2008). O objetivo deste acasalamento é a formação da colônia de reservados, que consiste nos animais solicitados para pesquisa que permanecem no setor até seu envio (POP N°60 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

### **9.11 Desmame e sexagem de camundongos**

A desmama é realizada com de vinte e um dias ou um peso superior á 10 gramas para animais outbred e 8 gramas para animais inbred. Durante o procedimento, os filhotes são separados de acordo com o grupo, idade e sexo dos animais (COOK 1983; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA 2009).

No desmame das matrizes, os filhotes podem ser destinados à colônia produção ou colônia de crescimento de acordo com o planejamento da colônia. A desmama dos animais de produção é exclusivamente destinado ao fornecimento de animais, sendo estes alojados em gaiolas de até dez animais do mesmo sexo e alocados na colônia de reservados. (POP N°61 DO SERVIÇO DE CRIAÇÃO DE ROEDORES E LAGOMORFOS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

A sexagem de camundongos pode ser realizada pelo saco escrotal do macho e a presença das mamas na região ventral da fêmea. Para animais jovens, um método seguro de sexagem consiste na distancia anogenital maior dos machos em relação à fêmea (COOK 1983; DOS SANTOS 2002; SIROIS 2007; KO, DE LUCA 2009).

## **10. Serviço de Biotecnologia e desenvolvimento animal**

---

O Serviço de Biotecnologia e Desenvolvimento Animal (SBDA) tem a por finalidade salvaguardar o patrimônio genético animal existente na Fiocruz, através da implantação e manutenção de um banco de embriões e gametas, bem como desenvolver novos modelos animais de interesse da comunidade científica nacional utilizando as diversas metodologias transgênicas. Sua equipe conta com três tecnologistas em saúde pública e uma técnica que executam diariamente as atividades planejadas pela unidade (MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWLADO CRUZ).

### **10.1 Estrutura e Rotina do Serviço de Biotecnologia e Desenvolvimento Animal**

A estrutura do Serviço de Biotecnologia e Desenvolvimento Animal do Centro de Criação de animais de laboratório – Cecal/Fiocruz conta com três salas que podem ser acessadas através de um corredor principal. Para o acesso ao setor, o uso de jaleco, pro pé, gorro e mascara é obrigatório. As salas consistem em uma sala de procedimentos, uma sala de técnicos e uma sala de animais. Esta última abriga os camundongos do Serviço de Roedores e Lagomorfos destinados á criopreservação de embriões de duas células.

A sala de animais possui a capacidade para 480 gaiolas distribuídas em cinco racks ventilados. Não há identificação individual dos animais, sendo o controle zootécnico feito por gaiola, através de fichas em porta etiquetas de plásticos. O ar é contralado com filtros de ar de alta eficiência (HEPA, *high efficiency particulate air*) e com gradiente de pressão positiva em relação ao corredor principal. Além destes fatores, o ambiente é aclimatizado através de sistema de ar-condicionado para temperatura de 19°C á 22°C e umidade de 40% á 60%.

As gaiolas para camundongos são do tipo microisolador com fundo sólido, fabricada de polisulfona autoclavável. Estas possuem dimensões de 30 cm x 19,5 cm x 12 cm alocados em estante rack ventilado com a capacidade máxima de 96 gaiolas. Estas possuem suporte armado para bebedouro sem bico de 350 mL e ração em V. A cama utilizada para forrar as gaiolas é de maravalha de madeira autoclavada. Os animais são alojados individualmente, exceto quando colocados para cópula no processo de superovulação.

A rotina do Serviço de Biotecnologia e Desenvolvimento Animal do Centro de Criação de animais de laboratório – Cecal/Fiocruz é planejado de forma que ao decorrer de uma semana seja realizada a superovulação, a coleta de embriões de duas células e sua vitrificação. O primeiro dia útil da semana é destinado ao início do processo de superovulação, onde é administrado o PMSG nos camundongos fêmeas selecionados para o processo. No terceiro dia útil da semana ocorre a segunda etapa, onde as mesmas recebem uma injeção de hCG e são colocados junto ao macho para a cópula. No dia seguinte as fêmeas acasaladas são inspecionadas para verificação do plug vaginal. As atividades se encerram no último dia útil da semana com a coleta de embriões de duas células e sua vitrificação.

A troca das gaiolas dos animais alojados no setor ocorre no primeiro dia útil da semana. As usadas são enviadas para área de higienização e esterilização SPF, e substituídas por material autoclavado e previamente forrada com maravalha de madeira estéril. O procedimento é realizado em cabine de segurança biológica. Deve-se aplicar a luz ultravioleta por 30 minutos, desinfetar com álcool 70% e ligar o fluxo antes de seu uso. Os camundongos são trocados com auxílio de pinça estéril imersa em álcool 70%. Após a troca completa da gaiola, deve-se novamente afundar a pinça na solução.

## 10.2 Superovulação

A superovulação consiste na obtenção de um número maior de óvulos ou de embriões através da administração de hormônios exógenos. Estes preparam a fêmea a um ciclo exógeno através do PMSG (hormônio gonadotrópico da égua prenhe) e do hCG (gonadotropina coriônica humana) para simulação dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) respectivamente. Sob o efeito dos hormônios exógenos, um número bastante elevado de óvulos é produzido e liberado para estarem disponíveis à fecundação (HOGAN ET AL 1994; PASSOS ET AL 2002; SALGADO, PASSOS 2009).

A superovulação é iniciada através da administração de 5 UI de PMSG via intraperitoneal em fêmeas de camundongos de 7 a 8 semanas. Após 48 as fêmeas doadoras recebem pela mesma via 5 UI de hCG. Em seguida, as fêmeas doadoras são acasaladas com o macho. O acasalamento utilizado é de irmão com irmão na proporção 1:1 visando manter a homozigose em 99,8%. Após 14 horas é verificado o plug vaginal nas fêmeas para confirmação da cópula. Fêmeas que não apresentarem o plug vaginal são encaminhadas para o descarte zootécnico (HOGAN ET AL 1994; GOTO ET AL 2002; POP N°1 DO SERVIÇO DE BIOTECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

### 10.3 Coleta de Embriões de duas células em camundongos

Esta técnica consiste na excisão cirúrgica do oviduto e dos embriões na fase de pré-implantação. A fêmea doadora é submetida ao procedimento exatamente 1,5 dias após o acasalamento. Esta é eutanasiada através do método de deslocamento cervical e descartada de acordo com os procedimentos do IN CTNBIO n° 12 de 27 de maio de 1998. O procedimento é realizado em cabine de segurança biológica. Deve-se aplicar a luz ultravioleta por 30 minutos, desinfetar com álcool 70% e ligar o fluxo antes de seu uso (HOGAN ET AL 2002; GOTO ET AL 2002; SALGADO, PASSOS 2009; POP N°2 DO SERVIÇO DE BIOTECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

Após a eutanásia, é realizada a assepsia com álcool 70% na cavidade abdominal e sua incisão com auxílio de pinça dente de rato. O útero então é localizado e o oviduto é removido e imediatamente colocado na placa de petri e levado para o estereoscópico (POP N°2 DO SERVIÇO DE BIOTECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ).

A técnica do *flushing* é a metodologia de escolha para coleta de embriões de duas células e a aplicada no setor. Ela consiste na introdução de uma agulha no infundíbulo do oviduto, seguido de um fluxo de meios M2 que lava o interior deste órgão, removendo os embriões de sua luz e realiza lavagens sucessivas (HOGAN ET AL 1994; SALGADO, PASSOS 2009).

#### **10.4 Vitriificação de embriões**

A vitriificação de embriões é a metodologia de escolha para criopreservação de embriões murinos do Serviço de Biotecnologia e Desenvolvimento animal. Esta consiste na desidratação do embrião através de seu contato com níveis elevados de crioprotetores e consequente imersão em nitrogênio líquido. O crioprotetor de escolha para camundongos e humanos é o propileno glicol. Este sistema permite a solidificação e ausência de cristalização (MARTINO ET AL 1996; PASSOS ET AL 2002).

## **11. Serviço de Controle da Qualidade Animal**

---

O Serviço de Controle da Qualidade Animal (SCQA) é encarregado pelo monitoramento da saúde dos animais de laboratório através de programas e rotina de análises clínicas. Seu objetivo é de monitoramento de possíveis contaminações genéticas, sanitária e ambiental nas colônias através do diagnóstico clínico (MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWLADO CRUZ).

### **11.1 Estrutura e Rotina do Serviço de Controle da Qualidade Animal**

O Serviço de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz é dividido em seis setores que incluem o monitoramento sanitário, monitoramento genético e controle de qualidade em análises clínicas. O monitoramento sanitário inclui os setores de monitoramento anatomopatológico, monitoramento bacteriológico, monitoramento parasitológico e imunologia. O controle de qualidade análises clínicas é responsabilidade do setor de bioquímicas e hematologia. O monitoramento genético é realizado pelo setor de genética onde são feitas as análises de contaminação genética, análise de transgenia e background genético. Cada setor possui uma sala única com equipamentos próprios para suas atividades. Sua equipe conta com dez tecnologistas em saúde pública e doze técnicos que executam diariamente as atividades propostas pela unidade.

O programa de acompanhamento do Serviço de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz monitoram sanitariamente e geneticamente os animais do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos. O planejamento e execução das atividades ocorrem trimestralmente analisando 10% dos animais presentes nas colônias segundo recomendações da FELASA (*Federação das Associações Europeias de Ciência Animal de Laboratório*), com o intuito de certificar as colônias criadas e mantidas na Fiocruz.

Durante a realização do estágio foi acompanhado o monitoramento sanitário e os controle de qualidade em análises clínicas que serão discutidas com mais detalhamento a seguir.

## **11.2 Setor de monitoramento anatomopatológico**

O monitoramento anatomopatológico do Serviço de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz é realizado para a investigação de alterações das estruturas anatômicas macroscópicas e microscópicas decorrente de processos patológicos nos animais de laboratório mantidos em biotérios de experimentação e criação. O setor realiza principalmente como rotina para o monitoramento anatomopatológico a necropsia de animais de laboratório e o processamento e análise de lâminas histopatológicas.

### **11.2.1 Necropsia de animais de Laboratório**

Segundo NICKLAS 1999, o procedimento de necropsia comumente é a primeira etapa nos programas de monitoramento de saúde em animais de laboratório. Este usualmente é utilizado para conclusões de diagnóstico fornecendo materiais para outras etapas do controle de qualidade animal, como isolamento viral, bacteriologia ou histopatológica.

A necropsia de animais de laboratório no é realizada dentro de cabine de segurança biológica com fluxo ligado, previamente desinfetado com álcool 70% e após aplicação de luz ultravioleta por 30 minutos. O processo se inicia através da observação do aspecto geral do animal, contemplando pelagem, pele, olhos, mucosas, estado da musculatura, estrutura óssea e registrando qualquer alteração encontrada. (DE LUCA ET AL 1996; CARDOSO 2002; POP N°2 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

O animal é colocado em decúbito dorsal sobre uma folha de papel toalha. No caso de camundongos, ratos, hamsters e cobaias pequenas, o animal é fixado em tabua de cortiça com ajuda de agulhas. No caso de coelhos e cobaias grandes a necropsia se faz sem fixação e sobre um saco plástico de resíduos biológicos. A região ventral é umedecida com álcool 70% e feito uma incisão na região cervical lateral à traqueia com auxílio de bisturi ou tesoura dependendo do tamanho do porte do animal. (POP N°2 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

A pele é divulsionada cuidadosamente utilizando bisturi ou tesoura conservando a estrutura subcutânea para classificação da mesma. A classificação tem três graus sendo que uma cruz representa gordura subcutânea escassa, duas cruzes representam gordura subcutânea moderada e três cruzes representam gordura subcutânea abundante. (CARDOSO 2002; POP N°2 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

As estruturas do pescoço (glândulas salivares, músculos do pescoço, esôfago e traqueia) são analisadas e feitos registros caso aparentem alterações. A traqueia é dissecada e cuidadosamente puxada para baixo para observação da tireoide e laringe. Um fragmento de traqueia é sempre coletado em tubo contendo caldo BHI. No caso de coelhos grandes, um swab estéril é esfregado cuidadosamente dentro do lúmen traqueal e colocado em tubo contendo caldo BHI. Os tubos contendo o caldo BHI são enviados para o setor de bacteriologia do SCQA para posterior análise. (POP N°2 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Posteriormente é feita uma incisão na linha média do animal para exposição dos órgãos abdominais e pélvicos. Os órgãos nas cavidades são examinados e registrados anotações em caso de alterações. (SANTOS, MELLO 1976; POP N°2 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Para camundongos, ratos, cobaias e hamsters são coletadas dois fragmentos do ceco e colocados em frasco contendo caldo SF e GN. Estas amostras são enviadas para o setor de bacteriologia para posterior análise. No caso de coelhos, coletados três fragmentos do ceco e colocados em frasco contendo caldo SF, GN e BHI. Estas amostras são enviadas para o setor de bacteriologia para posterior análise. A bile de coelhos deve ser coleta com uma seringa diretamente da vesícula biliar. Esta amostra é enviada para o setor de parasitologia para posterior análise. (POP N°2 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

O intestino delgado e grosso de roedores é coletado integralmente e acondicionada em placa de petri estéril e descartável. A amostra é enviada para o setor de parasitologia para posterior análise. No caso de coelhos, amostras de fezes do reto, ceco e intestino delgado são acondicionadas separadamente em três placas de petri estéril e descartáveis com auxílio de pinças anatômicas e tesouras estéreis. As amostras são enviadas para o setor de parasitologia para posterior análise. (POP N°2 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Com ajuda e pinças e tesouras estéreis é retirado o diafragma cuidadosamente e o arco costal é afastado e cortado para exposição de órgãos da cavidade torácica. As estruturas do tórax (pulmão, coração, linfonodos e pleura) são analisadas e feitos registros caso aparentem alterações. (SANTOS, MELLO 1976; POP N°2 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Em casos onde tecidos específicos são solicitados, a estruturas são retiradas com cuidado visando preservar a arquiteturas dos tecidos sendo coletados amostras de 20mm de largura por 20mm de comprimento. No caso de órgão encapsulado a cápsula deve ser retirada para permitir a fixação adequada do tecido. (POP N°2 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

As amostras de tecidos coletados são imediatamente imersa em formalina 10% ao volume de 20 vezes o volume da amostra, em frescos de vidro com boca larga e tampa. Uma etiqueta de identificação é colocada nos frascos das respectivas amostras que posteriormente são armazenadas em um banco de amostras biológicas. (POP N°2 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO - FIOCRUZ)

Ministério de Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz

**Cecal**  
CENTRO DE CRIAÇÃO DE  
ANIMAIS DE LABORATÓRIO

SCQA IDI: \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/\_\_  
Espécie: \_\_\_\_\_  
Linhagem: \_\_\_\_\_  
Tecidos coletados: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Figura 12 – Etiqueta de identificação de tecidos coletados durante necropsia do Setor de monitoramento anatomopatológico do Serviço de Controle da Qualidade de Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: Arquivo pessoal

### **11.3 Setor de monitoramento Parasitológico**

O monitoramento parasitológico do Serviço de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz objetiva a pesquisa de ovos e larvas de helmintos e cistos de protozoários. As fezes coletadas provem diretamente da mucosa do animal durante a realização da necropsia sendo manipuladas num período máximo de 4 horas. Os exames parasitológicos realizados no setor, no geral, incluem três etapas que consiste no exame macroscópico, exame microscópico e exame direto da mucosa intestinal. No setor também é realizado o exames ectoparasitológicos, e endoparasitológicos em produtos hortifrutigranjeiros destinados á alimentação dos primatas.

#### **11.3.1 Exame endoparasitológico em roedores**

O exame endoparasitológico em roedores realizado no setor objetiva a pesquisa de ovos e larvas de helmintos e cistos de protozoários, e consiste no exame direto da mucosa intestinal e exame macroscópico. A classificação dos endoparasitos é realizada segundo FLYNN ET AL 1973.

Antes do procedimento, a bancada onde são realizados os exames parasitológicos é desinfetada com álcool 70%. O intestino delgado e grosso chega ao setor coletados do procedimento necropsia em placa de petri estéril. Este é macerado e adicionado de 15 mL de solução salina 0,85% (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°3 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

O diagnóstico macroscópico é realizado colocando a placa de petri sobre fundo preto para facilitar a visualização de helmintos, permitindo sua análise qualitativa e carga parasitária. O diagnóstico microscópico é realizado através da coleta com pipeta de Pasteur descartável de 3 mL da solução salina adicionada as fezes maceradas. A amostra coletada é colocada em lamina e posteriormente analisada em microscópio óptico de campo claro com aumento de 10x e 40x (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°3 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA

## QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

O método de Graham é realizado em casos especiais de suspeitas clínicas. O animal é contido de acordo com o recomendado pela espécie, e com uma fita celofane é realizada uma impressão na região perineal. A fita com a face adesiva é colocada voltada para a lâmina devidamente identificada. A pesquisa parasitológica através deste método é concluída pela observação da lamina em microscópio óptico de campo claro com aumento de 10x e 40x (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°3 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

A conservação das fezes para posterior análise pode ser realizada se necessário por até 48 horas sob-refrigeração. Para períodos superiores á 48 horas as fezes devem estar conservadas em formol 10% ou conservação química MIF. (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°3 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

Os intestinos e resíduos do exame endoparasitológico de roedores são congelados em sacos brancos devidamente identificados e enviados para incineração imediatamente após as amostras serem analisadas. (FELASA 1996; POP N°10 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

### **11.3.2 Exame endoparasitológico em lagomorfos**

O exame endoparasitológico em lagomorfos objetiva a pesquisa de ovos e larvas de helmintos e cistos de protozoários. Este consiste no exame direto da bile e nas técnicas de Willis e Dennis, Stone & Swanson para exame das fezes. A classificação dos endoparasitos é realizada segundo FLYNN ET AL 1973.

Antes do procedimento, é feita a assepsia da bancada onde são realizados os exames parasitológicos com álcool 70%. A bile é coletada durante a necropsia com auxílio de uma seringa diretamente da vesícula biliar dos lagomorfos. Para o exame direto da bile, a amostra é adicionada de solução salina 0,85% e colocada em lâmina coberta com lamínula. Sua análise é então realizada em microscópio óptico de campo claro na objetiva de 10x e 40x (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°4 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

No exame endoparasitológico de fezes, a amostra chega ao setor coletados durante o procedimento de necropsia em placa de petri estéril. Para análise através do método de flutuação espontânea ou técnica de Willis, três gramas de fezes são pesadas e colocadas em frasco coletor para posterior maceração e diluição em solução saturada de sal. O volume do frasco coletor então é completado até a borda de forma que forme um menisco e deixado em repouso por 10 minutos. Após o período, a lâmina é encostada no menisco e retirada rapidamente e colocando-a sobre uma lamínula. A lâmina com a lamínula é analisada em microscópio óptico de campo claro em objetiva de 10x e 40x (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°4 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Imediatamente após a metodologia da flutuação espontânea é realizada o método de sedimentação espontânea ou Técnica de Dennis, Stone & Swanson. Após a identificação dos frascos coletores e cálices, um grama de fezes é dissolvida em 3 mL de solução detergente á 0,5% utilizando um bastão de vidro em frascos próprios para exame de fezes. A suspensão então é filtrada para cálice cônico com capacidade para 200 mL usando gase cirúrgica colocada sobre uma peneira. O volume do cálice então é completado com solução detergente á 0,5% e deixado em repouso por 30 minutos para decantação. Após o período, pode se descartar o líquido caso esteja turvo cuidadosamente sem levantar ou perder o sedimento colocando mais solução detergente até o volume anterior e deixa-lo em repouso por mais 30 minutos. Caso líquido não esteja turvo deve-se descartar o sobrenadante sem pausa para não misturar o sedimento que foi depositado no fundo do cálice. (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°4 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

No final do procedimento deve-se coletar uma gota de sedimento com auxílio de uma pipeta de Pasteur e coloca-la sobre uma lâmina, homogeneizar e cobrir com a lamínula. Deve-se analisar a lâmina em microscópio óptico de campo claro em objetiva de 10x a 40x (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°4 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

### **11.3.3 Exame ectoparasitológico em roedores e lagomorfos**

O exame ectoparasitológico em roedores realizado no setor objetiva a identificação de possíveis artrópodes na pelagem dos roedores. A classificação dos ectoparasitos é realizada segundo FLYNN ET AL 1973.

O procedimento se inicia com a desinfecção da bancada com álcool 70% e com a chegada da carcaça do animal proveniente da necropsia em placa de petri. O animal então é colocado em decúbito ventral sob lâmpada incandescente á 30 cm do dorso por 60 minutos para induzir a migração de ectoparasitos. Passado o período, a carcaça é inspecionada com auxílio de um estereoscópico (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°4 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Também é preparada uma lamina de raspado de pele utilizando lamina de bisturi. No caso de lagomorfos, deve-se realizar um raspado adicional de pele do interior das orelhas para busca de ectoparasitos. As laminas preparadas são analisadas em microscópio óptico de campo na objetiva de 10x e 40x (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°4 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

### **11.3.4 Exame endoparasitológico em produtos hortifrutigranjeiros**

O exame endoparasitológico em produtos hortifrutigranjeiros realizado no setor objetiva a identificação de possíveis contaminantes nas amostras de frutas, legumes e verduras que fazem parte da dieta dos primatas não-humanos alojados do Serviço de Criação de Primatas não-humanos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. O exame é feito em 10% de todos os produtos hortifrutigranjeiros destinados á dieta destes animais através da metodologia de flutuação espontânea ou técnica de Dennis, Stone & Swanson. A classificação dos endoparasitos é realizada segundo FLYNN ET AL 1973.

O procedimento é realizado em bancada previamente desinfetada com álcool 70%. As amostras chegam acondicionadas em sacos brancos provenientes do Serviço de Criação de Primatas não-humanos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. O exame é iniciado com a identificação dos cálices. As amostras então são acondicionadas em recipientes plásticos contendo 100 mL de solução detergente á 0,5%. Com auxílio de um pincel a solução detergente é esfregada nas amostras. (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°5 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

A mistura é transferida para cálice cônico com capacidade para 200 mL e deixado em repouso por 30 minutos para decantação. Deve-se então coletar uma gota de sedimento com auxílio de uma pipeta de Pasteur e coloca-la sobre uma lâmina com uma gota de lugol, homogeneizar e cobrir com a lamínula. A lâmina é analisada em microscópio óptico de campo claro em objetiva de 10x a 40x. Deve-se ressaltar que para amostras de milho não se deve utilizar o lugol (DE LUCA ET AL 1996, 1996; FLYNN ET AL 1973; POP N°5 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

#### **11.4 Setor de monitoramento bacteriológico**

O monitoramento bacteriológico do Serviço de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz é realizado para pesquisa de bactérias patogênicas bactérias segundo a classificação da FELASA (*Federation of European Laboratory Animal Science Associations*). O setor também é responsável pelo teste de esterilidade do sangue fornecido pelos animais do Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz.

#### **11.4.1 Pesquisa de bactérias patogênicas de roedores e lagomorfos**

O material para pesquisa de bactérias patogênicas de roedores consiste em dois fragmentos do ceco acondicionados em dois frascos estéreis contendo caldo SF e GN. No caso de coelhos, o material consiste em três fragmentos do ceco acondicionados em três frascos estéreis contendo caldo SF, GN e BHI. Para ambos os grupos de animais, um fragmento de traqueia acondicionado em frasco estéril contendo caldo BHI é analisado. As amostras são provenientes do procedimento de monitoramento anatomopatológico e examinados em bancada própria previamente desinfetada com álcool 70% (POP N°6 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Ao chegar ao setor, o frasco contendo o fragmento de traqueia em caldo BHI é colocado na estufa á 37°C por até 72 horas. Deve-se realizar 3 leituras observando se houve turvação após 24 horas, 48 horas e 72 horas respectivamente. Caso haja turvação o material é semeado em Agar sangue e colocado em estufa á 37°C por até 72 horas. Se houver crescimento bacteriano, as colônias são isoladas e caracterizadas segundo sua morfologia e é realizada a coloração de gram. As colônias então é diluída em 3 mL de solução salina para a identificação da espécie é realizada através do equipamento VITEK® 2 Compact (POP N°6 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Os frascos contendo fragmentos de ceco em caldo BHI e SF são processados igualmente as amostras de traqueia em caldo BHI. Já no caso da amostra de ceco em caldo GN a semeadura é realizada em Agar MacConkey, porém o restante do procedimento segue o mesmo protocolo citado á cima (POP N°6 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

#### **11.4.2 Teste de esterilidade do sangue**

O teste de esterilidade do sangue objetiva o controle de qualidade do sangue e hemoderivados fornecidos pelo serviço d Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz.

As amostras consistem em tubos estéreis de 5 mL de sangue devidamente identificados. O teste de esterilidade do sangue é realizado em cabine de segurança biológica com fluxo ligado, desinfetado com álcool 70% e após a aplicação de luz ultravioleta por 30 minutos. O frasco contendo o sangue é desinfetado com álcool 70% com auxílio de gaze estéril. Com auxílio de uma seringa estéril, 1 mL de sangue é coletado diretamente do frasco contendo o sangue e acondicionado em tubo estéril contendo caldo BHI previamente etiquetado e identificado. O tubo então é incubado na estufa á 37°C por até 72 horas. Devem-se realizar três leituras observando se houve turvação após 24 horas, 48 horas e 72 horas respectivamente (POP N°7 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

No caso de contaminação é realizado a semeadura da amostra em Agar sangue e incubado em estufa á 37°C por até 72 horas. Se houver crescimento bacteriano, as colônias são isoladas e caracterizadas segundo sua morfologia e é realizada a coloração de gram. A colônia então é diluída em três mL de solução salina para identificação da espécie através do equipamento VITEK® 2 Compact. (POP N°7 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

#### **11.4.3 Cropocultura de primatas não-humanos**

A cropocultura de primatas não-humanos tem como objetivo a identificação de enterobacterias, em especial *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, e *Yersinia sp.* presentes nas fezes de primatas não-humanos do Serviço de Criação de Primatas não-humanos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz.

O material destinado para a análise chega ao setor de bacteriologia acondicionado em frascos de fezes provenientes do Serviço de Criação de Primatas não-humanos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. A realização do exame é feita em bancada previamente desinfetada com álcool 70%.

O procedimento se inicia com a retirada de tubos contendo água peptonada e caldo GN do refrigerador para alcançar a temperatura ambiente de 22°C á 24°C. Dois swabs em contato com as fezes são então esgotados em tubo contendo caldo GN e água peptonada respectivamente. (POP N°8 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

O tubo contendo o swab com as fezes e água peptonada é incubada no refrigerador á uma temperatura de 2°C á 8°C, observando e registrando o aspecto do caldo pelo menos uma vez a cada sete dias durante três semanas. Se observado á mudança de coloração do meio para cor rosada, o material é semeado em Agar *Yersinia* e Agar MacConkey colocado em estufa á 37°C por até 72 horas. Se houver crescimento bacteriano, as colônias são isoladas e caracterizadas segundo sua morfologia e é realizada a coloração de gram. A colônia então é diluída em três mL de solução salina para identificação da espécie através do equipamento VITEK® 2 Compact (POP N°8 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

O tubo com fezes e caldo GN é incubado em estufa á 37°C por até 72 horas. Devem-se realizar três leituras observando se houve turvação após 24 horas, 48 horas e 72 horas respectivamente. Caso haja turvação o material é semeado em Agar XLD e colocado em estufa á 37°C por até 72 horas. Se houver crescimento bacteriano, as colônias são isoladas e caracterizadas segundo sua morfologia no Agar XLD e é realizada a coloração de gram. A colônia então é diluída em três mL de solução salina para identificação da espécie através do equipamento VITEK® 2 Compact (POP N°8 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Para ambos os tubos, após a confirmação de gram negativas, deve-se complementar o exame semeando as colônias suspeitas no caldo TSI incubado á temperatura ambiente por até 24 horas. A leitura é realizada após o período observando mudanças de coloração do caldo segundo a alteração característica do TSI para *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* ou *Yersinia sp.* (POP N°8 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

## **11.5 Setor de hematologia e bioquímica**

O Setor de Hematologia e Bioquímica do Serviço de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz é responsável pelo monitoramento hematológico e bioquímico dos animais mantidos nas colônias de criação para assegurar seus parâmetros fisiológicos e detecção precoce de processos patológicos gerais (MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ).

### **11.5.1 Exame bioquímico**

O exame bioquímico é realizado de forma automatizada pelo equipamento VITROS® 350 que faz uso da metodologia de química seca. No programa de monitoramento sanitário apenas o sangue é analisado. (POP N°9 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

A coleta do sangue é feita através de punção intracardíaca com seringa e agulha estéril no momento da eutanásia. Este é acondicionado em tubo de 10 mL com EDTA. A amostra é centrifugada á 2500 rotações por minuto durante 30 minutos, e 500µl do soro são coletados com uma pipeta automática estéril e diluídos em albumina sérica bovina á 7%. A amostra então é acondicionada em microtubo do tipo EPPENDORF® e colocada em estante própria do equipamento VITROS® 350 que faz a leitura dos resultados. (POP N°9 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

Os exames bioquímicos requisitados pelo Serviço de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz incluem ácido úrico, albumina, creatina, creatinoquinase, fosfatase ácida, fosfatase alcalina, alanina, aspartato, bilirrubina conjugada/não conjugada, bilirrubina direta, bilirrubina total, cálcio, ferro, capacidade de ligação do ferro, colesterol, colinesterase, lactato, lactato desidrogenase, lipase, magnésio, proteínas totais, ureia nitrogenada e triglicerídeos (POP N°9 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

### **11.5.2 Hemograma**

O hemograma é realizado de forma automatizada pelo equipamento POCH-100IV® Diff. Sua metodologia para eritrócitos, hematócrito e plaquetas consiste na detecção por corrente direta com foco hidrodinâmico. Os valores leucocitários e da hemoglobina são realizadas pelo método de detecção por corrente direta e método de hemoglobina livre de cianeto respectivamente. Também é realizado o exame diferencial de leucócitos pelo equipamento. (POP N°10 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

A coleta do sangue é feita através de punção intracardíaca com seringa e agulha estéril no momento da eutanásia. Este é acondicionado em tubo de 10 mL com EDTA. A amostra é enviada ao setor de hematologia imediatamente após a coleta e colocada em estante própria do equipamento POCH-100IV® Diff que faz a leitura dos resultados. (POP N°10 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

Os valores hematológicos requisitados pelo Serviço de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz incluem hemácias (milhões /mm<sup>3</sup>), hemoglobina (g%), hematócrito (%), volume corpuscular médio (μ<sup>3</sup>), hemoglobina corpuscular média (μg), concentração de hemoglobina corpuscular média (%), leucócitos (mil/mm<sup>3</sup>), eosinófilos (%) e linfócitos (%). (POP N°10 DO SERVIÇO DE CONTROLE DA QUALIDADE ANIMAL DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

## 11.6 Setor de Imunologia

O Setor de Imunologia do Serviço de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz tem como objetivo realizar o monitoramento virológico dos animais de laboratório mantidos na unidade para assegurar a qualidade animal e como reativo biológico ou derivado orgânico para produção e controle de imunobiológicos (MARQUES 2002; MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWLADO CRUZ).

O tamanho da amostra escolhido pelo setor segue às recomendações da ILAR 1976, definida pela fórmula para distribuição binomial  $N = \log \alpha / \log (1-P)$ , onde N é o número de animais a serem examinados,  $\alpha$  é o limite de confiança desejado, e P é o grau de infecção na colônia. O número de animais necessários para monitoração virológica de uma colônia com 100 ou mais animais é determinado pelo grau de confiabilidade na probabilidade de detecção de ao menos um animal positivo num determinado número de animais analisados em relação a determinados níveis de contaminação da amostra (ILAR 1976; DE LUCA ET AL 1996; MARQUES 2002; DE NIKLAS ET AL 2002; GILIOLI, DEMOLIN 2009).

Grau de Infecção (0%)	LIMITE DE CONFIANÇA	
	99% (a=0,01)	95%(a=0,05)
	n° de animais	n° de animais
<b>0,1 (10)</b>	44	29
<b>0,2 (20)</b>	21	14
<b>0,3 (30)</b>	13	9
<b>0,4 (40)</b>	9	6
<b>0,5 (50)</b>	7	5
<b>0,6 (60)</b>	5	4
<b>0,7 (70)</b>	4	3
<b>0,8 (80)</b>	3	2
<b>0,9 (90)</b>	2	2

Tabela 6 – Tamanho mínimo da amostra para detecção de infecção na colônia. Fonte: ILAR 1976; HSU ET AL 1980; SMALL 1984.

A escolha da amostra é feita de forma aleatória utilizando animais imunocompetentes de ambos os sexos. Metade da amostra deve ter idade variando de oito á doze semanas e o restante deve ter mais de vinte semanas para que possam ter permanecido na colônia tempo suficiente para desenvolvimento de anticorpos (ILAR 1976; DE LUCA ET AL 1996; MARQUES 2002; NIKLAS ET AL 2002; GILIOLI, DEMOLIN 2009).

A metodologia para diagnóstico das viroses murinas Setor de Imunologia do Serviço de Controle da Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz é baseada no método sorológico de reações de ensaios imoenzimáticos indireto (ELISA). Atualmente, somente é realizado o monitoramento virológico para murinos mantidos nas colônias de criação do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz.

Em ratos são realizados testes sorológicos para pesquisa de adenovírus, *clostridium pilliformis* (Tyzzer's), kilham, *mycoplasma pulmonis*, pneumovírus (PMV), coronavírus, parvovírus (MPV), reovírus tipo 3, sendai vírus e *helicobacter sp.*. Em camundongos, o diagnóstico virológico é realizado para pesquisa de adenovirus, carbacillus, *clostridium pilliformis*, ectromelia vírus, coriomeningite linfocítica, vírus diminuto, citomegalovírus, rotavírus (EDIM), hepatite, parvovirus, *mycoplasma pulmonis*, pneumovírus (vírus da pneumonia), poliomavírus, reovirus, sendai vírus e encefalomielite (Theiler).

## **12. Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais**

---

O Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz tem por finalidade coletar e fornecer sangue e hemoderivados de todas as espécies mantidas na Unidade, destinados à pesquisa, à produção, ao controle da qualidade, ao ensino e ao desenvolvimento tecnológico em saúde pública, para garantir a confiabilidade dos resultados nos diversos programas e projetos da Fiocruz (MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWLADO CRUZ).

### **12.1 Estrutura e rotina do Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais**

O Serviço de Hemocomponentes e derivados animais é fisicamente separado das outras instalações do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz possuindo edifício próprio para seus serviços finalísticos. Ele possuiu sala de lavagem e esterilização, vestiário, copa, sala de alíquotagem de sangue, sala de coleta de sangue, sala de técnicos e pavilhão para criação de animais de grande e médio porte. Sua equipe conta com um servidor, cinco técnicos e um estagiário.

A área de lavagem e esterilização é destinada á higienização e esterilização de materiais e insumos utilizados no manejo dos animais, bem como na coleta e alíquotagem de sangue. Todo o fluxo de envio de matérias é feita através de autoclave horizontal de dupla porta conectada á sala de coleta de sangue.

A sala de alíquotagem de sangue é destinada ao processamento do sangue coletado em sua sala específica. O sangue e seus derivados são usados em kits para diagnósticos, reativos e meios de cultura. Os produtos oferecidos aos usuários são sangue desfibrinado, citratado, em Alséver e soro.

O pavilhão para criação de animais de grande e médio porte possui oito piquetes de criação dotados de área coberta e área aberta com forragem. Seis piquetes são destinados ao alojamento de caprinos e ovinos separados em gestantes, machos e fêmeas. Existe ainda um piquete próprio destinado á experimentos de enriquecimento ambiental para caprinos e ovinos. Aproximadamente 50 caprinos e 30 ovinos são alojados nas instalações e apenas um equino do sexo feminino é mantido no pavilhão em piquete próprio.

A coleta do sangue solicitado e sua aliquotagem são comumente realizadas no primeiro dia útil da semana, e seu volume varia de acordo com a demanda. O manejo dos animais é ocorre diariamente com a lavagem da parte coberta dos piquetes e fornecimento de ração específica para cada espécie. Sensibilizações específicas dos animais para produção de derivados, como os utilizados em *kits* de diagnósticos, ocorrem variavelmente de acordo com a demanda solicitada.

## **12.2 Coleta de sangue em animais de médio e grande porte**

Em equinos, a coleta do sangue é realizada no próprio piquete do animal contido com cabresto. No caso de ovinos e caprinos a coleta de sangue é realizada na sala de coleta de sangue com animais contidos fisicamente. Após a contenção, é feito a assepsia na região cervical com álcool iodado 2% e realizado o garrote. A agulha montada com equipo é introduzida na jugular externa com um ângulo de 30°. Deve-se aguardar o sangue chegar á outra extremidade do equipo e inserir a outra agulha na rolha do frasco tipo soro de forma que o sangue desça pela sua parede (POP N°1 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Quando o volume desejado é atingido, o garrote é solto e o equipo próximo à agulha conectada ao frasco é retirada e ao mesmo tempo. Deve-se fechar a perfuração com graxa de silicone. A agulha da veia é então retirada, procedendo á compressão do local da punção com algodão embebido em álcool iodado a 2%. O sangue coletado é mantido em refrigeração entre 4° a 8°C, até sua aliquotagem (POP N°1 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

O intervalo para coleta de sangue dos equinos não deve ser menor que sete dias, considerando a quantidade máxima de 3.000 mL de sangue coletada por animal. Para caprinos e ovinos o volume máximo doado não deve ultrapassar de 500 mL por animal durante um intervalo de 21 dias (POP N°1 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONENTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

### **12.3 Coleta de sangue em roedores e lagomorfos**

Para roedores e lagomorfos a coleta do sangue é realizada por sangria total com animais devidamente anestesiados. O animal chega ao Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz em gaiola de transporte adequada proveniente do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos (POP N°2 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONENTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

O animal é colocado em decúbito dorsal com membros contidos com auxílio de cordas na canaleta de sangria. A anestesia é realizada com a associação de acepromazina 1% (0,2 mL/Kg/vivo) e Cloridrato de Ketamina 5% (0,5 mL/Kg/vivo) via intramuscular. Deve-se aguardar de 15 á 20 minutos e verificar a presença dos reflexos interdigital e oculomotor (POP N°2 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONENTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Após a anestesia, é realizada a assepsia na região torácica imediatamente acima da base cardíaca com álcool iodado 2%. A sangria total é feita com equipo por via cardíaca, na região do 5º espaço intercostal. Deve-se aguardar o sangue chegar á outra extremidade do equipo e inserir a outra agulha na rolha do frasco tipo soro de forma que o sangue desça pela sua parede (POP N°2 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONENTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Quando o volume desejado é atingido, o garrote é solto e o equipo próximo à agulha conectada ao frasco é retirada e ao mesmo tempo, deve-se fechar a perfuração com graxa de silicone. A agulha então é retirada do coração, procedendo à eutanásia do animal por deslocamento cervical. O sangue coletado é mantido em refrigeração entre 4° a 8°C, até sua aliquotagem (POP N°2 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

#### **12.4 Aliquotagem de sangue e derivados**

O sangue coletado é aliquotado de acordo com o volume solicitado pelo requisitante. Os pedidos são enviados em frascos tipo ampola de volume de 10 mL, 20 mL, 30 mL e 50 mL ou em frascos tipo soro de 300 mL e 500 mL. Os produtos oferecidos aos usuários são sangue desfibrinado, citratado, em Alséver e soro (POP N°3 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

A aliquotagem do sangue é realizada no interior de uma cabine de segurança biológica com fluxo ligado, desinfetado com álcool 70% e após aplicação de luz ultravioleta por 30 minutos. Os frascos provenientes da coleta e os que serão utilizados para aliquotagem são desinfetados em seu exterior com álcool 70% (POP N°3 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

A aliquotagem é iniciada abrindo o frasco com sangue envolvendo a rolha com gaze. O sangue é vertido em um Becker com coador inox disposto sobre ele para filtrar o sangue, retirando pérolas e fibrina. Em seguida, o sangue é distribuído nas alíquotas com auxílio de pipeta estéril e vedado com rolha estéril manipulada com uma pinça. Uma amostra de 5 mL do sangue coletado de cada animal é enviada ao setor de bacteriologia do Serviço de Controle de Qualidade Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz para o teste de esterilidade do sangue. Caso a amostra seja negativa para esterilidade do sangue, todo o sangue coletado é descartado de acordo com procedimento previamente estabelecido (POP N°3 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONTES E DERIVADOS



As fêmeas que ainda não atingiram a idade reprodutiva são retiradas do piquete de fêmeas e encaminhadas ao piquete de gestantes. O reprodutor macho selecionado é conduzido ao piquete de fêmeas onde permanecerá de acordo com o cronograma de manejo na data programada para o acasalamento. Após o período, o macho retorna ao seu piquete de origem para descanso por um período de sete dias. O macho retorna após o descanso para o piquete das fêmeas por um período de sete dias. A observação das coberturas devem registrados nas fichas dos animais (POP N°4 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Após os 21 dias do programa de reprodução, o macho retorna novamente ao piquete de machos e todas as fêmeas são colocadas no piquete de gestante. O exame para diagnóstico de prenhez é realizado segundo o calendário sanitário e programa de manejo de ovinos e caprinos, e as fêmeas não prenhes são encaminhadas novamente ao piquete de fêmeas. (POP N°4 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

## **12.6 Desmame de caprinos e ovinos**

O desmame é realizado quando os lactantes atingem a idade de seis meses ou dependendo do porte dos animais. Os filhotes são separados das fêmeas lactentes com auxílio de corda, que seguem recebem brinco identificador e microchip de acordo com a sua ficha de identificação. A fêmea permanece no piquete de gestantes até a involução completa da glândula mamaria (POP N°5 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

Os filhotes desmamados são submetidos á um exame clinico completo pelo veterinário responsável e conduzidos ao piquete de acordo com seu sexo. Durante o primeiro mês, é realizada a observação diária dos animais para verificação da adaptação, da alimentação ou se existe rejeição do grupo e brigas. Caso positivo, o animal é manejado de acordo com as soluções propostas pelo veterinário responsável (POP N°5 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONTES E DERIVADOS

ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

### **12.7 Programa alimentar de animais de médio e grande porte**

Os animais de médio e grande porte mantidos no pavilhão de criação do Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz possuem um programa de alimentação bem definido. Para caprinos e ovinos são ofertados pela manhã 11 Kg feno peletizado por piquete e 11 Kg de ração industrializada por piquete pela tarde. No caso do equino, são ofertados 5,6 Kg de feno peletizado pela manhã e 5,6 Kg de ração industrializada pela tarde (POP N°7 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONENTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

O alimento é medido em caixa polipropileno com tamanho de 39,5 cm x 33,5 cm x 16 cm, que corresponde aproximadamente em 11 kg de ração industrializada ou feno peletizado. Antes da oferta de alimento, o cocho é higienizado com água sob pressão de um compressor e detergente alcalino. A verificação da qualidade da ração e do feno, prazo de validade, bem como a presença de mofo é sempre verificada. Em caso positivo, todo o lote de ração deve ser descartado de acordo com os procedimentos para descarte de resíduos (POP N°7 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONENTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ).

O suplemento mineral é específico a cada espécie em blocos de 6 Kg permanece à disposição dos animais em suporte próprio fixado dentro de cada piquete. No caso de esgotamento do bloco este é imediatamente repostado por um novo (POP N°7 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONENTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ)

<b>Animal</b>	<b>Volume Ração</b>	<b>Feno Peletizado</b>	<b>Suplemento Mineral</b>
<b>OVINOS</b>	1 (uma) gaiola medida de polipropileno (11 kg)	1 (uma) gaiola medida de polipropileno (11 kg)	01 bloco de sal mineral 6kg para ovinos
<b>CAPRINOS</b>	1 (uma) gaiola medida de polipropileno/dia (11 kg)	1 (uma) gaiola medida de polipropileno (11 kg)	01 bloco de sal mineral 6kg para caprinos
<b>EQUINOS</b>	1/2 (uma) gaiola medida de polipropileno/dia (5,6 kg)	1/2 (uma) gaiola medida de polipropileno/dia (5,6 kg)	01 bloco de sal mineral 6kg para equinos

TABELA 6 – Programa alimentar de animais de médio e grande porte do Serviço de Hemocomponentes e Derivados Animais do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: POP N°7 DO SERVIÇO DE HEMOCOMPONENTES E DERIVADOS ANIMAIS DO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO – FIOCRUZ

## 12. REFERÊNCIAS

---

1. ADLER, S. Origin of the golden hamster *crictus auratus* as a laboratory animal. *Nature*, 162:256-257. 1948.
2. AFIF, MO, ROSENKRANZ, A. Guia para el uso de animales de laboratorio, parte I. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1990.
3. ALVARIÑO MR. Control de la Reproducción en el Conejo. Madrid: Ediciones Mundial Prensa, p. 137, 1993.
4. AMERICAN COLLEGE OF LABORATORY ANIMALS MEDICINE (ACLAM). Position statement on animal experimentation [*on line*]. Illinois, United States 2004. [capturado em 18 abr. 2014] Disponível em: [http://www.aclam.org/PDF/pub\\_animal\\_experimentation.pdf](http://www.aclam.org/PDF/pub_animal_experimentation.pdf).
5. ANDRADE, A. O bioterismo: evolução e importância. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2002.
6. BESCH, E.L. Environmental quality within animal facilities. *Lab Anim Sci*; 30(20):385-406, 1980.
7. BOURSOT, P, AUFRAY, JC, BRITTON-DAVIDIAN, J, BONHOMME, F. The evolution of the house mice. *Ann Rev Ecol Syst*, 24:119-152, 1993.
8. BRAGGIO, M.M.; MARTINS, A.R.S.; VALERO, V.B. Influência do manejo na produtividade e desenvolvimento de camundongos (*Mus musculus*). *Arq Inst Biol*; 70(2):169-173, 2003.
9. CANTRELL, CA, PADOVAN, D. Other hamsters: Biology, care and use in research. In *Laboratory hamsters*, eds G.L. Van Hoosier and W. Mc Pherson, p. 369-386, Academic press, Orlando, EUA, 1987.
10. CARDOSO, TAO. Classificação de Biotérios quanto à Finalidade. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.
11. Cardoso, TAO. Considerações sobre a biossegurança em arquitetura de biotérios. *Bol. Centr. Panam. Febre Aftosa*, 2001.
12. CARDOSO, TAO. Considerações sobre a biossegurança em arquitetura de biotérios. 2001. Disponível em <http://www.ops-oms.org/Spanish/AD/DPC/VP/boletin-aft-67-67a.pdf> Acesso em 29 mai 2014.

13. Carissimi, AS, Merusse JLB. Inter-relação do desenho arquitetônico. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório. Rio de Janeiro, Atheneu 1ªed.,2009.
14. CHEEKE P, PATTON N, LUKEFAHR S, MCNITT J. Rabbit Production. 8 ed. Pretentice Hall: Upper Saddle River, p. 477, 2000.
15. CHEEKE, P.R. Rabbit feeding and nutrition. Oregon: Academic Press, 1987. 380p.
16. CLOUGH, G. Environmental Effects on animals used in biomedical research. Biol Rev; 57:487-535, 1982.
17. COMMITTEE FOR THE PURPOSE OF CONTROL AND SUPERVISION ON EXPERIMENTS ON ANIMALS (CPCSEA). Guidelines for laboratory animal facility. Indian J. Pharmacol 2003;35:257-274.
18. COOK, MJ. Anatomy. In: The Mouse in Biomedical Reserch. In: Foster HL, Small, JD, Fox, JG (eds.) Vol III New York: Academic Press, p. 101, 1983.
19. COOPER G.; SCHILLER A.L.; Anatomy of the Guinea pig. Harvard University Press, Cambridge, 1975.
20. COUTO, S.E.R. Classificação dos animais de laboratório quanto ao status sanitário. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2002.
21. COUTO, S.E.R. Criação e manejo de cobaias. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2002.
22. COUTO, S.E.R. Instalações e barreiras sanitárias. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2002.
23. Couto, SER, Ferreira, RB. Cobaias. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório. Rio de Janeiro, Atheneu 1ªed.,2009.
24. DE BLAS, C. Alimentación del conejo. Madrid: Ed. Mundi-Prensa, 1989. 175p.
25. DE LUCA, R. R. et al. (Orgs.). *Manual para Técnicos em Bioterismo*. São Paulo: Winner Graph, 1996.

26. DE LUCA, RR, ALEXANDRE, SR, MARQUES, T, SOUZA, NL, MERUSSE, JLB, NEVES, SP. Colégio Brasileiro de Experimentação animal (COBEA). Manual para técnicos em bioterismo. São Paulo: 2 ed. Winner Graph, 1996.
27. DOS SANTOS, B.F. Classificação dos animais de laboratório quanto ao status genético. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.
28. DOS SANTOS, B.F. Classificação dos Animais de Laboratório quanto ao status genético. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006
29. DOS SANTOS, B.F. Criação e manejo de camundongos. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.
30. DOS SANTOS, B.F. Criação e manejo de Hamster. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006
31. DOS SANTOS, B.F. Criação e manejo de Ratos. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006
32. DOS SANTOS, B.F. Macro e microambiente. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.
33. DOS SANTOS, BF. Criação de Hamster. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.
34. DOS SANTOS, BF. Macro e Microambientes. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.
35. EBUSI, L, FONTES, RS, LAPCHIK, VBV. Rato. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório. Rio de Janeiro, Atheneu 1<sup>o</sup>ed.,2009
36. FEDERATION OF EUROPEAN LABORATORY ANIMAL SCIENCE ASSOCIATIONS (FELASA). *Recommendations for the Health Monitoring*

- Mouse, Rat, Hamster, Guinea pig and Rabbit Breeding Colonies*. London: Felasa, 1994/1996.
37. FESTING, M.F. Genetic variation in outbred rats and mice and its implications for toxicological screening. *J. Exp. Anim. Sci.*; 35(5-6):210-220, 1993.
  38. FESTING, MFW. *Inbred strains in biomedical research*. London: Macmillan, 1979.
  39. GATTERMANN, R, FRITZSCHE, P, NEUMANN, K, AL-HUSSEIN, I, KAYSER, A, ABIAD, M, YAKTI, R. Notes on the current distribution and ecology of wild golden hamster (*Mesocricetus auratus*) *Journal of Zoology* 254, 359-365, 2001.
  40. GIOLIOLI, R, DEMOLIN, DMR. Padrão Viroológico. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. *Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório*. Rio de Janeiro, Atheneu 1<sup>o</sup>ed.,2009.
  41. GÓRSKA, P. Principles in laboratory animal research for experimental purposes. *Med Sci Monit*, 6(1): 171-180 2000.
  42. HARKNESS JE, WAGNER JE. *Biologia e Clínica de coelhos e roedores*. 3. ed. São Paulo: Livraria Roca Ltda, 1993.
  43. HARKNESS, J.E.; WAGNER, J.E. *The biology and medicine of rabbits and rodents*. 2<sup>nd</sup> ed. Lea and Febiger. Philadelphia, 1983.
  44. HSU, C. K.; NEW, A. E. & MAYO, J. G. Quality assurance of rodents models. In: SPIEGEL, A.; ERICHSEN, S. & SLLEVELD, H. A. (Eds.). *Animal Quality and Models in Biomedical Research*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1980.
  45. INSTITUTE OF LABORATORY ANIMAL RESOURCES (ILAR). Long-term holding of laboratory rodents: a report of the Committee on long-term holding of laboratory rodents. *Ilar News*, 19:L1:L25, 1976.
  46. JONAS, A.M. The research animal and the significance of a health monitoring program. *Lab Anim Sci*; 26(2):339-343, 1976.
  47. JOSEPH E.W.; PATRICK J.M.; *The biology of the Guinea Pig*. New York: Academic Press, p. 317, 1976.
  48. KO, GM, DE LUCA, R. H. Camundongo. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. *Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório*. Rio de Janeiro, Atheneu 1<sup>o</sup>ed.,2009.

49. KOHN, DF, BARTHOLF, S. Biology and diseases of Rats. In: Fox JG, Cohen BJ, Loew FM. Laboratory Animal Medicine, Orlando: Academic Press, p. 91-120, 198
50. KOOLHAAS, JM. The Laboratory Rat. In: Poole T B (Ed.). The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals 7<sup>th</sup> edition. Oxford, Blackwell Science, 1:313-330, 2006.
51. LANG, C.M.; VESSEL, E.S. Introduction. In: Environmental and genetics factors affecting laboratory animals: Impact on biomedical research. 59<sup>th</sup> annual meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology. New Jersey; 1975.
52. MAGALHÃES, LE. Evolução da Ciência de Animais de Laboratório. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório. Rio de Janeiro, Atheneu 1<sup>o</sup>ed.,2009.
53. Majerowicz J. Boas práticas em biotérios e biossegurança. Rio de Janeiro: Interciência; 2008.
54. MANUAL DA QUALIDADE – CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO DA FUNDAÇÃO OSWLADO CRUZ [on line] Rio de Janeiro, Brasil 2008. [capturado em 10 de abr. 2014] Disponível em: <http://www.cecal.fiocruz.br/content/manual-da-qualidade-do-cecal>.
55. MARQUES, MAP. Controle Sorológico de Vírus Murinas. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.
56. MARTINO, A., SONGSASEN, N., LEIBO, S.P. Development into blastocysts of bovine oocytes cryopreserved by ultra-rapid cooling. Biol. Reprod., v.54, p.1059-1069, 1996
57. MENENDES, R.C.; Animales de laboratorio en las investigaciones Biomedicas. La Habana, p. 203, 1985.
58. MERUSSE, J. L. B. & LAPICHNIK, V. B. V. Instalações e equipamentos. In: DE LUCA, R. R. et al. (Orgs.). Manual para Técnicos em Bioterismo. 2.ed. São Paulo: Winner Graph, 1996.
59. MORI, CMC, CHELINI, MOM, COUTO, SER. Hamster. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório. Rio de Janeiro, Atheneu 1<sup>o</sup>ed.,2009.

60. MOURA, ASAMT, MATTARAIA, VGM. Coelhos. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório. Rio de Janeiro, Atheneu 1<sup>o</sup>ed.,2009.
61. National Institutes of Health (NIH). Environment, housing and animal management. in: Institutional Animal Care and use Committee guidebook. Bethesda NHI Publication n° 92-3415 2<sup>o</sup> ed, 2002.
62. National Research Council (NRC). Long-Term Housing of laboratory rodents. Washington, ILAR News; 1976; XIX v. 4.
63. National Research Council (NRC). Manual sobre Cuidados e usos de animais de laboratório. Goiânia: National Academy Press; 2003.
64. NICKLAS, W. Microbiological standardization of laboratory animals. Berl Munck Tierarztl Wochenschr; Jun-Jul; 112(6-7)201-10 (resumo), 1999.
65. NIKLAS, PW, BENEUX, R, BOOT, T, DECELLE AA, DEENY, MF, ILLGEN-WILCKE, F. Recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, gerbil, guineapig and rabbit experimental unit. Report of the Federation European Laboratory Animal Science Association (FELASA). Working Group on Animal Health. Laboratory Animals, 36:20-42, 2002.
66. POILEY, S.M. Animal husbandry and laboratory. Animals Lab Anim Care; 20(6):1159-60, 1970.
67. POPs do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz.
68. POUGH, F. H. A vida dos vertebrados. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.
69. PRITCHETT, KR, CORNING BF. Biology and Medicine of Rats. In: Reuter DJ, Sckow MA (eds.) Laboratory Animal Medicine and Management. International Veterinary Information Service, Ithaca. New York, 2004. Disponível em: [www.ivis.org](http://www.ivis.org).
70. PROTO, V. Fisiologia della nutrizione del coniglio con particolare riguardo alla ciecotrofia. Rivisti di Coniglicoltura, v.13, n.7, p.15-33, 1976
71. SAIZ M.L.; GARCIA O.J.L.; COMPAIRE F.C.; Animales de laboratorio; producción, manejo y control sanitario. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentacion. Madrid, p. 536, 1983.
72. SAIZ MORENO, L.; GARCIA DE OSMA, J. L. & COMPAIRE FERNANDEZ, C. *Animales de Laboratorio: producción, manejo y control sanitario*. Madrid:

- Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias/Ministerio da Agricultura, Pesca y Alimentacion, 1983.
73. SALES, GD, WILSON KJ, SPENCER, KEV, MILLIGAN, SR. Environmental ultrasound in laboratories and animal houses: a possible cause for concern in welfare and use of laboratory animals. *Lab Anim*; 22:369-375, 1998.
74. SIEGEL, HI. *The hamster: Reproduction and behavior*. New York, Plenum Press, 1985.
75. SILVERSTEIN A, SILVERSTEIN V, *Mice all about them*, São Paulo: Harper and Row, 1980.
76. Sirois, M. *Medicina de animais de laboratório: princípios e procedimentos*. São Paulo: Roca, 2007.
77. SMALL, J. D. Rodent and lagomorph health surveillance-quality assurance. In: FOX, J. G.; COHEN, B. J. & LOEW, F. M. (Eds.) *Laboratory Animal Medicine*. New York: Academic Press, 1984.
78. TEIXEIRA, P.; VALLES, S. Riscos biológicos em laboratórios. In: *Biossegurança uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1996.
79. VERGA M, DELL'ORTO V, CARENZI C, A general review and survey of maternal behaviour in the rabbit. *Appl Anim Ethol*, 4:235-52, 1978.
80. VERNAY, M. Origin and utilization of volatile fatty acids and lactate in the rabbit: influence of the faecal excretion pattern. *British Journal of Nutrition*, v.57, p.371-381, 1987.
81. WHITTAKER, D. Hamsters. In: Poole T B (Ed.). *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals* 7<sup>th</sup> edition. Oxford, Blackwell Science, 356-366, 2006.

13. Anexos

FIOCRUZ - Centro de Criação de Animais de Laboratório / CECAL														
GAIOLA			PAIS	GRUPO DE ORIGEM	CAIXA DE ORIGEM			NINHADA			PESO MÉDIO (DESMAME)	DATA DE NASCIMENTO		
GRUPO Nº					♂				TOTAL	♂		♀		
DATA ACASALAMENTO			♀											
DATA NASCIM.	Nº	†	DATA DESMAME	M	F	P.M.	Nº	DATA NASCIM.	Nº	†	DATA DESMAME	M	F	P.M.
							1							
							2							
							3							
							4							
							5							
							6							
							7							

Anexo 1 – Ficha de controle zootécnico para camundongos, ratos e cobaias outbred do Serviço de Roedores e Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório. Fonte: Arquivo pessoal

GAIOLA: GRUPO: ACASALAMENTO:			DATA DO NASCIMENTO: PAI: MÃE:				PESO DO ♂		
							P.M. DAS ♀		
P A R T O S									
♀ Nº	DATA	Q	M	D	DATA	Q	M	D	

Anexo 2 – Ficha de controle zootécnico para lagomorfos outbred do Serviço de Roedores e Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório. Fonte: Arquivo pessoal



FIOCRUZ - CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO / CECAL

CAIXA Nº			PRO-GENE	GERAÇÃO	CAIXA DE ORIGEM	TIPO ACASAL	NINHADA			PESO MÉDIO (DESMAME)	DATA DE NASCIMENTO
CEPA							PAIS	TOTAL	♂		
DATA ACASALAMENTO			CASAL								
DATA DE NASCIMENTO	Nº	†		DATA DESMAME	♂	♀	P.M.	REPRODUÇÃO			FORNECIMENTO

Anexo 4 – Ficha de controle zootécnico para camundongos inbred do Serviço de Roedores e Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório. Fonte: Arquivo pessoal

FIOCRUZ - CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO

DATA DO PARTO      /      /

GAIOLA Nº \_\_\_\_\_

CEPA \_\_\_\_\_

DATA AO DESMAME \_\_\_\_\_

PESO AO DESMAME \_\_\_\_\_

PRODUÇÃO

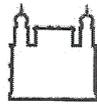
\_\_\_\_\_ } ♂ \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ } ♀ \_\_\_\_\_

EM CRESCIMENTO

♂	♀
---	---

Anexo 5 – Ficha de controle zootécnico para animais da colônia de reservados do Serviço de Roedores e Lagomorfos do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: Arquivo pessoal



Ministério da Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz

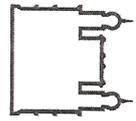


**Cecal**  
CENTRO DE CRIAÇÃO DE  
ANIMAIS DE LABORATÓRIO

### Requisição de Exames Laboratoriais ao SCQA

<b>Data:</b> _____	<b>Horário do recebimento:</b> _____	<b>*IDI:</b> _____
<b>Responsável recebimento:</b> _____		<b>Observações:</b> _____
<i>(Favor não preencher este campo, uso exclusivo do SCQA) *IDI: identificação interna</i>		
<b>A) Dados do Requisitante:</b> Nome: _____ <i>(Nome completo)</i>		
Serviço: ( ) SCRL ( ) SHBA ( ) SBDA ( ) _____		
<b>B) Dados de Identificação dos animais ou amostras:</b>		
( ) Camundongos ( ) Ratos ( ) Cobaias ( ) Coelhos ( ) Hamster ( ) swabs		
( ) sangue total ( ) soro ( ) fezes ( ) caudas ( ) outros _____		
Linhagem: _____	Data de nascimento: _____	Sala/local de origem: _____
Caixa/gaiola: _____	Quantidade de Fêmeas: _____	Quantidade de machos: _____
<b>C) Exames solicitados:</b> ( ) Monitoramento Sanitário (Rotina) ( ) Monitoramento Genético ( ) Hematologia ( ) Bioquímica ( ) Anatomopatologia-necropsia ( ) Bacteriologia ( ) Parasitologia ( ) Sorologia ( ) Hemocultura		
Observações: _____		
<small><i>(comentários sobre as condições do animal, quando necessário descrever objetivamente os achados clínicos mais significativos, lesões cutâneas ou de mucosas, local e características do sítio de infecção e etc.)</i></small>		
<small><i>O SCQA não se responsabiliza pelas requisições preenchidas de forma equivocada, quando possível, em caso de dúvida entraremos em contato para esclarecimentos.</i></small>		

Anexo 6 – Ficha de requisição de exames do Serviço de Controle da Qualidade de Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: Arquivo pessoal



Ministério da Saúde

**FlOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz



**Cecal**  
CENTRO DE CRIAÇÃO DE  
ANIMAIS DE LABORATÓRIO

### MAPA DE TRABALHO – SOROLOGIA RATOS

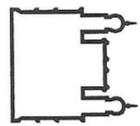
Data: \_\_\_\_\_

Técnico responsável: \_\_\_\_\_

Testes Realizados: 18 – Adenovirus; 19 – *Clostridium piliformis* (Tyzzer's), 20 Kilham, 21-*Mycoplasma pulmonis*; 22- Pneumovirus (PVM), 23- Coronavírus, 24- Parovirus (MPV), 25 Reovirus tipo 3, 26 -Sendai virus, 27 – Helicobacter

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	Branco											
<b>B</b>	CN											
<b>C</b>	CN											
<b>D</b>	CP											
<b>E</b>	CP											
<b>F</b>	1											
<b>G</b>	2											
<b>H</b>	3											

Av. Brasil, 4365 – Mangueiras – Rio de Janeiro, RJ Brasil Cep: 21045-900  
Tel: (0xx21) 2560-6364 / 2598-4389 / 4390 / 4391 Ramal: 233/235 Fax: 2590-2434



Ministério da Saúde

**FlOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Cecal**  
**CENTRO DE CRIAÇÃO DE**  
**ANIMAIS DE LABORATÓRIO**
**MAPA DE TRABALHO – SOROLOGIA Camundongos**

Data: \_\_\_\_\_ Técnico responsável: \_\_\_\_\_

Testes Realizados: 01 – Adenovirus, 02 – Carbacillus, 03 – Clostridium Piliformis, 04 – Ectromelia vírus, 05 – Cortomeningite Linfocítica, 06 – Virus Diminuto, 07 – Citomegalovirus, 08 – Rotavirus(EDIM), 09 – Hepatite, 10 – Parvovirus, 11 – Mycoplasma Pulmonis, 12 – Pneumovirus (virus da Pneumonia), 13 – Poliomavirus, 14 – REO – Virus, 15 – Sendai, 16 – Encefalomeíte(Theller)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	<b>Branco</b>	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84
<b>B</b>	<b>CN</b>	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85
<b>C</b>	<b>CN</b>	6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86
<b>D</b>	<b>CP</b>	7	15	23	31	39	47	55	63	71	79	87
<b>E</b>	<b>CP</b>	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88
<b>F</b>	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89
<b>G</b>	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82	90
<b>H</b>	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91

 Av. Brasil, 4365 – Mangueiras – Rio de Janeiro, RJ Brasil Cep: 21045-900  
 Tel: (0XX21) 2560-6364/ 2598-4389 / 4390/ 4391 Ramal: 233/235 Fax: 2590-2434

CAMUNDONGOS ( <i>Mus musculus</i> )					
Peso	Anestesia		Eutanásia		Via
	Dose: Quetamina=130 mg/kg + Xilazina=13 mg/kg		Lidocaína 2% (5 mg/kg)	Tiopental= 150 mg/kg Solução a 2,5% (1 g em 40 mL)	IP
	Proporção da Mistura: 2:1 • Quetamina 10%: 0,2 mL • Xilazina 2%: 0,1 mL				
≤20 g	0,04 mL da mistura		0,25 mL	0,12 mL	
30 g	0,06 mL da mistura		0,50 mL	0,18 mL	
40 g	0,08 mL da mistura		0,75 mL	0,24 mL	
50 g	0,10 mL da mistura		1,0 mL	0,30 mL	
60 g*	0,12 mL da mistura		1,25 mL	0,36 mL	
*animais obesos, com tumor sem caquexia ou fêmeas prenhas					
RATOS ( <i>Rattus norvegicus</i> )					
Peso	Anestesia		Eutanásia		Via
	Dose: Quetamina=100 mg/kg+Xilazina=4,8 mg/kg		Lidocaína 2% (5 mg/kg)	Tiopental= 150 mg/kg Solução a 2,5% (1 g em 40 mL)	IP
	Proporção da mistura: 5:1 • Quetamina 10%: 0,5 mL • Xilazina 2%: 0,1 mL				
≤50g	0,12 mL da mistura		0,0125 mL	0,30 mL	
150 g	0,36 mL da mistura		0,045 mL	0,90 mL	
250 g	0,60 mL da mistura		0,0625 mL	1,50 mL	
400 g	0,96 mL da mistura		0,1 mL	2,40 mL	
600 g*	1,44 mL da mistura		0,15 mL	3,60 mL	
*animais obesos, com tumor sem caquexia ou fêmeas prenhas					
COBAIA ( <i>Cavia porcellus</i> )					
Peso	Anestesia		Eutanásia		Via
	Dose: Quetamina=150 mg/kg+Xilazina=30 mg/kg		Lidocaína 2% (5 mg/kg)	Tiopental= 150 mg/kg Solução a 10% (1 g em 10 mL)	IP ou IC
	Proporção da mistura: 1:1 • Quetamina 10%: 1 mL • Xilazina 2%: 1 mL				
200 g	0,6 mL da mistura		0,05 mL	0,30 mL	
500 g	1,5 mL da mistura		0,125 mL	0,75 mL	
600 g	1,8 mL da mistura		0,15 mL	0,90 mL	
800 g*	2,4 mL de mistura		0,2 mL	1,20 mL	
*animais obesos, com tumor sem caquexia ou fêmeas prenhas					
COELHO ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )					
Peso	Anestesia		Eutanásia		Via
	Dose: Quetamina=40 mg/kg+Xilazina=5 mg/kg		Lidocaína 2% (5 mg/kg)	Tiopental= 150 mg/kg Solução a 10% (1 g em 10 mL)	IC
	Proporção da mistura: 3:2 • Quetamina 10%: 0,6 mL • Xilazina 2%: 0,4 mL				
1000 g	0,7 mL da mistura		0,25 mL	1,5 mL	
1500 g	1,0 mL da mistura		0,375 mL	2,25 mL	
3000g	2,0 mL da mistura		0,75 mL	4,50 mL	
3500 g	2,5 mL da mistura		0,875 mL	5,25 mL	
5000 g	3,5 mL da mistura		1,25 mL	7,50 mL	

Anexo 9 – Tabela para anestesia e eutanásia dos animais do Centro de Criação de Animais de Laboratório – Cecal/Fiocruz. Fonte: Arquivo pessoal