

# BIOTERISMO – CIÊNCIA E BIOTECNOLOGIA

## BIOTERISM - SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

Moísa Lúcia Pedrosa Corrêa da Silva\*, Nathália Barbosa do Espírito-Santo\*\*

### RESUMO

O uso de modelo animal é de suma importância para o desenvolvimento da pesquisa, no campo das ciências biológicas e da saúde. Com isso, a criação e o manejo desses animais são fatores importantes que tem influência direta nos resultados das pesquisas biomédicas. Para isso, surgiram os biotérios, que são locais adequados à criação e manutenção de animais que serão utilizados em pesquisas experimentais. Dentro desta perspectiva pode-se destacar a utilização de animais de laboratório geneticamente modificados, que são aqueles cujo genoma foi submetido a introdução, inativação ou alteração de seqüências de DNA. Estes animais são utilizados em pesquisas de novos fármacos e como modelos biológicos de patologias humanas. O biotério para criação e manutenção de animais transgênicos deve ter uma infra-estrutura maior tendo em vista que eles são mais frágeis devido à manipulação genética. Climatização, pressão e iluminação, cuidados rígidos com a higiene incluindo o uso de equipamentos de proteção individual e coletiva são de suma importância para manter os animais livres de patógenos. Muitos questionamentos ainda surgem e muita discussão é promovida em relação à transgênese, contudo, a criação e o estudo desta tecnologia são de fundamental importância na busca pela melhoria da qualidade de vida dos animais e dos seres humanos.

### PALAVRAS - CHAVE

Animais de Laboratório. Bioterismo. Transgenia. Modelo Animal.

### ABSTRACT

The use of animal model is of great importance to the development of research in the field of biology. And so the creation and management of these animals is an important factor that has a direct influence on the results of biomedical research, for that emerged the animal rooms, which are suitable sites for the creation of animals to be used in experimental research. Within this perspective, you can highlight the use of genetically modified laboratory animals, which are those whose genome was submitted to an introduction, inactivation or alteration in sequential of DNA. Those animals are used into new pharmaceuticals researches and as biological models of human pathologies. The animal rooms for creation and maintenance of transgenic animals must have a greater infrastructure since they are more fragile due to the genetic manipulation. Acclimatization, pressure and lighting, great care about hygiene, including the use of collective and individual protective equipments are highly important to keep the animals away from pathogen. Many questions still arise and lots of discussion is promoted about transgenesis, however the creation and study of this technology are of fundamental importance in the search for animals and humans quality of life.

### KEY-WORDS

Laboratory animals. Bioterism. Transgenics. Animal Model.

## 1 INTRODUÇÃO

A liberação de animais para uso em pesquisa testes ou ensino necessita julgamento científico e profissional baseados nas necessidades e nas exigências específicas da pesquisa, dos testes e dos programas educacionais, no que se refere aos cuidados, à utilização e ao tratamento humanitário a eles dispensado (NRC, 2003). Para isso existem locais adequados denominados biotérios, que são destinados à criação de animais para o uso em

pesquisas experimentais, onde são utilizadas normas e leis para regulamentação deste uso.

Esses animais de laboratório são usados para testes de novos fármacos, técnicas cirúrgicas e para descoberta de doenças genéticas. Além disso, o desenvolvimento de animais geneticamente modificados, chamados de animais transgênicos, tornou-se uma das maiores esperanças para curas de doenças como Alzheimer, esclerose múltipla, diabetes, hipersensibilidade, dentre outras.

O objetivo deste trabalho é descrever as particularidades destes modelos animais geneticamente modificados, bem como seu manejo adequado no biotério e as principais aplicações experimentais para sua utilização.

## 2 HISTÓRICO

A realização de disseções e necropsias em seres humanos, geralmente escravos e condenados, era prática comum no início da civilização humana. Tais procedimentos foram, aos poucos, abolidos

\* Biomédica. Faculdade de Ciências da Saúde – Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC, Juiz de Fora - MG. moisapedrosa@hotmail.com.

\*\* Mestre em Ciências Biológicas. Pesquisadora do Centro de Biologia da Reprodução – CBR, Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF. Professora das Faculdades de Ciências da Saúde e de Medicina, Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC, Juiz de Fora, MG. nathaliabesanto@gmail.com. Correspondence author: Nathália Barbosa do Espírito-Santo. Centro de Biologia da Reprodução. Laboratório 2. Campus Universitário, Bairro Martelos. 36001-970 - Juiz de Fora, MG - Brasil - Caixa-Postal: 328. Telefone: (32) 21023251 Fax: (32) 21023255. nathaliabesanto@gmail.com.

Received: 05/05

Accepted: 10/08

inicialmente por interferência religiosa e, posteriormente, legal. Tal proibição levou os pesquisadores da época a adotar animais para desvendar fenômenos biológicos (SOUZA; MERUSSE, 1996).

Na Idade Média, e mesmo em épocas anteriores, os precursores da medicina adquiriram a maioria de seus conhecimentos por meio do estudo com animais. Estes eram comparados à pedra bruta dada sua absoluta ausência de alma, capacidade de raciocínio e poder de entendimento lógico (PIMENTA; SILVA, 2002). Por considerá-los seres inferiores, o homem os utilizava para obter e ampliar seus conhecimentos, além de realizar experiências que de outra forma não seriam possíveis (SANTOS, 2001). Por outro lado, Pitágoras (582-500 a.C.) pensava que a amabilidade para com todas as criaturas não-humanas era um dever.

A utilização de animais para fins de pesquisa deu início à “Patologia Comparada”, visto que na época a utilização de cadáveres humanos era proibida, pesquisadores utilizavam animais com características semelhantes aos humanos, submetendo-os ao procedimento de necropsia (ANDRADE, 2001).

O uso de modelos animais em pesquisas vem sendo feito desde a antiguidade. Neste período, Hipócrates (450 a.C.) já relacionava o aspecto de órgãos humanos doentes com o de animais, com finalidade claramente didática. Diversos anatomistas como Alcmaeon (500 a.C.), Herophilus (330-250 a.C.) e Erasistratus (305-240 a.C.) realizavam vivisseções animais com o objetivo de observar estruturas e formular hipóteses sobre os vários processos fisiológicos. Posteriormente, Galeno (129-210 d.C.), em Roma, foi talvez o primeiro a realizar vivisseção com objetivos experimentais, ou seja, para testar variáveis através de alterações induzidas (RAYMUNDO; GOLDIM, 1997).

Com a expansão da espécie humana e de culturas pela Terra, o conhecimento científico se ampliou, passou a ser divulgado e ‘escolas’ começaram a surgir. Assim, durante os séculos XVIII e XIX o uso de animais progrediu lentamente de uma prática incomum até alcançar enfoque científico; ressaltamos que da mesma forma, neste período, começaram os primeiros movimentos contra tal utilização. Para que os experimentos pudessem ser reproduzidos e houvesse evolução do conhecimento, havia a necessidade de repetição metodológica com amostras homogêneas, surgindo assim o modelo biológico animal (SILVA et al., 1999).

Tal necessidade de se ter animais em número, idade e sexo adequados aos estudos em andamento culminou com o surgimento dos biotérios (SANTOS, 2002).

O biotério é uma instalação onde os animais são criados e/ou mantidos, dotada de características próprias, que atendem às exigências de cada espécie, proporcionando-lhes bem estar e saúde para que possam se desenvolver e reproduzir, bem como para responder satisfatoriamente aos testes neles realizados. Para o funcionamento adequado de um biotério existem algumas necessidades básicas, tais como: instalações adequadas e específicas, equipamentos especiais e modelo animal adequado para cada pesquisa. Os animais criados devem ser de fácil manejo, prolíficos,

dóceis, de pequeno porte, assim como ter seus mecanismos fisiológicos conhecidos. Todas estas características contribuem da melhor forma possível para a realização da pesquisa (ANDRADE, 2002).

No Brasil, a lei 6.638, de 08 de maio de 1979, estabeleceu as normas para a prática didático-científica da vivisseção de animais. Estas normas, que nunca foram regulamentadas, estipulam que somente estabelecimentos de terceiro grau podem realizar atividades didáticas com animais e que as pesquisas devem ser realizadas dentro do critério de não causar sofrimento nos animais envolvidos (RAYMUNDO; GOLDIM, 1997).

As técnicas atuais de engenharia genética e de biologia molecular abriram caminhos para a criação e produção de animais com alto padrão de qualidade genética e sanitária, possibilitando a aquisição de modelos genéticos, ecológica e sanitariamente definidos para a realização de pesquisas (ANDRADE, 2002).

O desenvolvimento de animais transgênicos impulsiona áreas como transplante de órgãos e tecidos e produção de derivados biológicos para uso em humanos

### 3 ÉTICA E BEM-ESTAR ANIMAL

Ética é a ciência da moral e tem relação com o certo e o errado. É uma atitude cultural, crítica, sobre valores e posições de relevância no momento de atuar. A ética na experimentação animal tenta reger o uso desses animais, buscando sempre seu bem-estar e condições de vida satisfatória para que estes tenham um bom desempenho nas pesquisas (RIVERA, 2001).

Segundo PIMENTA et al. (2001), o biotério é um cenário de experimentação animal, onde se espera que o procedimento seja ético e bilateral, com intenção de promover o bem-estar dos seres humanos, atingindo as condições de vida dos seres inferiores, sem mimetismo, numa simbiose digna do terceiro milênio. Porém, a ciência viveu por muito tempo sob a influência filosófica de René Descartes, o qual que os animais não tinham alma, eram autômatos e, portanto, incapazes de sentir dor ou sofrer.

Uma das primeiras tentativas de doutrinar a pesquisa animal foi proposta no *Cruelty Animals Act*, em Londres, numa época que coincidiu com a descoberta e prática da anestesia geral pelo cirurgião norte-americano William Thomas Green Morton (1846). Os animais passaram, então, a merecer os benefícios conquistados e aplicados ao homem, principalmente quando uma intervenção cirúrgica é realizada sem dor (PIMENTA; SILVA, 2001).

Em meio às controvérsias que posicionavam cientistas versus antivivisseccionistas, Charles Hume, em 1926 disse: “o que o bem-estar animal precisa é de pessoas bem educadas com cabeças frias e corações quentes preparados para ver o sofrimento dos animais e procurando meios mais práticos de aliviá-los” (REMFREY, 1987).

A experimentação animal é uma atividade humana com grande conteúdo ético. Os problemas da experimentação animal surgem do conflito entre as justificativas para o uso de animais em benefício de

si próprio e do homem e o ato de não causar dor e sofrimento aos mesmos. Esse conflito é inevitável, e só pode acabar com o equilíbrio dos valores opostos (PIMENTA; SILVA, 2001).

O princípio ético de reverência pela vida exige que se obtenha um ganho maior de conhecimento com um custo menor no número de animais utilizados e com menor sofrimento dos mesmos (ANDRADE, 2002).

Segundo este fundamento, dois cientistas ingleses, Russel & Burch apud Remfry (1987), conseguiram definir o Princípio Humanitário da Experimentação Animal em três palavras (3R's): replacement, reduction e refinement, a saber, alternativas, redução e aprimoramento, respectivamente. No uso de animais as "alternativas" seriam utilizar, ao invés de animais vivos, "amostras" sem sensibilidade como cultura de tecidos ou modelos de computador; a "redução" refere-se ao menor número de animais possível; o "aprimoramento", técnicas menos invasivas e pessoal habilitado tecnicamente evitando o desconforto do animal (FESTING, 1994; RIVERA, 2001).

A necessidade de redução do número de animais de laboratório sacrificados em pesquisas experimentais vem sendo apontada e discutida por Comissões de Ética no Uso de Animais (BORGES et al., 2001).

Graças aos princípios da bioética, o aprendizado clínico nas faculdades de área da saúde é realizado estritamente no ser humano. A experimentação animal obedece à prática didático-científica da visseção de animais segundo o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, muito incisivo em seu Art. 4o: O animal só poderá ser submetido às intervenções recomendadas nos protocolos das experiências que constituem a pesquisa ou os programas de aprendizado cirúrgico quando, durante a visseção, receber cuidados especiais (COBEA, 2007).

No Brasil, a criação ou utilização de animais para ensino e pesquisa estão restritas às instituições credenciadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Torna-se indispensável o licenciamento das atividades controladas por uma Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA). Esta comissão é composta por um médico veterinário, um representante da Sociedade Protetora dos Animais (SPA) regional e pelos docentes pesquisadores da área específica e devidamente autorizados ao exercício da investigação proposta.

A Comissão de Educação, Cultura e Esporte do Senado Federal aprovou no dia 09 de setembro de 2008 o parecer favorável ao Projeto de Lei (PL) 11.794 da Câmara dos Deputados que dispõe sobre a criação e uso de animais de laboratório no ensino e na pesquisa. A proposta, que tramitava no Congresso desde 1995, foi sancionada pelo Presidente Lula em 08 de Outubro de 2008 e constitui uma vitória para os cientistas (CECAL, 2008).

De acordo com a "Lei Arouca" ficam estabelecidos os procedimentos para o uso de animais e as penalidades para as instituições infratoras. A lei deve aumentar a segurança das pesquisas biomédicas no país, especialmente, as que dependem de testes em animais para o desenvolvimento de vacinas e novos medicamentos (CECAL, 2008).

## 4 BIOSSEGURANÇA

Biossegurança pode-se definir como sendo um conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades em um biotério e que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos (CARDOSO, 2002).

Sendo o biotério um local onde os animais vivem e as pessoas trabalham, os animais têm uma exigência natural de cuidados e apesar de estarem protegidos de qualquer dano a que estariam expostos na natureza, dependem totalmente do homem para suas necessidades e seu bem estar (CHORILLI et al., 2007).

Como em outros ambientes laboratoriais, os biotérios devem ter um programa de segurança que inclui equipamentos de combate a incêndio, instruções para o seu correto uso e treinamento de primeiros socorros. Todos os funcionários que trabalhem nesse local devem estar familiarizados com as exigências da Instituição ou com o programa de segurança em casos de ferimentos acidentais. Responsabilidades devem ser imputadas para assegurar que todo o pessoal que trabalha com animais aprenda como manipular corretamente as espécies envolvidas, para a segurança e saúde deles próprios, bem como dos animais (ANDRADE, 2002).

Um bom programa de gerenciamento estabelece ambiente, condições de alojamento e cuidados que permitem aos animais desenvolver-se e reproduzir-se em perfeito estado de saúde; provê seu bem-estar e minimiza as variações que possam afetar os resultados da pesquisa (NRC, 2003).

De acordo com National Research Council (2003), um programa eficiente de saúde e segurança do trabalho deve permitir que os riscos que dizem respeito ao uso experimental de animais sejam reduzidos a níveis aceitáveis. Possíveis perigos, como mordida de animais, agentes de limpeza, alérgicos e zoonoses, que são inerentes ou intrínsecos ao uso de animais, também devem ser identificados e avaliados.

Devido aos riscos trabalhistas, os funcionários de biotérios utilizam equipamentos de proteção, de uso coletivo (EPC) e individual (EPI). O uso de tais equipamentos não pode ser descuidado, tendo em vista a variedade de ambientes de trabalho, as espécies envolvidas e a variedade de agentes físicos, químicos e biológicos associadas a possível contato (ANDRADE, 2002; SILVA et al., 1999).

Existem, ainda, normas de segurança de caráter geral ligadas diretamente ao trabalho, as quais o bioterista deve segui-las, para evitar ao máximo qualquer tipo de acidente, com ele mesmo e com os animais.

Em alguns países, a ciência e a tecnologia em animais de laboratório infelizmente são subdesenvolvidas e tais procedimentos supracitados não correspondem às necessidades científicas e aos conceitos internacionalmente recomendados de segurança (ANDRADE, 2002).

## 5 EQUIPAMENTOS E INSTALAÇÕES

Dada a especificidade das atividades desenvolvidas em um biotério, fazem-se necessários equipamentos e locais apropriados para que possa obter os resultados desejados (COUTO, 2002).

### 5.1 INSTALAÇÕES

O primeiro ponto a ser analisado é o próprio local para a edificação do biotério. Nesta análise deve-se considerar a finalidade do biotério, seja experimentação ou criação (MERUSSE; LAPICHUIK, 1996).

Caso o biotério seja ambiente de experimentação, ou seja, destinado ao alojamento de animais durante um determinado período experimental, a prática tem mostrado a conveniência de que este tipo de construção esteja próximo ao laboratório de pesquisa. Já em relação ao biotério de criação, sua edificação em áreas isoladas, preferencialmente distantes de centros urbanos, tende a reduzir custos operacionais de determinados equipamentos, por exemplo, a filtragem do ar. Fatores como temperatura, luz, ventilação, umidade, ruído e qualidade do ar devem ser controlados ao máximo (MERUSSE; LAPICHUIK, 1996; CHORILLI et al., 2007).

O animal de laboratório deve ser visto como um reagente biológico. Tudo que o circunda, de uma ou outra forma, pode exercer influências nas características deste reagente. Assim, a manutenção de condições ambientais estáveis e insumos adequados irão assegurar a reprodução dos resultados esperados (COUTO, 2002).

#### 5.1.1 Condições ambientais

O bom gerenciamento das condições ambientais permite aos animais desenvolver-se em perfeito estado de saúde.

O controle atmosférico implica, basicamente, na movimentação do ar em salas de animais com finalidade de remoção de poluentes e manutenção de conforto térmico (MERUSSE; LAPICHUIK, 1996).

A ventilação tem como objetivo fornecer suprimento de oxigênio adequado; remover as massas de ar quente, produzidas pela respiração do animal, por luzes e equipamentos; diluir contaminantes gasosos e particulares; ajustar o conteúdo de umidade do ar da sala; e, quando necessário, criar diferenças de pressão estática entre espaços adjacentes (NRC, 2003).

Padrões internacionais recomendam temperatura ambiental entre 20 a 24°C para roedores, 15 a 22°C para coelhos e umidade relativa entre 45 e 75%. A própria distribuição do ar no biotério pode funcionar como barreira sanitária. Quando devidamente instalados e em condições de operação, os filtros de ar irão reter os contaminantes (MERUSSE; LAPICHUIK, 1996).

A luz pode afetar processos fisiológicos, características morfológicas e comportamento de vários animais, bem como

influências luminosas potencialmente estressantes - fotoperíodo inapropriado, intensidade luminosa e qualidade espectral da luz. Em geral, a luz deve atingir toda a área de manutenção dos animais, fornecer iluminação suficiente para o seu bem-estar e para permitir boas práticas de cuidado. O posicionamento de janelas ou vidraças em salas de animais com objetivo de iluminar deve ser evitado. A luz obtida desta forma apresenta um espectro mais vermelho e menos violeta, além de elevar a carga térmica do recinto, implicando em maior custo dos equipamentos de ventilação ou climatização (MERUSSE; LAPICHUIK, 1996; NRC, 2003).

A maioria das espécies animais, incluindo as de laboratório, ouvem sons de frequências superiores àqueles audíveis pelo homem, ou ultra-som. Portanto, o controle do ruído deve ser levado em consideração no projeto e no funcionamento das instalações. Uma medida eficaz para diminuir incômodos gerados por ruídos é separar as áreas destinadas às pessoas. Animais barulhentos também devem ser alojados longe de animais mais silenciosos. É preferível projetar ambientes de forma a acomodar corretamente os animais que produzem ruído, do que recorrer aos métodos de redução de ruídos (MERUSSE; LAPICHUIK, 1996; NRC, 2003).

#### 5.1.2 Insumos

Os insumos são todos os elementos que entram na produção de determinado bem ou serviço, tais como: ração, água, maravalha e feno.

- RAÇÃO

O alimento é extremamente importante para o animal, uma vez que ele precisará deste para seu crescimento e reprodução. O tipo de ração, sua biodisponibilidade (a quantidade de nutrientes que o organismo pode absorver e metabolizar), os procedimentos à preparação e estocagem são fatores que exercem profundos efeitos no desenvolvimento do animal. Como a maioria das espécies tem hábito alimentar complexo, a ração industrializada atende as necessidades alimentares desses animais. Então, a ração é vantajosa, pois proporciona nutrição adequada, é de fácil manuseio e de melhor rendimento. É importante verificar ao escolher uma ração para os animais se esta é feita com produtos de qualidade e se a empresa produtora tem condições de fabricação que atendam às exigências nutricionais e microbiológicas. Deve-se ressaltar o cuidado na estocagem desse tipo de alimento. Antes de ser apresentada ao animal, deve ser mantido em local frio, escuro, seco, bem ventilado e limpo (COUTO, 2002; CHORILLI et al., 2007).

As dietas são esterilizadas geralmente usando métodos de calor úmido ou por radiação. A esterilização por calor úmido é feita em autoclave, a 121°C, durante 20 minutos. Já na esterilização por radiação utilizam-se raios gama. Este é o melhor método de esterilização, porém com custo elevado (COUTO, 2002).

- **ÁGUA**

É imprescindível que os animais tenham acesso a água. Esta água deve ter os mesmos padrões de qualidade da água potável fornecida aos humanos, porém precisa de tratamento antes de ser oferecida. A frequência de substituição da água dos bebedouros reduz o desenvolvimento de microorganismos. Há diferentes processos de tratamento de água:

- processos químicos – acidificação através da adição de uma parte de HCl (ácido clorídrico), evita o crescimento de pseudomonas.

- processos físicos – filtração, esterilização por autoclavagem (NRC, 2003).

- **MARAVALHA**

Os animais são mantidos em gaiolas cujo piso é coberto por maravalha (raspa de madeira picada), casca de arroz, bagaço de cana-de-açúcar desidratado, sabugo de milho ou outro produto, dependendo da facilidade de obtenção e custo. Deve ter certeza de que as plantas que deram origem a estes produtos, a serem usados para as camas, não receberam inseticidas no seu cultivo. O material usado para a cama tem por finalidade absorver a urina dos animais e a água derramada na gaiola. A cama deve ser tratada com autoclavagem, 121°C por 30 minutos, em embalagens que permitam a penetração do vapor até a camada central, pois faz parte do microambiente do animal (COUTO, 2002; NRC, 2003).

- **FENO**

O material não deve absorver umidade, deve permitir que o ambiente fique seco. O feno de capim Cort-cross é adequado para o ninho de coelhos, oferecendo conforto e facilidade na construção do ninho. Também é usado nas gaiolas de madeira de Pínus, com o objetivo de ocupá-los roendo esse material, evitando assim, que eles arranquem os pêlos uns dos outros (COUTO, 2002).

### 5.2 Equipamentos

São equipamentos desejáveis em um biotério:

- Autoclave: o principal equipamento de esterilização de materiais e insumos em um biotério. Deve ter dupla porta para impedir que haja comunicação entre as áreas de higienização e estoque de materiais esterilizados;

- Isoladores: utilizados principalmente para manter animais livres de germes e em estudos de alto risco;

- Estantes/Racks com Microisoladores: permite o estabelecimento de sistema fechado de criação para cada microambiente, cada gaiola de animais. Constituído de dois motores, responsáveis pelo insuflamento e a exaustão do ar por meio de ductos com orifícios, para cada gaiola de animais, sob as prateleiras. Dando segurança aos mesmos quando transportados;

- Estufa de Esterilização: equipamento usado para materiais que não possam ser esterilizados por calor úmido;

- Câmara para Eutanásia: normalmente se usa o gás dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). O seu tamanho depende das espécies a serem sacrificadas;

- Máquinas de lavar gaiolas, frascos e bicos: existem muitos tipos dessas máquinas, seu tamanho e capacidade dependem do tipo e do número do material a ser lavado (COUTO, 2002; NRC, 2003).

## 6 CLASSIFICAÇÃO DOS ANIMAIS DE LABORATÓRIO

Os animais de laboratório podem ser classificados de acordo com diferentes critérios, dentre eles destacam-se o status sanitário e o status genético.

### 6.1 STATUS SANITÁRIO

Através de técnicas especiais de criação e manutenção, podemos ter animais livres de qualquer forma de vida associada. O conjunto de formas de vida associadas é denominado microbiota (vírus, bactérias, fungos e parasitas). Quanto mais eficientes forem as barreiras sanitárias do biotério, menores as chances de contaminação dos animais. Classificam-se os animais quanto ao status sanitário ou ecológico, visando prevenir erros induzidos por diferenças ambientais. Em função das barreiras disponíveis podemos classificá-los em três grupos: Convencionais, Livres de Patógenos Específicos e Gnotobióticos (COUTO, 2002).

#### 6.1.1 Convencionais ou Haloxênicos

Animais de padrão sanitário convencional, isto é, aqueles que possuem microbiota indefinida por serem mantidos em ambientes desprovidos de barreiras sanitárias rigorosas. Sua criação apresenta apenas princípios básicos de higiene onde se procede somente à limpeza e desinfecção do ambiente e material utilizado. Quanto ao pessoal técnico, em geral, realiza-se apenas troca de uniforme para o trabalho com os animais.

#### 6.1.2 Livres de Patógenos Específicos ou Heteroxênicos

Conhecidos como SPF (Specific Patogen Free), ou seja, animais que não apresentam microbiota capaz de lhes determinar doenças, ou seja, albergam somente microrganismos não patogênicos. Sua criação é realizada em ambientes protegidos por barreiras sanitárias rigorosas que podem ser resumidas do seguinte modo: cada vez que se entra nas áreas com animais, os técnicos devem tomar banho e utilizar uniforme esterilizado; todo material a ser utilizado (peças de vestuário, rações, gaiolas, cama, água e outros) devem ser esterilizados, seja por meio de

autoclavagem, câmara com gás esterilizante ou soluções desinfetantes em tanques de passagem de materiais. Sua criação também pode ocorrer dentro de isoladores.

### 6.1.3 Gnotobióticos

São animais que possuem microbiota associada definida, e devem ser criados em ambientes dotados de barreiras sanitárias absolutas. A produção de indivíduos de tão alto padrão sanitário só é alcançada através de sua manutenção em isoladores. O termo gnotobiótico (vida conhecida) pode ser utilizado tanto para animais livres de germes como aqueles contaminados com um ou mais organismos detectáveis (SOUZA; MERUSSE, 1996; COUTO, 2002; COUNCIL, 2003).

## 6.2 STATUS GENÉTICO

Os animais de laboratório podem ser classificados, quanto ao Status Genético, em dois grandes grupos: outbred, ou não-consangüíneos heterogênicos, e inbred, consangüíneos ou isogênicos. Aos inbred foram acrescentados os híbridos congênitos, mutantes e animais geneticamente modificados, por exemplo, os transgênicos (COUTO, 2002).

### 6.2.1 Animais Outbred

São animais que apresentam na constituição genética uma alta heterozigose, fazendo com que numa mesma colônia exista uma grande diversidade genética (vários alelos), possibilitando a reprodução de populações naturais (COUTO, 2002).

### 6.2.2 Animais Inbred

Um animal consangüíneo é o produto de 20 gerações consecutivas do acasalamento entre irmãos ou pais e filhos. Com esse tipo de acasalamento conseguimos obter um índice de homozigose de 99%. Cada linhagem consangüínea apresenta um conjunto único de características que as diferencia entre si. Esse conjunto é composto de genes que sofrem menor ou maior grau de influências ambientais. Por isso a manutenção dessas linhagens deve ser feita de maneira rigorosa, de modo que as variações, através das gerações, sejam mínimas.

Essas variações podem ser do tipo mutações que ocorrem naturalmente. Podem ser também híbridos que são os animais provenientes do acasalamento entre duas linhagens inbred ou linhagens inbred recombinantes que são os animais derivados do acasalamento dos híbridos. E por fim, os animais transgênicos, que são os que carregam incorporados em seu genoma um segmento de DNA de outra espécie (COUTO, 2002).

## 7 ANIMAIS TRANSGÊNICOS

Animais transgênicos são aqueles cujo genoma foi modificado pela introdução de seqüências de DNA de outro organismo. Muitas vezes tais seqüências são manipuladas por engenharia genética de tal forma que constituem uma mistura de pedaços de DNA vindo de diversas origens (ABDELHAY, 2002).

Esse termo genérico engloba diferentes tipos de modelos animais:

- Transgênicos por adição ou modelo de superexpressão de um gene, em que várias cópias desse gene (endógeno ou de outra espécie) são adicionadas ao genoma.
- Modelos knockout e knockin, em que um gene endógeno é inativado (knockout) ou previamente modificado e substituído no genoma (knockin) (PESQUERO; BAPTISTA, 2008).

Animais transgênicos ou geneticamente modificados são poderosas ferramentas de pesquisa para a descoberta e o desenvolvimento de novos tratamentos para várias doenças humanas (PEREIRA, 2008) (Figura 1).

Pouco antes da década de 1970 foram publicados os primeiros trabalhos sobre transgênicos, nos quais foram descritas a introdução de fragmentos de DNA em células somáticas procarióticas e eucarióticas *in vitro* e a indução da expressão de genes em células do tecido nervoso e do sangue (GAVRILOVA, 1967 apud ULRICH et al., 2008).

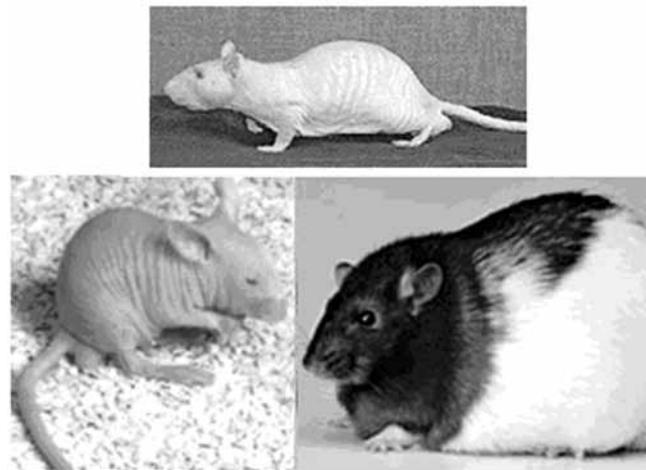


Figura 1: Animais de laboratório geneticamente modificados. Rato Hairless: pelado com mais de 12 mutações (A); Camundongo Nude: ausência de linfócito T e resposta imune (B); Rato Zucker: obeso e diabético tipo II (C). Fonte: PESQUERO; BAPTISTA, 2002.

Desde então, a aplicação das técnicas de genes recombinantes têm tornado possível a produção de animais transgênicos de diferentes espécies como boi, porco, ovelha, coelho, rato e camundongo, sendo este último o mais utilizado em pesquisas por apresentar vantagens notáveis. Outro fato que aponta para o uso cada vez maior dessa espécie é o seqüenciamento total de seu genoma recentemente finalizado (PESQUERO et al., 2002).

## 7.1 TÉCNICAS PARA GERAÇÃO DE ANIMAIS TRANSGÊNICOS

Nos últimos anos, várias técnicas têm sido utilizadas para produzir animais transgênicos por adição, entre elas: infecção de embriões por vetores retrovirais; agregação de células-tronco embrionárias geneticamente modificadas; transferência de segmentos de cromossomos e transferência de DNA mediada por espermatozoides. Atualmente, o método utilizado pela maioria dos centros produtores de transgênicos é a microinjeção pronuclear, a qual permite a introdução de sequências de até 50 Kb de diferentes espécies no genoma de mamíferos. Além disso, pela utilização dessa técnica, são geralmente obtidos altos níveis de expressão da transgenia (PESQUERO et al., 2002).

A microinjeção no pró-núcleo consiste na introdução de uma solução de DNA diretamente no pró-núcleo de um oócito recém fecundado. Em cerca de 30% dos oócitos assim manipulados, o DNA exógeno vai se integrar no genoma e embriões transgênicos serão produzidos. Para tal, utiliza-se um micromanipulador acoplado a um microscópio invertido de alta resolução. Após a micromanipulação, os embriões são transferidos para uma “fêmea receptora” pseudo-grávida, que levará a termo o nascimento dos animais que serão, posteriormente, genotipados quanto à presença do gene exógeno (ABDELHAY, 2002; PESQUERO et al., 2002; HODGES; STICE, 2003).

Quadro 1: Histórico da Transgênese em Animais de Laboratório.

Injeção de células embrionárias em blastocistos e obtenção de camundongos quiméricos	Gardner, 1968.
Microinjeção de DNA viral em blastocisto e detecção nos camundongos nascidos	Jaenisch e Mintz, 1974.
Infecção de embriões de camundongo com retrovírus e transmissão para linhagem germinativa	Jaenisch, 1977.
Microinjeção de DNA viral em zigotos de camundongos e detecção nos camundongos nascidos	Gordon et al., 1980.
Obtenção de células-tronco embrionárias indiferenciadas	Evans e Kaufman, 1981.
Camundongos transgênicos “gigantes” pela técnica de Microinjeção e transmissão para a linhagem germinativa	Palmiter et al., 1982.
Mutação de células-tronco embrionárias por recombinação homóloga	Thomas e Capecchi, 1987.
Recombinação homóloga de células-tronco embrionárias e obtenção do camundongo knockout	Schwartzberg et al., Thompson et al., 1989.

Fonte: ULRICHI, Bases Moleculares da Biotecnologia. p. 56, Rio de Janeiro. 2008.

## 7.2 BIOTÉRIO IDEAL PARA SE CRIAR ANIMAIS TRANSGÊNICOS

No caso de animais transgênicos é ainda mais importante a qualidade do biotério, tendo em vista que eles são mais frágeis devido à manipulação genética. Portanto, um biotério projetado especialmente é o ideal quando se deseja produzir ou criar animais transgênicos. Os bioteristas e pesquisadores devem tomar uma ducha e trocarem de vestimenta ao entrar no biotério. Os animais vindos de outros laboratórios ou fornecedores devem passar por uma quarentena e serem testados para diferentes patógenos. Um aspecto importante é a climatização do biotério (ABDELHAY, 2002).

Biotérios que mantenham animais geneticamente modificados devem, por lei, manter uma pressão negativa em relação ao meio ambiente, uma vez que o que deseja conter são os animais modificados. São necessários também filtros esterilizantes para se manter colônias selvagens e os animais imunologicamente deficientes. Entretanto, animais modificados que possam representar um risco para o meio ambiente ou para o homem devem ser mantidos em salas com pressão negativa (ABDELHAY, 2002).

Idealmente todo animal de experimentação deve ser mantido num ambiente livre de patógenos como vírus, bactérias e parasitas que podem alterar os resultados de um experimento.

## 7.3 APLICAÇÕES DOS TRANSGÊNICOS

As aplicações das tecnologias transgênicas são inúmeras e em diferentes campos de atuação. Em pesquisas básicas, no estudo da regulação e função de sequências genéticas específicas. Em pesquisa biomédica, na criação de modelos animais de doenças humanas, entre elas, doenças cardiovasculares, neurológicas e auto-imunes, AIDS e câncer (COLLARES et al., 2007).

Animais com mutações que mimetizam as principais características de uma determinada anomalia são um passo fundamental nas pesquisas de tais doenças genéticas. Tais modelos permitem o exame detalhado da fisiopatologia da doença, além de servirem para delinear novas formas de tratamento, desenvolvimento de testes-diagnósticos, agentes terapêuticos inovadores e em terapia (PESQUERO et al., 2002).

Na indústria farmacêutica, os animais transgênicos produzidos, geralmente são animais domésticos de médio e grande porte, sendo utilizados como biorreatores, produzindo proteínas recombinantes humanas valiosas, como enzimas, hormônios, fatores de crescimento, dentre outras substâncias de interesse biológico e comercial. Muitas vezes, a droga administrada para o tratamento de uma determinada doença é a própria proteína ausente, como é o caso da diabetes mellitus (DM) (tipo II), em que, na maioria das vezes, ocorre resistência periférica à insulina, enquanto que na DM (tipo I) há destruição das

células beta pancreáticas, em uma reação autoimune, com conseqüente deficiência desta mesma proteína. Essa doença pode ser tratada com injeção direta de insulina obtida de um doador humano ou a partir de bactérias transgênicas, secretoras dessa proteína. O problema é que até o momento a obtenção de proteínas para serem administradas como drogas a seres humanos é extremamente trabalhosa e cara; por outro lado, proteínas humanas são, freqüentemente, muito complexas para serem sintetizadas por bactérias, um meio mais barato de obtenção de proteínas recombinantes. Dessa forma, inúmeros estudos estão sendo realizados com o objetivo de viabilizar a produção, em grande escala, de proteínas humanas por animais transgênicos (COLLARES et al., 2007; PESQUERO; BAPTISTA, 2008).

Enfim, as alterações genéticas animais desenvolvidas ao longo das últimas décadas provocaram uma grande revolução no campo da biologia, permitindo a análise de vários aspectos da função gênica in vivo. As pesquisas biomédicas oferecem umas das maiores esperanças para a cura de doenças que afligem a humanidade (PESQUERO; BAPTISTA 2008).

## 8 CONCLUSÃO

O biotério é uma ferramenta muito importante para as pesquisas e seu correto funcionamento torna essas pesquisas mais eficientes e confiáveis, porque a criação adequada de um modelo animal irá viabilizar bons resultados, como os animais geneticamente modificados, que são estudados em biotérios específicos e representam um grande passo da Ciência no desenvolvimento de novos fármacos, fitoterápicos e no estudo de modelos biológicos de doenças humanas.

## 9 REFERÊNCIAS

- ABDELHAY, E.S.F.W. Criação e Produção de Animais Transgênicos e Nocautes. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS (organizadores). **Animais de Laboratório-criação e experimentação**, Rio de Janeiro, p.345-352, 2002.
- ANDRADE A. Biossegurança em Biotérios In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS (organizadores). **Animais de Laboratório-criação e experimentação**, Rio de Janeiro, p. 345-352, 2002.
- ANDRADE A. O Bioterismo - evolução e importância. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS (organizadores). **Animais de Laboratório-criação e experimentação**, Rio de Janeiro, p. 19-22, 2002.
- BAPTISTA, H.A.; PESQUERO, J.B.; MAGALHÃES, L.E.; SABATINI, R.A. Animais Transgênicos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 27, p. 52-66, 2002.
- BORGES, N.B.E.S.; GUERRA, M.O.; PETERS, V.M. O Estresse da Gavagem e o Desenvolvimento do Pré-Embrião de Ratas Wistar. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 20, n.1, p. 57-62, 2001.
- CARDOSO, C.V.P. Classificação de Biotérios quanto à Finalidade. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS (organizadores). **Animais de Laboratório-criação e experimentação**, Rio de Janeiro, p. 29-31, 2002.
- CECAL – **Centro de Criação de Animais de Laboratório**. Notícias 2008. Disponível em: <<http://www.cecal.fiocruz.br>> Acesso em: 09 de outubro de 2008.
- CHORILLI M, MICHELIN DC, SALGADO HRN. Animais de Laboratório: o camundongo. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 28, n. 1, p. 11-23, 2007.
- COBEA – **Colégio Brasileiro de Experimentação Animal**. Ética e Legislação 2008 Disponível em: <<http://www.cobea.org.br>> Acesso em: 11 de agosto de 2008.
- COLLARES, T.; SEIXAS, F.K.; CAMPOS, V.F.; CAVALCANTI, P.V.; DESCHAMPS, J.C. Animais transgênicos biorreatores. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 4, p. 462-478, 2007.
- COUTO SER. Instalações e Barreiras Sanitárias. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS (organizadores). **Animais de Laboratório-criação e experimentação**, Rio de Janeiro, p. 33-64, 2002.
- FESTING, MFW. Reduction of animal use: experimental design and quality of experiments. **Laboratory Animals**, London, v. 28, p. 212-221, 1994.
- GAVRILOVA, T.N. The contents of labeled DNA in nerve cells of mice of different ages after introduction of H<sup>3</sup>-thymidine in the period of embryogenesis. **Tsitologia**, Moskva, v. 9, n.1, p. 68-72, 1967.
- HODGES, G.A.; STICE, S.L. Generation of bovine transgenics using somatic cell nuclear transfer. **Reproductive Biology and Endocrinology**, 2003-07. Disponível em: <<http://www.rbej.com/content/1/1/81>> Acesso em: 12 de agosto de 2008.
- MERUSSE, J.L.B.; LAPICHIK, V.B. **Manual para Técnicos em Bioterismo**. Instalações e Equipamentos, São Paulo, n. 2, p. 15-25, 1996.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Manual Sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório**, Washigton, n.1, 2003.

PEREIRA, L.V. Animais transgênicos - a nova fronteira do saber. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 60, n. 2, p. 40-42, 2008.

PESQUERO, J.B.; BAPTISTA, H.A. Modelos de Animais Knockouts. In: Ulrich H, Colli W, Ho PL, Faria M, Trujillo CA. (organizadores). **Bases Moleculares da Biotecnologia**, São Paulo, 2008.

PESQUERO, J.B.; MAGALHÃES, L.E.; BAPTISTA, H.A.; SABATINI, R.A. Animais transgênicos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, 2002.

PIMENTA, L.G.; SILVA, A.L. **Ética e Experimentação Animal**. Sociedade Brasileira para Desenvolvimento Pesquisa e Cirurgia [serial online] 2001 Out-Dez; 16(4). Disponível em: <<http://www.scielo.br/acb>> Acesso em: 21 de setembro de 2008.

RAYMUNDO, M.M.; GOLDIM, J.R. **Aspectos Históricos da Pesquisa com Animais**. 1997. Disponível em: <<http://www.ufrg.br/bioetica/animhost.htm>> Acesso em: 17 de setembro de 2009.

REMFERY, J. Ethical aspects of animal experimentation. In: Tuffery AA (ed) **Laboratory Animals: a introduction for new experimenters**, New York: John Wiley & Sons; 1987.

RIVERA, E. Ética, bem-estar e legislação. **Manual para Técnicos em Bioterismo**, São Paulo, n.2, 11-14, 1996.

RIVERA, E.A.B. Ética na Experimentação Animal. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS (organizadores). **Animais de Laboratório-criação e experimentação**, Rio de Janeiro, p. 25-28, 2002.

SANTOS BF. Modelo Animal. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS (organizadores). **Animais de Laboratório-criação e experimentação**, Rio de Janeiro, p. 23-24, 2002.

SANTOS, B.F. Classificação de Animais de Laboratório quanto ao Status Genético. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS (organizadores). **Animais de Laboratório-criação e experimentação**, Rio de Janeiro, p. 65-70, 2002.

SOUZA, N.L.; MERUSSE, J.L.B. A utilização de animais de laboratório. **Manual para Técnicos em Bioterismo**, São Paulo, n.1, p. 3-10, 1996.