



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RUTE XAVIER FRANCA

ELABORAÇÃO DE UM MANUAL PARA MANEJO DE CULICÍDEOS EM
INSETÁRIO

FORTALEZA

2018

RUTE XAVIER FRANCA

ELABORAÇÃO DE UM MANUAL PARA MANEJO DE CULICÍDEOS EM INSETÁRIO

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas. Área de concentração: Biossegurança.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Fontenele Urano Carvalho.

Co-orientador: Pedro Matheus Sousa Tabosa.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- F883e Franca, Rute Xavier.
Elaboração de um manual para manejo de culicídeos em insetário / Rute Xavier Franca. – 2018.
66 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2018.
Orientação: Profa. Dra. Ana Fontenele Urano Carvalho.
Coorientação: Prof. Pedro Matheus Sousa Tabosa.
1. Biossegurança. 2. Boas Práticas Laboratoriais. 3. Aedes aegypti. I. Título.

CDD 570

RUTE XAVIER FRANCA

ELABORAÇÃO DE UM MANUAL PARA MANEJO DE CULICÍDEOS EM INSETÁRIO

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Ana Fontenele Urano Carvalho (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Luiz Carlos Almeida Filho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Francisco Ruliglésio Rocha
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais Antonio e Joana.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me permitido vivenciar tudo até aqui e ser meu caminho rumo ao céu. Sabendo que sou pequena e não saberia lidar com tudo que Ele planejou para mim, durante a graduação me presenteou com Sua Mãe que é meu refúgio e amparo e se hoje cheguei aonde estou, foi principalmente por Jesus pelas mãos de Nossa Senhora.

Aos meus pais Antonio e Joana, por lutarem pela minha felicidade. Por se abdicarem das suas vidas para sonharem comigo, por me oferecerem o conforto, os presentes e a melhor educação. Vocês me propiciaram tudo que tenho e o que conquistei e irei conquistar é tudo pelo os dois. Obrigada, por não permitirem eu desistir e serem minha fortaleza em todos os momentos.

À minha irmã Julia, por ser a minha fonte de risada, aprendizado e maior amor fraterno que eu possuo. Jujuba, você é uma das minhas principais apoiadoras durante o curso, com os seus ‘vai dar certo’ ou ‘já deu certo’, eu só posso dizer que isto também foi por você.

À minha enorme família, que é importante por quem eu sou hoje. Obrigada por todos os momentos vividos junto a vocês, ao amor dos meus avôs, ao carinho materno das minhas tias, as risadas que tive junto aos meus tios, ao amor de irmão dos meus primos, estes que foram meus primeiros e mais valiosos amigos, que me aconselham e me apoiam em minhas decisões.

Às minhas amigas de Ari de Sá, Érika Vilarouca, Mariana Oliveira e Rebeca Rocha, vocês fizeram parte de uma época de grandes saudades, mas que permanecem e se fazem constante no meu dia a dia. Obrigada por tudo.

Às pessoas que apareceram em momentos distintos na minha caminhada e que foram colocadas por Deus. Ao meu presente de primeiro amor O Elos de Cristo, esses amarelinhos que me apoiaram, ouviram e aconselharam. À Germana Morais, por ser ‘my person’, pelos cartões, conselhos e papos mais aleatórios. À Mayara Guerra, por ser a amiga psicóloga e sempre me fazer enxergar o outro lado das situações.

Ao meu mais querido “grupim” Quarto 8, que fizeram a faculdade ser bem mais agradável e até mais tranquila, obrigada pelas praias, aulas de campo, idas ao shopping e rodízios. À Andressa Pinheiro, pelas melhores risadas, à Cíntia Martins, pelas conversas e o “desein”, ao Heitor Miranda, pelas companhias nos trabalhos, ao Hugo Pereira, pelas conversas que foram decisivas para encaminhar a minha graduação, à Luisa Freires, pelos desabafos nas viagens de volta para casa, ao Pedro Arruda, por ser a primeira pessoa que se tornou meu amigo na biologia e todas as conversas aleatórias, à Virgínia Oliveira, pelas conversas sobre Harry

Potter e as sinceridades e por fim (mas nada menos importante) ao Yago Barros por ser o baixo astral mais legal de todo o mundo.

À professora Ana Fontenele U. Carvalho, por me receber no laboratório, por ser um exemplo de mulher no meio acadêmico, pelos conselhos, pelas conversas e histórias contadas, que foram fonte de motivação e risadas. À professora Érika Mota, por ser um exemplo de educadora e pessoa.

Ao Pedro Matheus Sousa, por aceitar me co-orientar e acompanhar nesse período. Obrigada por todas as risadas, as conversas sobre Disney, as cantorias e todos os ensinamentos. Você é um ótimo amigo e co-orientador e foi muito importante na minha formação acadêmica.

Aos amigos (colegas) do Bioprospec, Luiz Filho, Thiago Almeida, Joaquim Lopes, Emanuel Francelino, Chayenne Sá, Thaís Borges, Fernando César e Felipe Castro, pela harmoniosa convivência, conversas sobre os mais diversos assuntos, as companhias em shows e, principalmente as ajudas que me motivaram a encerrar mais um ciclo. Às minhas meninas, Joyce e Sergianne, que me ensinaram mais do que eu as tentei ensinar e me motivam na profissão que escolhi seguir, foram essenciais as nossas conversas sobre tudo, vocês têm um grandioso futuro. Ao (grande) Valdenor, pelas conversas, brincadeiras e o cuidado com o nosso espaço de trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Entomologia do NUVET, por serem fonte de conhecimento para este trabalho e na vida.

Aos membros dessa banca, professora Ana Fontenele, Luiz Filho e Ruliglésio Rocha por prontamente aceitarem o convite, dedicarem seu tempo a este trabalho e pelas considerações feitas.

Este trabalho foi realizado com o auxílio das seguintes instituições, órgãos e unidades:

Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará.

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará.

Departamento de Biologia, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará.

Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Núcleo de Controle de Vetores, Fortaleza, Ceará.

“Os mais belos pensamentos nada são sem as obras.” – Santa Teresinha.

RESUMO

As doenças infecciosas transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti*, tais quais a dengue, chikungunya e zika são um grande empecilho para o desenvolvimento urbano, respondendo por mais de um milhão de mortes no mundo. Só para a dengue há estimativas de que quase 50% da população mundial está em zona de risco para a infecção do vírus. Um dos combates mais eficientes para essas doenças acontece por meio do controle dos vetores com o uso de inseticidas químicos sintéticos. Entretanto, o uso contínuo e excessivo durante décadas para a contenção destes insetos causou o surgimento de populações resistentes a estes compostos, bem como, outros problemas para os seres humanos. Por isso, estudos para obtenção de ativos inseticidas, como aqueles presentes em vegetais, são importantes. E para que as pesquisas sejam realizadas com sucesso, segurança e se obtenham resultados confiáveis, são importantes os testes *in vivo*. Portanto, se faz necessário um local, como o insetário, para abrigar esses mosquitos de uma forma padronizada, para gerar resultados confiáveis e reprodutíveis. Dessa forma, o objetivo geral do presente trabalho foi a elaboração de um manual sobre procedimentos no manejo de culicídeos, em particular, do *Ae.aegypti*. Para tanto, além do levantamento bibliográfico, foram realizados treinamentos sobre os mais diversos aspectos da biologia do mosquito e da manutenção de sua colônia, em dois insetários de culicídeos, o do Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais, no Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará (Bioprospec) e o do Núcleo de Controle de Vetores (NUVET), da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará. Após a compilação das informações necessárias e o treinamento nos insetários, o manual foi confeccionado, abordando: o ciclo de vida do mosquito, as necessidades referentes a seu micro- e macroambiente, os métodos para coleta e armazenamento dos ovos, as boas práticas laboratoriais e o descarte de material biológico. O estabelecimento de um manual em diversas áreas se faz benéfico na padronização das técnicas e também como meio de informação para os profissionais do local. Durante a elaboração deste manual já foi possível observar melhorias no funcionamento do insetário e no próprio desenvolvimento do mosquito em laboratório. Por fim, sua confecção foi finalizada e espera-se que seja um importante meio de informação para estudantes e técnicos envolvidos com atividades de pesquisa que fazem uso de culicídeos.

Palavras-chave: Biossegurança, Boas Práticas Laboratoriais, *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

The infectious diseases transmitted by *Aedes aegypti*, such as dengue, chikungunya and zika are a major impediment to urban development, accounting for more than a million deaths worldwide. Just for dengue, there are estimates that almost 50% of the world population is at risk zone for virus infection. One of the most effective combat for these diseases is the control of the vectors by means of synthetic chemical insecticides. However, continuous and overuse of the insecticides for decades has led to the emergence of populations which are resistant to these compounds, as well as other problems for humans. Therefore, studies to obtain insecticidal actives, such as those present in plants, are important. In order for the research to be successful, safe and with reliable results, the in vivo test is important. Thus, insect facilities are needed to house such mosquitoes in a standardized manner and generate reliable and reproducible results. Therefore, the objective of the present work was the elaboration of a manual on procedures in the handling of Culicidae, in particular Ae. Aegypti. For this, a bibliographical survey and training on various aspects of mosquito biology and maintenance of its colony was carried out. The training was carried out at two Culicidae facilities, one at the Regional Resources Bioprospecting Laboratory, at the Biology Department of the Federal University of Ceará (Bioprospec) and the other at the Nucleus of Vector Control (NUVET) of the Health Secretariat of the State of Ceará. After compiling the necessary information and training in the insect houses, the manual was prepared, covering: the life cycle of the mosquito, the needs related to its micro- and macroenvironment, methods for collecting and storing eggs, good laboratory practices and the disposal of biological material. The establishment of a manual in several areas is beneficial in the standardization of techniques as well as a source of information for local professionals. Along the preparation of the Manual, we observed improvements in the insect facilities and important modifications in mosquito development in the laboratory. Finally, the manual was concluded and we hope it come to be an important information source for students and technicians involved in research activities that make use of Culicidae.

Keywords: Biosafety, Good Laboratory Practice, *Aedes aegypti*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Países ao redor do mundo suscetíveis ao <i>Aedes aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	15
Figura 2 – Ciclo de vida do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	17
Figura 3 – Capa do Manual	25

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Arboviroses e sua problemática na saúde pública	14
1.2	<i>Aedes</i> sp. e seu ciclo de vida	16
1.3	Estudos no controle do <i>Aedes aegypti</i>	18
1.4	Insetário	19
1.5	Importância do manual no Insetário	20
2	Objetivos	21
2.1	Objeto geral	21
2.2	Objetivos específicos	21
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	Levantamento bibliográfico	22
3.2	Treinamento no manejo de culicídeos	22
3.2.1	<i>Morfologia dos culicídeos</i>	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5	CONCLUSÃO	28
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
	APÊNDICE A – MANUAL DE PROCEDIMENTOS PARA MANEJO DE CULICÍDEOS	33

1 INTRODUÇÃO

1.1 Arboviroses e sua problemática na saúde pública

As doenças infecciosas emergentes são definidas como infecções que surgiram nas últimas duas décadas ou são futuras ameaças (VAN DOORN, 2014). Existem diversos fatores para o surgimento dessas doenças, dentre eles, a introdução e a rápida disseminação do patógeno na população humana, seguida por sua capacidade de ser mantida na natureza ou meio urbano (MAYER et al, 2017). Essa adaptação pode ser favorecida se um vetor que esteja presente no meio tenha capacidade de transmissão, como os insetos, que por diversos motivos estão cada vez mais ambientados ao meio.

Dentre os insetos, a introdução e o estabelecimento dos mosquitos foram facilitados pelo aumento da densidade populacional. Através da urbanização e do desenvolvimento de sistemas de transporte global, houve um aumento da exposição de humanos a esses mosquitos. Aliados a isso, a produção agrícola, a pecuária e o desmatamento generalizado se intensificaram em resposta às demandas de desenvolvimento industrial, urbanização e aumento da densidade populacional humana (GOULD et al, 2017; BALDACHINO et al, 2015). Essas ações invadiram o ambiente silvestre dos insetos, e assim, interferiram nas suas relações ecológicas, favorecendo a adaptação e domesticação de muitas espécies de artrópodes ao ambiente urbano.

Dentro do filo Arthropoda, os mosquitos da ordem Diptera são classificados como importantes vetores de doenças. Os principais gêneros transmissores são: o *Culex* e *Aedes*, que são vetores do vírus do Nilo Ocidental, febre amarela, dengue, chikungunya e zika. Estas doenças virais transmitidas por insetos são denominadas de arboviroses e estima-se que, somente sobre o predomínio da dengue, quase 4 bilhões de pessoas, em 128 países, estão em áreas de risco, as quais são predominantemente regiões tropicais. No entanto, estão aparecendo com mais frequência no mundo antigo e na América do Norte, com a domesticação dos vetores influenciando na epidemiologia das doenças (MERLE et al, 2018; WHO, 2018).

Dentre as doenças transmitidas por esses vetores, a chikungunya (CHIKV) é uma doença causada por um arbovírus do gênero *Alphavirus*, da família *Togaviridae*. Este vírus foi reconhecido pela primeira vez como um patógeno humano durante a década de 1950 na África, e desde então, casos foram identificados em muitos países da África e Ásia. Seus principais sintomas são febre e fortes dores nas articulações (STAPLES et al, 2018; MAYER et al, 2017).

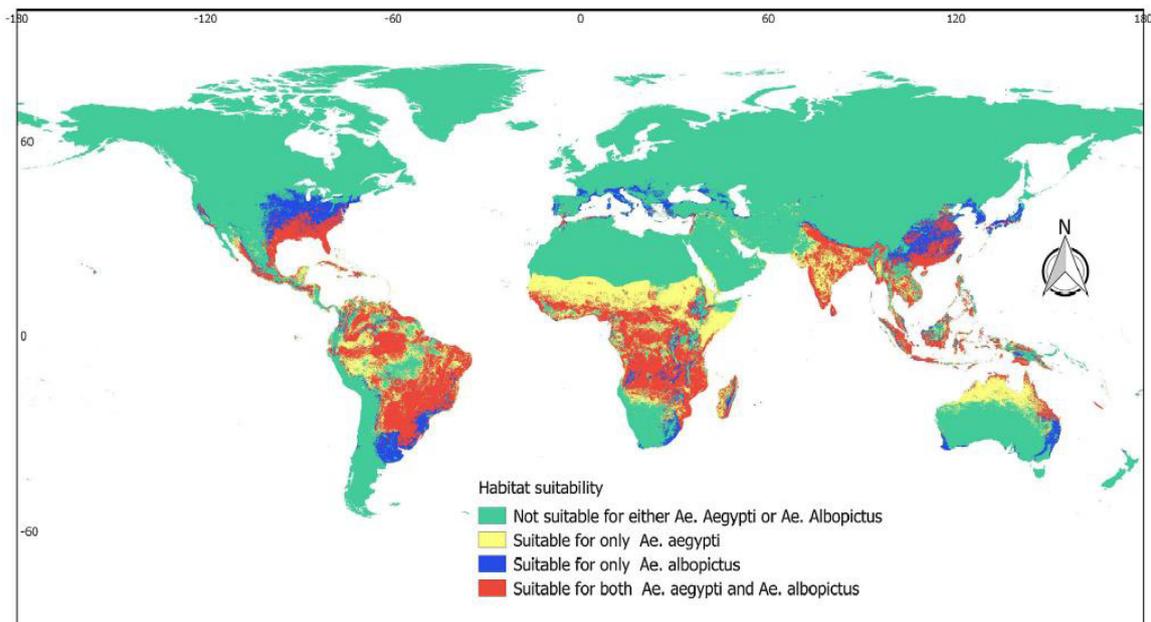
Além do CHIKV, o Zika vírus (ZIKV) é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, da

família *Flaviviridae*, que está expandindo rapidamente sua distribuição geográfica e foi recentemente introduzido em áreas não relatadas anteriormente, pode ser encontrado na maioria dos países do hemisfério sul (OESER; LADHANI, 2018). A doença é caracterizada por uma ampla gama de sintomas clínicos, incluindo febre, erupção cutânea, cefaleia, dor retro-orbital, mialgia, artrite ou artralgia, conjuntivite e vômitos (MAYER et al, 2017).

Outro arbovírus bem estudado da família *Flaviviridae* é o vírus da dengue. Este possui quatro sorotipos (DENV 1, DENV 2, DENV 3 e DENV4), que compartilham o mesmo ciclo de transmissão. A doença causada por este vírus é grande preocupação na saúde pública em áreas tropicais e, algumas subtropicais (SAVARGAONKAR et al, 2018). Esse grupo de vírus causa a maioria das doenças humanas, utilizando exclusivamente humanos como hospedeiros de reservatório e amplificação (WEAVER; REISEN, 2010).

Dentre os arbovírus descritos, o *Aedes* sp. é um vetor comum ao homem. Duas espécies são mais presentes, o *Ae. aegypti* que vive em uma íntima associação com a população humana, com isso sendo o principal vetor, e o *Ae. albopictus* sendo um vetor secundário em locais com uma mata silvestre mais presente (Figura 1) (WEAVER, 2013).

Figura 1: Territórios ao redor do mundo suscetível ao *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*.



Fonte: Leta et al, 2018.

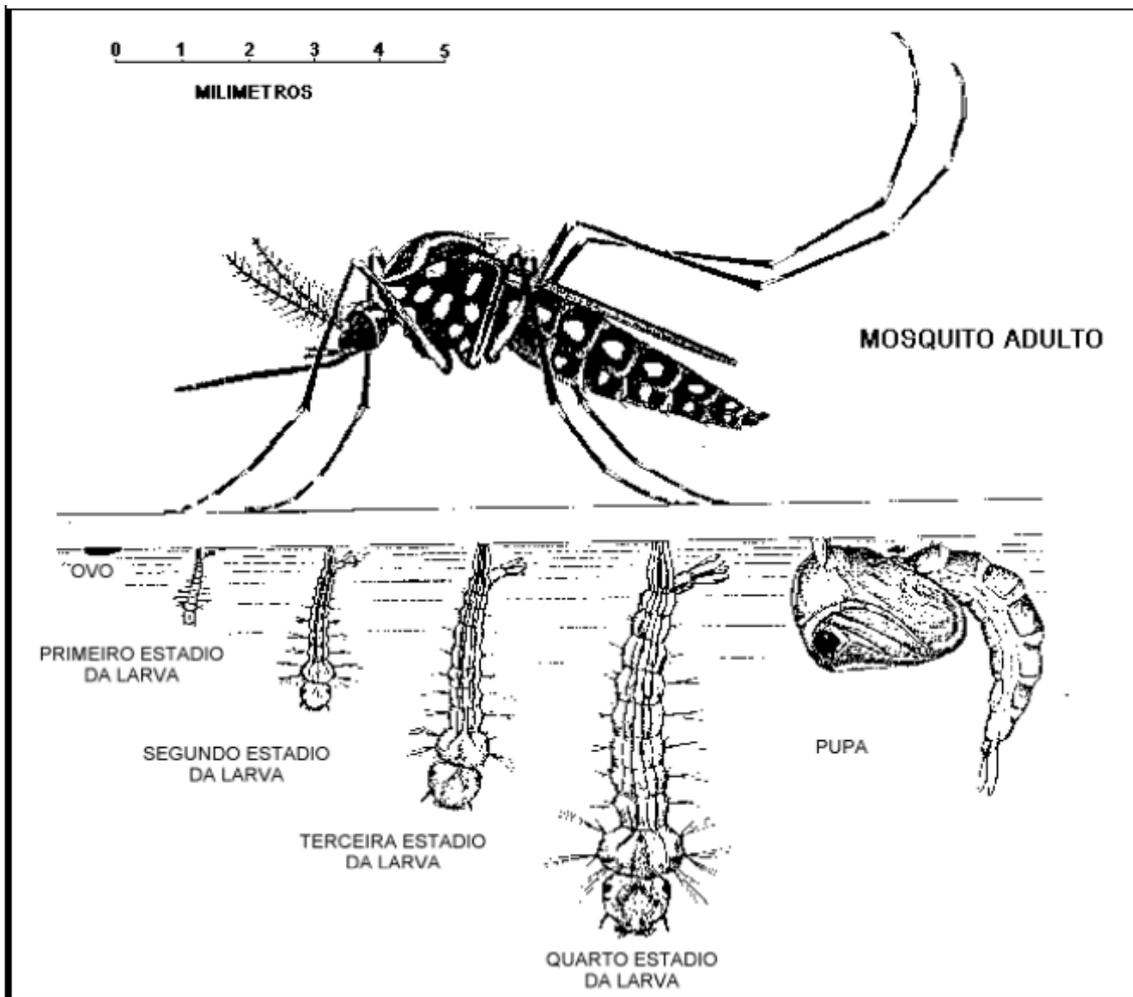
1.2 *Aedes aegypti* e seu ciclo de vida

O mosquito *Ae. aegypti* está presente em todos os estados brasileiros e é o principal mosquito transmissor da tripla epidemia: dengue, chikungunya e zika. O *Ae. aegypti* é uma espécie cosmopolita encontrada principalmente em ambientes tropicais e subtropicais, pois são esses locais onde as condições climáticas e sociais favoreceram o seu desenvolvimento (CARVALHO; MOREIRA, 2017; DAVID et al, 2009; KRAEMER et al, 2015).

Por causa da sua alimentação hematófaga, esse mosquito se associou facilmente à habitação humana. Isso porque possui preferência pelo sangue humano e de ovopositar em recipientes gerados pela população. Esses criadouros artificiais tendem a acumular água e serem vantajosos para propagação desse mosquito. Compreendem garrafas, baldes ou vasos de plantas abandonados, piscinas, caixas d'água, entre outros. (MESSIAS, 2011; FOSTER; WALKER, 2002; JANSEN; BEEBE, 2010).

O ciclo de vida dos culicídeos compreende uma fase aquática e uma fase terrestre/aérea (Figura 2). Como uma espécie pertencente à família Culicidae, o *Ae. aegypti* possui metamorfose completa, isto é, trata-se de um inseto holometábolo. Seu ciclo de vida dura entre 2 a 4 semanas, passando por estágios de ovo, de 4 estádios larvais (L1, L2, L3 e L4), de pupa e, por fim, de adulto alado. Além da diferença morfológica entre os dois estágios aquáticos, a pupa não se alimenta, enquanto as larvas fazem filtração para obtenção de nutrientes. Já o inseto adulto possui dois tipos de alimentação, machos e fêmeas se alimentam de substâncias açucaradas, como seivas de árvores, e somente as fêmeas se alimentam de sangue para realização da postura de ovos (FOSTER; WALKER, 2002; REY, 2010; ANJOLETTE; MACORIS, 2013).

Figura 2: Ciclo de vida da espécie *Aedes aegypti*.



Fonte: Unicamp (2010).

1.3 Estudos no controle do *Aedes aegypti*

Com as ocorrências epidêmicas das arboviroses, o meio principal para seu controle ainda consiste do controle do mosquito vetor. Por isso, ao decorrer das décadas, foram desenvolvidos diversos métodos para conter as populações de mosquitos, entre eles, o uso de compostos químicos sintéticos, com ação inseticida. Os grupos mais utilizados são os organoclorados, organofosforados e os piretroides. Contudo, foram relatados diversos problemas quanto ao seu uso, principalmente pela utilização indiscriminada e sucessiva. Dentre os problemas, destacam-se sua ação não específica e seu acúmulo no meio ambiente e o surgimento de populações resistentes. Essa resistência é uma prova de adaptação evolutiva, onde os inseticidas acumulados nos ambientes em doses subletais atuam como poderosos fatores de pressão seletiva, favorecendo o surgimento de populações resistentes que estavam presentes em baixas frequências na população original (OLIVEIRA et al, 2016; SILVA AUGUSTO et al, 2016; TIAN; RUAN, 2017).

Diante deste cenário, estudos alternativos para conter a dispersão desses insetos são importantes. Os metabólitos presentes nos compostos vegetais se destacam como agentes biodegradáveis e, possivelmente, mais específicos na sua ação contra larvas de mosquitos, ovos, pupas e adultos, além de serem considerados alternativas importantes para uso em programas de rotação visando prevenir o surgimento de insetos resistentes. Em um trabalho recente, foi investigada a ação do efeito do inibidor de tripsina de sementes de *Leucaena leucocephala* (LITI) frente à eclosão de ovos, desenvolvimento de larvas e proteases intestinais digestivas (ALMEIDA FILHO, 2016). Similarmente, em outro estudo, compostos metabólitos presentes nas sementes de *Moringa oleifera*, como lectinas, apresentaram uma forte ação larvicida (OLIVEIRA et al, 2016).

Em outra pesquisa, foi relatada a capacidade pesticida de um filme biológico, contendo o extrato de *Piper ovatum* em uma base polimérica hidrofílica e biodegradável, com ação na morfologia do inseto. O aumento da relação superfície-volume desse biofilme aumentou a atividade larvicida, tornando-se uma provável alternativa para prevenção da reprodução de mosquitos em locais com potencial acúmulo de água (KANIS et al, 2018).

Além das proteínas tóxicas de plantas, a bactéria *Bacillus thuringiensis* produz proteínas inseticidas denominadas toxinas Cry, que possuem potencial inseticida frente a algumas ordens de insetos (SOBERÓN et al, 2018). Essas toxinas são usadas em todo o mundo como ‘sprays’ ou são expressas em algumas culturas transgênicas. As toxinas Cry são especialmente úteis devido à sua alta especificidade a determinados grupos de insetos e são

inofensivas para os seres humanos (PARDÓ-LOPEZ et al, 2009).

Portanto, para o desenvolvimento de métodos alternativos, pesquisados *in vivo* fazendo uso de organismos vetores, há a necessidade de insetários que produzam e mantenham padronizadas colônias de insetos, como o *Ae. aegypti*.

1.4 Insetário

Por definição, o insetário é o local onde há a criação e a manutenção de insetos, para posteriormente serem utilizados em experimentos, tal qual um biotério. Neste ambiente, são executadas atividades de manutenção de diferentes colônias, estudos comportamentais, estudos populacionais, de interação vetor-parasito, de susceptibilidade de populações naturais de culicídeos e de verificação de atividade de produtos ovicidas, larvicidas, pupicidas e adulticidas (FIOCRUZ, 2010).

Assim, como um biotério de vertebrados, um insetário necessita de cuidados específicos da espécie que é mantida neste local. Para um bom funcionamento do espaço, deve-se estar atento a essas particularidades, que influenciam no bem-estar do animal, tais como: os parâmetros ambientais físicos, os materiais utilizados, a poluição sonora e aérea, a fonte de alimentação e de água. A falta de conhecimento dessas peculiaridades tem por consequência a dificuldade na manutenção, de forma padronizada, dos insetos nesses ambientes (ADEGAS et al., 2005).

Com isso, organizações como o Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicaram manuais de biossegurança laboratoriais, fornecendo orientação prática sobre técnicas de biossegurança (WHO, 2004; CTBIO - FIOCRUZ, 2005). Estes informam que o insetário deve ser projetado de acordo com o nível de biossegurança determinado pelo grupo de risco do patógeno do qual o artrópode é vetor. Além disso, são necessários cuidados apropriados para gerenciar vetores infectados, incluindo condições de contenção nas quais os agentes infecciosos devem ser manuseados com segurança, por exemplo, múltiplas portas, cabine de chuveiro, entre outros (OTE; KANUKA, 2018).

1.5 Importância do manual para um insetário

O manual pode ser definido como um instrumento que tem o objetivo de regulamentar uma instituição, um sistema ou uma atividade, de forma a guiar os agentes integrantes do processo, seja na condição de executores ou na condição de clientes ou usuários (FREITAS; GUARESHI, 2012). Este também é uma revisão de informações dos procedimentos, atuando como um instrumento facilitador no funcionamento do trabalho, sendo um meio de consulta, e com isso padronizando as técnicas realizadas. Portanto, o uso desse modo de informação em laboratório tende a introduzir conceitos básicos de segurança biológica e elaborar códigos nacionais de procedimentos, obtendo assim, um manuseamento seguro dos patógenos (WHO, 2004).

Visto isso, percebe-se a necessidade de se elaborar um manual sobre o manejo de culicídeos, pois este pode auxiliar no treinamento de novos estudantes e/ou técnicos do Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais da Universidade Federal do Ceará, uma vez que este conterá parâmetros para o funcionamento e desenvolvimento do insetário.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Elaborar um manual sobre os métodos e procedimentos no manejo de culicídeos em insetário, em particular, de *Ae.aegypti*.

2.2 Objetivos específicos

- Revisar as normas de Biossegurança para insetários;
- Revisar o ciclo de vida do mosquito *Ae.aegypti*;
- Revisar as necessidades de alimentação e nutrição do mosquito;
- Analisar a importância do microambiente dos culicídeos (gaiolas para insetos adultos e bandejas para larvas e pupas, fonte de alimentação, fonte de água, local para oviposiçãoetc);
- Analisar a importância do macroambiente dos culicídeos (temperatura ambiente, umidade relativa do ar, cor das paredes, isolamento do local com portas duplas e com tela etc);
- Revisar o método para coleta e armazenamento dos ovos;
- Revisar as boas práticas laboratoriais para manuseio e descarte de material biológico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A construção do manual, levando em consideração as necessidades fisiológicas do mosquito e as boas práticas laboratoriais para a biossegurança do insetário, deu-se em dois passos. Primeiro, foi feito o levantamento bibliográfico sobre as normas de biossegurança em laboratório com manuseio de vetores, o ciclo de vida, desenvolvimento, as características ambientais e fisiológicas dos culicídeos, com foco no *Aedes aegypti*. Segundo, foi realizado treinamento em dois insetários, afim de aprender e aprimorar técnicas na manutenção desses culicídeos.

3.1 Revisão bibliográfica

A pesquisa bibliográfica foi realizada por meio de artigos científicos (bases de dados, tais como o ‘Science direct’ e o ‘Web of Science’), esta busca foi realizada entre abril e outubro de 2018, as palavras-chave utilizadas foram: *Aedes aegypti*, “ecology”, “insect house”, “good laboratory practice”, “guide”. Para este levantamento, também foram usados livros com enfoque em insetos vetores (e.g., Bases de parasitologia médica, Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores, Enciclopédia dos Insetos) e manuais e guias de orientação de Biossegurança em laboratório (Procedimentos para a manipulação de microorganismo patogênico e/ou recombinantes na FIOCRUZ, Manual de Segurança Biológica em Laboratório etc) (REY, 2010; NÚNCIO; ALVES, 2014; RESH; CARDÉ, 2009; CTBIO – FIOCRUZ, 2005; WHO, 2004).

3.2 Treinamento no manejo e manutenção de culicídeos

Em conjunto com o levantamento bibliográfico, foram realizados treinamentos em dois insetários localizados em Fortaleza/CE. O primeiro foi realizado no Insetário de Culicídeos do Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais (Bioprospec, Biologia, UFC), com foco na espécie *Ae. aegypti*, supervisionado pela orientadora e pós-graduandos do Programa de Pós-graduação em Bioquímica. O segundo local de treinamento foi visitado na ocasião do desenvolvimento das atividades da disciplina CH0894 Estágio supervisionado II, que ocorreu no Insetário de Culicídeos do Núcleo de Controle de Vetores (NUVET) da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, supervisionado pelo chefe do Laboratório de Entomologia.

Em ambos os locais foram abordados e observados os seguintes aspectos: ciclo de vida do mosquito, alimentação, alojamento das fases imaturas e adulta, obtenção dos ovos, descarte de material biológico, monitoramento das instalações e boas práticas laboratoriais.

3.2.1 Morfologia dos culicídeos

No NUVET, para se iniciar o treinamento foi realizado um curso prático para a diferenciação dos culicídeos em estágios larval, pupal e de adulto, com duração de uma semana (16 horas). Por meio da microscopia foram observadas lâminas de diversas espécies dos gêneros *Aedes* e *Culex*, evidenciando características que diferenciam as espécies, principalmente na sua fase larval.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O manual foi desenvolvido após o levantamento bibliográfico e treinamentos em insetário. O documento elaborado foi intitulado como “Manual de procedimentos para manejo de culicídeos”. O documento encontra-se anexado a este trabalho (Apêndice A), contém 26 páginas, e aborda o desenvolvimento dos mosquitos, conceito e normas gerais de biossegurança, normas específicas de segurança biológica em insetário, os procedimentos para manutenção de micro- e macroambientes e, por fim, o descarte do material biológico (Figura 3).

As metodologias que proporcionaram bons resultados frente ao desenvolvimento das fases dos mosquitos foram descritas nesse documento. Sendo assim, padronizaram-se as técnicas para eficiência no manuseio dos insetos e disponibilizando uma fonte de formação a ser utilizada para futuros integrantes do Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais e para outros grupos interessados na temática. Esses tópicos contemplam aspectos importantes que devem ser observados pelo responsável nos trabalhos do insetário, tais como os parâmetros de temperatura, umidade relativa do ar, alimentação e reprodução dos mosquitos.

O estabelecimento do uso de manual é descrito em diversos âmbitos profissionais, tal qual o seu benefício nas atividades do ambiente utilizado. O seu uso é contemplado em diversas áreas, tais como administrativa, médica e educacional. Em cada local, o foco deste manual se difere, contudo todos visam na eficiência operacional dos seus públicos alvo (FREITAS; GUARESHI, 2012).

Na área médica, este tipo de documento pode ser utilizado como um guia para treinamento de novos médicos em procedimentos complexos, tal como o manual que detalha o processo de dissecação da substância branca cerebral, destacando etapas consecutivas de dissecação e enfatizando comentários técnicos importantes, facilitando assim a realização deste método. A dissecação de fibra é um método importante para adquirir conhecimentos neurológicos e com auxílio de estudos modernos. A progressão no entendimento sobre a arquitetura cerebral colabora para o melhoramento e inovação de abordagens cirúrgicas. Nessa situação, o estudo fornece um guia de dissecação concentrado e simplificado para os novos neurocirurgiões que devem ser encorajados a realizar este procedimento em laboratórios de microneurocirurgia como parte de seu treinamento padrão (KOUTSARNAKIS et al, 2015).

Figura 3: Capa Manual de procedimentos para manejo de culicídeos.



Fonte: Manual de procedimentos para manejo de culicídeos (2018).

No âmbito educacional, o manual pode ser utilizado em laboratórios de ensino. Esses locais devem dispor de um guia com procedimentos operacionais padrão (POPs), contendo normas gerais de segurança e técnicas laboratoriais básicas. Para que, em conjunto com o responsável do laboratório, possa ser transmitido aos alunos os procedimentos corretos de trabalho e as atitudes que necessitam possuir para evitar possíveis acidentes (SAVOY, 2003).

Estudos que viabilizaram a identificação dos riscos no Laboratório de Ensino em Físico-Química contribuíram para a implementação e continuidade do Programa de Prevenção de Riscos Ambientais (PPRA) e o Programa de Gestão de Riscos Químicos (PGRQ). Estes manuais auxiliam na redução de riscos químicos, dessa forma sendo uma ferramenta para uma menor geração de resíduos e resultando em menos danos ocupacionais aos funcionários e os estudantes que frequentam este ambiente de ensino (CHICANOSKI, 2016).

Durante o desenvolvimento do manual proposto, foram observadas lacunas na manutenção do insetário do laboratório Bioprospec, como a produção de ovos inférteis. Isto acontecia, pois o repasto sanguíneo era feito com fêmeas imaturas e maduras, ou seja, os mosquitos que tinham recentemente emergido da fase pupal também copulavam e se alimentavam, tal qual uma fêmea madura, resultando assim em coleta de ovos inviáveis. A solução encontrada para esse problema foi a preparação de um gaiola somente para a produção de ovos e sem o recebimento de novos indivíduos para eclosão. Esta ação resultou em cartelas de ovos preenchidas e férteis. Seguindo assim, melhorias e modificações nos procedimentos no manejo destes foram feitas.

Além disso, outra medida foi obtida através da elaboração do guia, o estabelecimento do nível de segurança biológica (NB) do insetário. Este era definido como NB – 1, onde ocorrem procedimentos e manuseio de organismos geneticamente modificados (OGMs) e seus derivados de classe de risco 1, possuindo baixo ou nenhum risco de transmissão. Sabendo que, geralmente o NB local é classificado de acordo com a classe de risco do agente patogênico com que se trabalha, e considerando-se a patogenicidade dos vírus dos quais o *Aedes* é vetor, de classe de risco 2, o local deve ser classificado em nível de biossegurança 2 (NB-2) (ADEGAS et al, 2005; BRASIL, 2017, p. 51).

De acordo com o capítulo VIII “Das Instalações Físicas e Procedimentos em Contenção para Atividades e Projetos com Animais Vertebrados ou Invertebrados Geneticamente Modificados” da Resolução Normativa Nº 18 / 2018 da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio):

Art. 22 As instalações de contenção para atividades e projetos com animais geneticamente modificados incluem biotério, insetário, tanque de aquicultura, curral, aviário, infectório, e todo e qualquer ambiente destinado à criação ou experimentação.

§ 3º Atividades em contenção envolvendo invertebrados geneticamente modificados que sejam vetores biológicos de agentes causadores de agravos à saúde do homem, dos animais, dos vegetais ou ao meio ambiente devem atender às normas de biossegurança exigidas para NB-2.

Ainda que a CTNBio só regulamente os organismos geneticamente modificados, as práticas e procedimentos de contenção são os mesmos para os não geneticamente modificados, para que se evite o escape dos animais do insetário. Com esta mudança, o insetário do laboratório de Bioprospecção irá se adaptar às medidas necessárias requeridas para um ambiente classificado como NB – 2. Para esse fim, recursos oriundos do Programa de Pesquisa Para o SUS (PPSUS), que contemplou o projeto “Combate químico ao vetor da Dengue, Chikungunya e Zika: aprimoramento e desenvolvimento de produtos repelentes e larvicidas derivados de plantas da Caatinga” serão utilizados para financiar os ajustes necessários no insetário, (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Em um local classificado como NB-2, os tipos de contenção dos microrganismos de classe de risco 2 compreenderão as boas práticas laboratoriais adequadas (BPLs), uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) e cabine de segurança biológica, como barreiras físicas (HIRATA; FILHO, 2014). Este último contempla as instalações necessárias para evitar a fuga e/ou conter os mosquitos, por exemplo porta-dupla, cortina de vento na última porta de acesso e vedação de possíveis esconderijos.

CONCLUSÃO

A análise bibliográfica e o treinamento em laboratórios de Entomologia com experiência em insetários de culicídeos, como o NUVET e o Bioprospec, serviram como base para a elaboração de um manual intitulado “Manual de procedimentos para manejo de culicídeos”, que consistiu em apresentar os culicídeos como vetores de doenças, as normas de biossegurança em insetários, além de descrever o macro- e microambiente dos culicídeos e destacar os procedimentos para manejo dos ovos, da fase aquática e da fase terrestre/aérea desses organismos, como também o descarte biológico adequado. Espera-se que este manual seja utilizado para atualização e padronização dos procedimentos na manutenção dos culicídeos no insetário do Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais e, possivelmente, em outros insetários semelhantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEGAS, M. G.; BARROSO-KRAUSE, C.; LIMA, J. B. P.; VALLE, D. **Parâmetros de biossegurança para insetários e infectórios de vetores**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ. 64 p., 2005.
- ALMEIDA FILHO, L. C. P.; SOUZA, T. M.; TABOSA, P.; SOARES, N.G.; ROCHA-BEZERRA, L. C.; VASCONCELOS, I.M.; CARVALHO, A. F. Trypsin inhibitor from *Leucaena leucocephala* seeds delay and disrupts the development of *Aedes aegypti*, a multiple-disease vector. **Pest Management Science**, 2016.
- ANJOLETTE, A. F. F.; MACORIS, M. L.G. Técnicas para manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório. **Superintendência de Controle de Endemias de Marília**. São Paulo, v. 156, n. 13, p. 19-29, 2016.
- BALDACCHINO, F.; CAPUTO, B.; CHANDRE, F.; DRAGO, A.; DELLA TORRE, A.; MONTARSI, F.; RIZZOLI, A. Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: a review. **Pest management science**, v. 71, n. 11, p. 1471-1485, abr. 2015.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS. DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com agentes biológicos**. 3 ed, 2006. 70 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.349/17**. Rel. Ministro de Estado da Saúde. Brasília, DF, 14 de setembro de 2017. Diário Oficial da União, Brasília-DF, 22 de setembro de 2017. Disponível em: <http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19308017/do1-2017-09-22-portaria-n-2-349-de-14-de-setembro-de-2017--19307768>. Acesso em: 10 de novembro de 2018.
- BRASIL. Resolução nº 2, de 27 de novembro de 2006. Regulamenta no âmbito federal, dispositivos da Resolução Nº 18, de 23 de março de 2018 que dispõe sobre a classificação de riscos de Organismos Geneticamente Modificados (OGM) e os níveis de biossegurança a serem aplicados nas atividades e projetos com OGM e seus derivados em contenção. **MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA – CTNBIO**.
- CARVALHO, F. D.; MOREIRA, L. A. Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so Successful as a Species?. **Neotropical entomology**, v. 46, n. 3, p. 243-255, 2017.
- CHICANOSKI, M. C. P. **Diagnóstico de riscos e resíduos químicos para o Laboratório De Ensino em Físico-Química: proposta de manual de segurança e gerenciamento de resíduos químicos**. 2016. Departamento de Economia Rural e Extensão, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. 2016.
- COMISSÃO TÉCNICA DE BIOSSEGURANÇA DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ. **Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ. 221 p., 2005.

DAVID, M. R.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; FREITAS, R. M. Container productivity, daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* mosquitoes in a high income dengue epidemic neighbourhood of Rio de Janeiro: presumed influence of differential urban structure on mosquito biology. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 6, p. 927-932, 2009.

FOSTER, W. A.; WALKER, E. D. Mosquitos (Culicidae). **Entomologia médica e veterinária**. p. 203-262, 2002.

FREITAS, S. L.; GUARESCHI, H. M. A Padronização de processos no serviço público através do uso de manuais, a viabilidade do manual de eventos da UTFPR–Campus de Francisco Beltrão. **Revista Organização Sistêmica**, v. 2, n. 1, p. 57-81, 2012.

GOULD, E.; PETERSSON, J.; HIGGS, S.; CHARREL, R.; DE LAMBALLERIE, X. Emerging arboviruses: why today?. **One Health**, v. 4, p. 1-13, 2017.

HIRATA, M. H.; FILHO, J. M. **Manual de biossegurança**. 2. ed. Barueri, SP: Manole. 356 p., 2014

Inetário. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, Pernambuco, 2 jun. 2010. Disponível em:<http://www.cpqam.fiocruz.br/index.php?option=com_k2&view=item&layout=item&id=159&Itemid=5> Acesso em: 6 nov. 2018.

JANSEN, C. C.; BEEBE, N. W. The dengue vector *Aedes aegypti*: what comes next. **Microbes and infection**, v. 12, n. 4, p. 272-279, 2010.

KANIS, L. A.; RABELO, B. D.; MOTERLE, D.; CUSTÓDIO, K. M; OLIVEIRA, J. G.; LEMOS, A. B.; SILVA, O. S.; ZEPON, K.M.; MAGNAGO, R. F.; PROPHIRO, J. S. *Piper ovatum* (Piperaceae) extract/starch-cellulose films to control *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Culturas e Produtos Industriais**, v. 122, p. 148-155, 2018.

KOUTSARNAKIS, C.; LIAKOS, F.; KALYVAS, A. V.; SAKAS, D. E.; STRANJALIS, G. A laboratory manual for stepwise cerebral white matter fiber dissection. **World neurosurgery**, v. 84, n. 2, p. 483-493, 2015.

KRAEMER, M. U.; SINKA, M. E.; DUDA, K. A.; MYLINE, U.; SHEARER, F. M.; BRADY, J. O.; MESSINANA, J. P.; BARKER, C. M.; MOORE, C. G.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E.; VAN BORTEL, W.; HENDRICKX, G.; SCHAFFNER, F.; WINT, G.R.; ELYAZAR, I. R.; TENG, H. J.; HAY, S. I. The global compendium of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* occurrence. **Scientific data**, v. 2, p. 150035, 2015.

LETA, S.; BEYENE, T. J.; DE CLERCQ, E. M.; AMENU, K.; KRAEMER, M. U.; REVIE, C. W. Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 67, p. 25-35, 2018.

MAYER, S. V.; TESH, R. B.; VASILAKIS, N. The emergence of arthropod-borne viral diseases: A global prospective on dengue, chikungunya and zika fevers. **Acta tropica**, v. 166, p. 155-163, 2017.

MERLE, H.; DONNIO, A.; JEAN-CHARLES, A.; GUYOMARCH, J.; HAGE, R.; NAJIOULLAH, F.; CÉSAIRE, R.; CABIÉ, A. Ocular manifestations of emerging arboviruses: Dengue fever, Chikungunya, Zika virus, West Nile virus, and yellow fever. **Journal Français d'Ophthalmologie**, 2018.

MESSIAS, M. C. **Vivendo com os insetos**. 22 ed. Rio de Janeiro, RJ: Biomanguinhos/FIOCRUZ. 120 p., 2011.

NÚNCIO, M. S.; ALVES, M. J. Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores. Lisboa. 186 p., 2014.

OESER, C.; LADHANI, S. An update on Zika Virus and Congenital Zika Syndrome. **Paediatrics and Child Health**, 2018.

OLIVEIRA, A. P. S.; SILVA, L. L. S.; LIMA, T. A.; PONTUAL, E. V; SANTOS, N. D. L.; COELHO, L. C. B. B; NAVARRO, D. M. A. F; ZINGALI, R. B; NAPOLEÃO, T. H.; PAIVA, P. M. G. Biotechnological value of Moringa oleifera seed cake as source of insecticidal lectin against *Aedes aegypti*. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 10, p. 1683-1690, 2016.

OTE, M.; KANUKA, H. A highly secure method for rearing *Aedes aegypti* mosquitoes. **Tropical medicine and health**, v. 46, n. 1, p. 16, 2018.

PARDO-LÓPEZ, L; MUNÓZ-GARAY, C; PORTA, H; RODRÍGUEZ-ALMAZÁN, C; SOBERÓN, M; BRAVO, A. Strategies to improve the insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins. **Peptides**, v. 30, pp. 589-595, 2009.

REBERTE, L. M.; HOGA, L. A. K; GOMES, A. L. Z. O processo de construção de material educativo para a promoção da saúde da gestante. **Revisão Latino-Americana de Enfermagem**, v. 20, n. 1, p. 101-108, 2012.

RESH, V. H. ; CARDÉ, R. T. **Encyclopedia of insects**. 2 ed. Academic Press. 1169 p., 2009.

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. 3. ed. São Paulo: Guanabara Koogan. 427 p., 2010.

SAVARGAONKAR, D.; SINHA, S.; SRIVASTAVA, B.; NAGPAL, B. N.; SINHA, A.; SHAMIM, A.; DAS, R.; PANDE, V.; ANVIKAR, A. R.; VALECHA, N. . An epidemiological study of dengue and its coinfections in Delhi. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 74, p. 41-46, 2018.

SAVOY, V. L. Noções básicas de organização e segurança em laboratórios químicos. **Biológico, São Paulo**, v. 65, n. 1/2, p. 47-49, 2003.

SILVA AUGUSTO, L. G.; GURGEL, A. M; DIDERICHSEN, F.; LACAZ, F. A; PARRAHENAO, G.; RIGOTTO, R. M; NODARI, R. *Aedes aegypti* control in Brazil. **The Lancet**, v. 387, n. 10023, p. 1052-1053, 2016.

SOBERÓN, M.; PORTUGAL, L.; GARCIA-GÓMEZ, B. I; SÁNCHEZ, J.; ONOFRE, J.; GÓMEZ, I.; PACHECO, S.; BRAVO, A. Cell lines as models for the study of Cry toxins from *Bacillus thuringiensis*. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 93, p. 66-78, 2017.

STAPLES, J. E; POWERS, A. M. *Togaviridae: Alphaviruses*. In: **Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases**. 5 ed. p. 1126-1128. 2018.

TIAN, C.; RUAN, S. A free boundary problem for *Aedes aegypti* mosquito invasion. **Applied Mathematical Modelling**, v. 46, p. 203-217, 2017.

VAN DOORN, H. R. Emerging infectious diseases. **Medicine**, v. 42, n. 1, p. 60-63, 2014.

Vector-borne diseases. WORLD HEALTH ORGANIZATION, Geneva, 31 out. 2017.
Disponível em: < <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>>
Acesso em: 30 out. 2018.

WEAVER, S. C. Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention. **Trends in microbiology**, v. 21, n. 8, p. 360-363, 2013.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral research**, v. 85, n. 2, p. 328-345, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Manual de segurança biológica em laboratório**. 3. ed. Califórnia. 215 p., 2004.

**APÉNDICE A – MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA MANEJO DE
CULICÍDEOS**



MANUAL DE PROCEDIMENTOS PARA MANEJO DE CULICÍDEOS

Rute Xavier Franca



FORTALEZA

2018

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	3
1	CULICÍDEOS COMO VETORES	5
1.1	<i>Aedes aegypti</i>	7
1.2	<i>Culex quinquefasciatus</i>	9
2	BIOSSEGURANÇA – CONCEITO	10
2.1	Normas básicas para o trabalho em laboratório	10
2.2	Classificação do agente com relação ao seu potencial patológico	11
2.3	Determinação do Nível de Biossegurança	12
2.4	Nível de Biossegurança 2	13
2.4.1	Procedimentos-padrão de laboratório	13
2.4.2	Práticas adicionais	14
2.4.3	Equipamentos de contenção	14
2.4.4	Instalações laboratoriais	14
3	BIOSSEGURANÇA EM INSETÁRIO	17
3.1	Boas práticas laboratoriais em Insetário	17
3.2	Instalações	18
3.3	Sinalização de Biossegurança	19
4	MACRO E MICROAMBIENTE DOS CULICÍDEOS	21
4.1	Macroambiente	21
4.2	Microambiente	21
4.2.1	Manejo dos ovos	21
4.2.2	Fase aquática	22
4.2.3	Fase terrestre/aérea	22

5	DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO	24
	Referências bibliográficas	25
	Apêndice A – Figuras	27
	Apêndice B	30
	Anexo A – Mapa de Risco	31
	Anexo B FISPQ	32

INTRODUÇÃO

A globalização e o movimento humano junto com as mudanças ambientais facilitaram a introdução e o estabelecimento de mosquitos invasores em diversos países (BALDACCHINO, 2015). A adaptação de insetos, como os culicídeos, ao ambiente urbano trouxe uma problemática à saúde pública, pois estes podem ser vetores de diversas doenças. Assim, o grupo dos culicídeos são importantes diante do ponto de vista médico e veterinário (OSÓRIO, 2014).

A família Culicidae, dividida em três subfamílias (Anophelinae, Culicinae e Toxorhynchitinae), está integrada na subordem Nematocera, ordem Diptera, da classe Insecta, do Filo Arthropoda. A ordem Diptera possui grande variedade de pequenos e grandes insetos, tais como os mosquitos e moscas, com cabeça, tórax e abdome bem diferenciados, providos de aparelho bucal sugador e de um único par de asas. São holometábolos, isto é, evoluem com metamorfose completa, passam pelas fases ovo, larva (com quatro estádios), pupa e inseto adulto alado (REY, 2010).

Na ordem Diptera são encontrados importantes hospedeiros intermediários e transmissores de doenças causadas por **vírus** (febre amarela e dengue) chamadas de arboviroses; **protozoários** (malária e leishmaniose) e **helmintos** (filaríase linfática) (REY, 2010). As arboviroses dengue, chikungunya e zika são de grande atenção da saúde, principalmente em países tropicais, pois o seu principal vetor, *Aedes aegypti*, é apto ao clima dessas regiões. Contudo, já é citado a incidência deste mosquito em regiões subtropicais (FOSTER; WALKER, 2002). Esse mosquito adquiriu uma ótima adaptação urbana, com isso essas doenças se tornaram epidêmicas em países como o Brasil.

O principal método para diminuição dos casos dessas doenças consiste no controle desses mosquitos. Existem diversas estratégias de controle do *Ae. aegypti*, tais como métodos biológicos, químicos e genéticos. Entre esses métodos, o uso de compostos químicos sintéticos foi um dos mais utilizados durante décadas, entretanto o seu uso constante levou ao surgimento de problemas. Dentre esses, pôde-se observar o acúmulo desses compostos no meio ambiente devido sua baixa degradabilidade e também o surgimento de populações resistentes aos inseticidas mais utilizados, em diversas partes do mundo (ANJOLETTE; MACORIS, 2016). Com isso, estudos buscando novos meios de controle para esses insetos são necessários.

Entretanto, a precariedade de vários ambientes controlados, como o de um insetário que deveria ser adequado à manutenção e ao estudo dos vetores de doenças, contribui significativamente para lacunas no conhecimento da biologia desses insetos. A dificuldade na manutenção desses ambientes acontece pelas peculiaridades do comportamento ou da biologia geral dos insetos. Muitas vezes, a falta de conhecimento e de observação aos parâmetros ambientais, ao material utilizado, à poluição sonora e aérea, à alimentação e água influenciam no bem-estar do animal (ADEGAS et al., 2005).

Assim como em laboratórios da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) que realizam testes em mosquitos, o Laboratório de Bioprospeccção de Recursos Regionais do departamento de Biologia, localizado na Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, em Fortaleza, também testa métodos de controle de vetores, por meio da bioprospeccção da flora do semiárido nordestino. Dentre outros aspectos, busca a presença de compostos com propriedades inseticidas e/ou repelentes contra vetores de doenças, principalmente contra o vetor da dengue e das arboviroses citadas acima (*Aedes aegypti*). Para o sucesso e segurança dos testes desses compostos e obtenção de resultados positivos, há a necessidade da manutenção adequada do insetário que abriga uma linhagem de *Ae. aegypti*. Com isso, a confecção desse manual se faz necessário para a padronização desse local e treinamento de pessoas no manejo da espécie do objeto de estudo.

1 CULICÍDEOS COMO VETORES

A família Culicidae possui cerca de 3.500 espécies identificadas, mas a maioria não possui importância médica (OSÓRIO, 2014). No entanto, espécies de *Anopheles*, *Culex* e *Aedes* respondem pela persistência e intensidade de variadas endemias.

A família Culicidae é dividida em três subfamílias Anophelinae, Toxorhynchitinae e Culicinae. Esta última possui 27 gêneros identificados, constituindo a maior subfamília de mosquitos. Alguns estão envolvidos na transmissão da filariose linfática, febre amarela, dengue, chikungunya, zika e de outras arboviroses. Esses vetores possuem metamorfose completa, ou seja, são holometábolos, passando pelos estágios de ovo, 4 estádios larvais, pupa e, por fim, adulto alado. O ciclo de vida dos mosquitos compreende, necessariamente, uma fase aquática, relativa às formas imaturas de ovo (quatro estádios larvais e pupa) e uma fase terrestre/aérea correspondente ao mosquito adulto (REY, 2010).

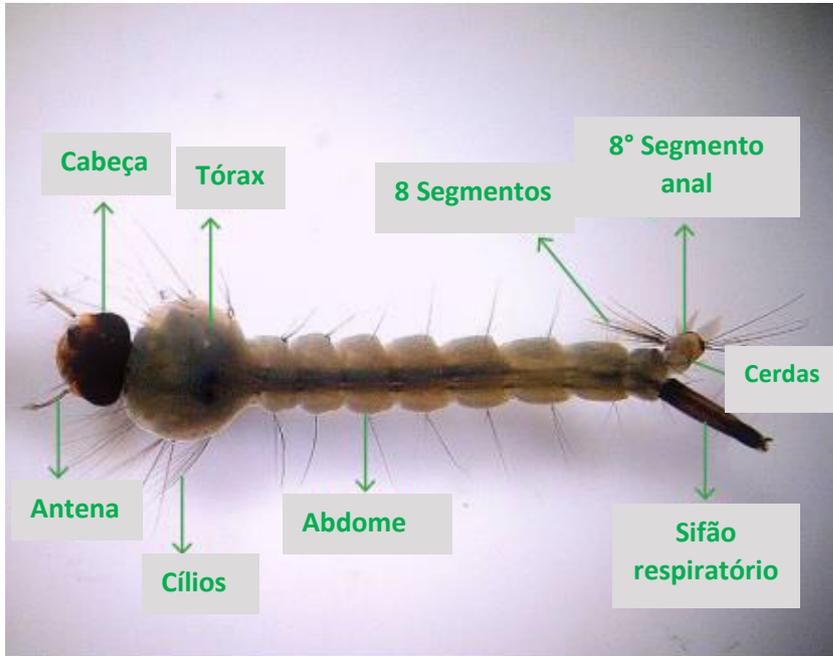
Na fase de adulto alado, as fêmeas podem colocar os ovos isolados ou agrupados como no caso do gênero *Aedes*, flutuando por causa da tensão superficial. A larva possui quatro estádios (L1, L2, L3 e L4) sendo diferenciados pelo tamanho, é formada por três segmentos distintos: cabeça, tórax e abdome, sendo esse último com oito segmentos. No oitavo e último segmento se encontra o sifão respiratório, que é uma característica que diferencia os estádios larvais (Figura 1). A sua alimentação ocorre por meio da filtração da água. A pupa, tal como a larva, é móvel e aquática, mas não se alimenta. Possui forma de vírgula, com a cabeça e tórax fundidos (cefalotórax), onde se encontram a trompeta respiratória, um abdome curto e encurvado com um par de paletas natatórias (Figura 2) (SANTA CATARINA, 2015).

Os insetos adultos, tanto fêmea quanto macho, se alimentam de substância que contém açúcar (como seiva de árvore), a fêmea, contudo, pode necessitar se alimentar de sangue, isto é, hematófaga. Esse tipo de alimentação estimula a ovoposição, com muitas espécies apresentando preferência pelo sangue humano. A postura de ovos pode chegar a 300 ovos, dependendo da fisiologia do mosquito. O local também difere em espécies, podendo ser sobre a água ou em ambientes úmidos. (FOSTER; WALKER, 2002; REY, 2010).

As espécies que serão descritas neste manual serão o *Ae.aegypti*, por sua importância médica e ser objeto de estudo do Laboratório de Bioprospecção de Recursos

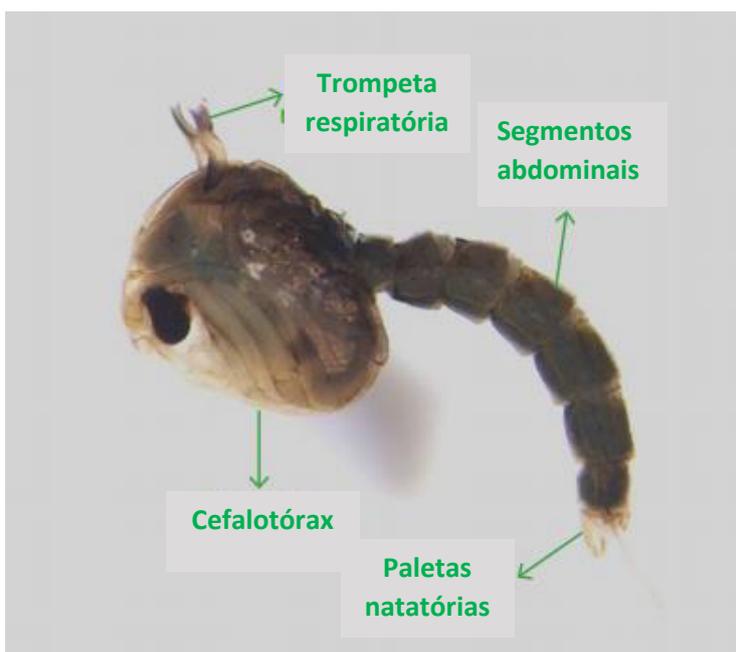
Regionais, e o *Culex quinquefasciatus*, por ser o mosquito mais comumente encontrado nos lares da população brasileira.

Figura 1. Aspecto geral da larva de culicídeos.



Fonte: González et al (2016).

Figura 2. Aspecto geral da pupa de culicídeos.



Fonte: González et al (2016).

1.1 *Aedes aegypti*

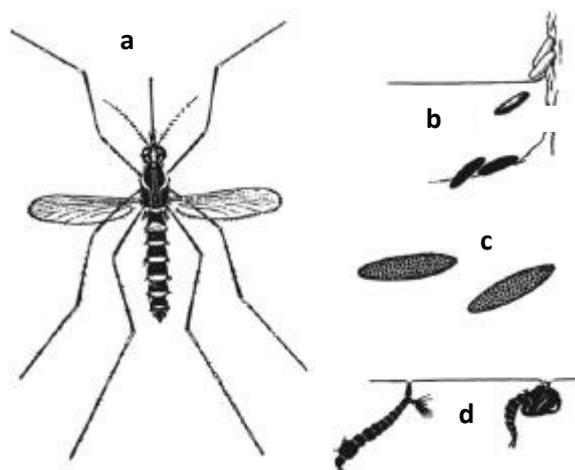
O vetor de várias doenças, o mosquito *Ae. aegypti* é um culicídeo de origem africana, levado às Américas logo no início das navegações. Oriundo de ambientes florestais, como a espécie *Ae. albopictus*, porém esta primeira espécie adaptou-se muito bem aos ambientes urbanos. Apresenta-se como um mosquito rajado, de colorido geralmente escuro e com manchas brancas pelo corpo. Sua identificação é facilitada pela presença no dorso de um desenho em forma de lira, que pode ser distinguido a olho nu (MSAL, 2009).

Em seu ciclo de vida, seus ovos são depositados pelas fêmeas em grande quantidade (entre 10 a 100) por vez. Estes têm aspecto alongado, forma ovóide, simetria bilateral, escuros e são envolvidos por uma casca composta de 3 camadas: a fina membrana vitelina interna, o endocório endurecido e grosso e, por fim, o exocório fino e transparente. Estes são postos sobre o nível da água, onde sua eclosão pode acontecer até em 72 horas após a ovoposição sob condições favoráveis. Com a falta de água, os ovos podem resistir longos períodos de estiagem e permanecerem viáveis, pois possuem proteção para ressecamento (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; REY, 2010).

Após a eclosão, as larvas utilizam o sifão encontrado no oitavo segmento do abdome para as trocas gasosas com ar atmosférico, e sua alimentação é feita através da

filtração de partículas suspensas na água. As pupas, ao contrário, não se alimentam e utilizam trompetas respiratórias, localizadas no cefalotórax do inseto para sua respiração. Na fase aquática, ambas possuem a preferência por águas limpas e o desenvolvimento para o adulto alado acontece após 7 a 10 dias (Figura 3) (GONZÁLEZ et al, 2016; MESSIAS, 2011).

Figura 3. **a.** O adulto alado do *Aedes aegypti*; **b.** ovos depositados em paredes no nível da água; **c.** características dos ovos em aumento; **d.** forma larval e pupal respirando na superfície da água.



Fonte: Rey (2010).

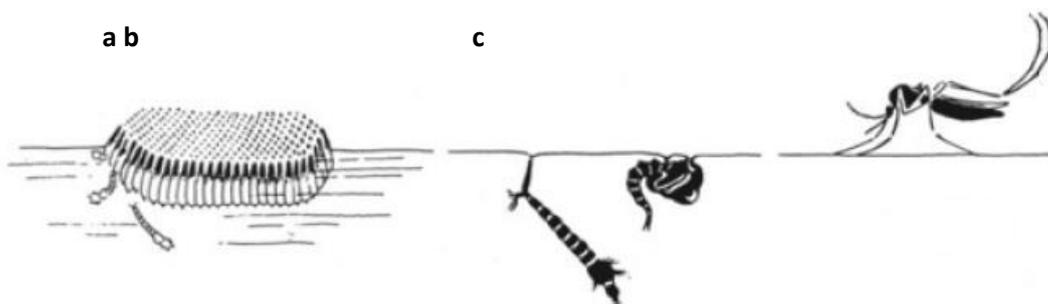
Ao passar pela última metamorfose, o mosquito alado passa a ter hábito domiciliar e atividades diurnas, alimentando-se, principalmente com o sangue, do amanhecer até ao entardecer. Esse repasto, preferencialmente com sangue humano, isso porque neste encontra uma perfeita alimentação, já que necessita de proteínas presentes no sangue para a produção de ovos (MESSIAS, 2011; CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

Atualmente, o *Ae. aegypti* possui grande importância médica e de estudos para seu combate, pois é um importante vetor de doenças com inúmeros registros de epidemia, como a dengue, a chikungunya e a zika.

1.2 *Culex quinquefasciatus*

Possuindo uma cor amarronzada com o dorso do tórax pardo e listras amareladas, este também é um mosquito urbano e antropofílico. Comumente chamado de muriçoca na região nordeste do Brasil, a proliferação dessa espécie acontece em locais abandonados, os quais facilitam o acúmulo de água com alto teor de matéria orgânica, tais como rios, valões e canais poluídos. Estes mosquitos possuem atividade noturna, ou seja, as fêmeas fecundadas se alimentam principalmente durante o período da noite. Seus ovos são postos sobre a água e agrupados, formando uma canoa, apresentando cerca de 200 ovos por postura. As larvas e as pupas possuem movimentos rápidos e são de coloração escura e seu desenvolvimento aquático ocorre entre 10 e 11 dias (Figura 4) (MS, 2011).

Figura 4.a. Ovos do *Culex* sp. agrupados em forma de canoa; **b.** Modo de respirar da larva e pupa; **c.** Adulto alado de *Culex quinquefasciatus*.



Fonte: Rey (2010).

2 BIOSSEGURANÇA

No amplo conceito, a Biossegurança é definida como “o conjunto de saberes direcionados para ações de prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, as quais possam comprometer a saúde do homem, dos animais, das plantas e do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos” (HIRATA; FILHO, 2014). Em geral, a Biossegurança contempla procedimentos que contribuem para a proteção do indivíduo e do bom desenvolvimento do serviço prestado, como normas de vestimenta, os itens de proteção, os procedimentos padrões, as barreiras físicas etc.

A disponibilidade de informações e o conhecimento de procedimentos de trabalho em laboratório colaboram para a obtenção de resultados positivos em pesquisas e evitam a ocorrência de acidentes. Com isso, há a necessidade de uma educação associada às políticas de gestão de pessoas em universidades e empresas para estabelecimento de regras concisas. Para isso, faz-se necessário a disponibilização dessas informações aos profissionais, como formas de prevenção, adotando boas práticas laboratoriais, controle de qualidade e registro de acidentes (ALMEIDA, 2009).

2.1 Normas básicas de biossegurança para o trabalho em laboratório:

- Usar roupas adequadas (calça, sapatos fechados, blusa com mangas);
- Usar obrigatoriamente equipamentos de proteção individual (EPIs): jaleco, luvas, óculos e máscara.
- Possuir treinamento em procedimentos de Biossegurança;
- Estar ciente sobre os riscos biológicos, químicos, físicos, ergonômicos e riscos de acidentes, se o laboratório os possuir (conhecer o mapa de risco do local) (ver Anexo A);
- Lavar as mãos sempre após os experimentos;
- Não usar a boca ou dedos para pipetar. Utilizar a pera ou pipetador automático;
- Limitar o número de pessoas e treiná-los para o uso de agulhas, seringas e outros objetos perfuro-cortantes. E quando houver manipulação de agulhas, ter cuidado para evitar a auto inoculação e produção de aerossóis durante o uso e descarte. Para o descarte em Descarpac®, não se deve recapear agulhas ou qualquer outro instrumento perfurante e/ou cortante quando for descartado.

- Nunca utilizar vidrarias quebradas;
- Evitar trabalhar sozinho no laboratório; tendo uma segunda pessoa acessível para auxiliar em caso de acidentes;
- Nunca consumir alimentos e bebidas no laboratório;
- Identificar e estocar corretamente recipientes;
- Seguir corretamente o método de descarte de materiais.

2.2 A classificação de risco do agente quanto ao seu potencial patológico

Os procedimentos em laboratório que contemplam a biossegurança, para serem seguidos, depende da classificação em tipos de contenção, em ordem crescente, atribuído de acordo com o grau de proteção proporcionado ao laboratório, ao meio ambiente e à comunidade (ADEGAS et al., 2005). O agrupamento classifica o agente biológico patogênico de trabalho de acordo com o seu risco de transmissão, gravidade, existência ou não de medidas profiláticas (Tabela 1). Esses e outros fatores dispõem-se em quatro classes de risco, em ordem crescente de risco (BRASIL, 2017, p. 51):

Classe de risco 1 – Contém baixo risco individual e para a coletividade. Não possui patogenicidade em humanos ou animais. **Exemplo:** *Lactobacillus* sp.

Classe de risco 2 – Moderado risco individual e limitado risco para a comunidade. Incluem os agentes que podem causar doença no homem ou animais, porém não apresentam riscos sérios para os profissionais do laboratório, para a comunidade, para animais e para o meio ambiente. O risco de infecção é quase inexistente, com isso a disseminação no meio ambiente é limitado e o tratamento geralmente é eficiente. As medidas de prevenção devem ser avaliadas. **Exemplo:** Vírus da dengue.

Classe de risco 3 – Alto risco individual e risco moderado para a comunidade. Incluem os agentes que usualmente causam doenças humanas ou animais graves as quais, no entanto, podem usualmente ser tratadas por medicamentos ou medidas terapêuticas gerais. Esses patógenos possuem capacidade de transmissão, em especial por via respiratória, e causam doenças em humanos ou animais potencialmente letais, para as quais existem usualmente medidas profiláticas e terapêuticas. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de pessoa a pessoa. **Exemplo:** Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).

Classe de risco 4 – Alto risco individual e alto risco para a comunidade. Incluem os agentes de alto risco biológico que causam doenças humanas e animais de alta gravidade e capazes de se disseminar na comunidade e no meio ambiente. Alto grau de transmissão entre indivíduos e, em geral, sem possibilidade de tratamento ou medidas de prevenção. Potencialmente perigoso para quem os manipula. **Exemplo:** Vírus Ebola.

Tabela 1: Critérios de definição dos grupos de risco.

Classe	Risco		Doença grave	Tratamento/prevenção	Risco de disseminação
	Individual	Coletivo			
I	Baixo	-	-	-	-
II	Baixo	Baixo	Raramente	Eficiente	Limitado
III	Elevado	Limitado	Sim	Existente	Limitado
IV	Elevado	Elevado	Sim	Não existente	Elevado

Fonte: Elaborado pela Autora.

2.3 Determinação do Nível de Biossegurança

Assumindo a classe de risco dos agentes patológicos, o laboratório pode ser definido em quatro níveis de biossegurança, onde cada nível de risco possui estrutura e recomendações dependendo do grau de risco do agente biológico (Tabela 2). Os quatro níveis de biossegurança: NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4 estão em ordem crescente do grau de contenção e complexidade do nível de proteção. O nível é definido pela classificação de risco da potencialidade de patógeno do objeto de estudo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Nível de Biossegurança 1 (NB-1): procedimentos e manuseio de microrganismos de classe de risco 1. Possui baixo ou nenhum risco de patogenicidade. Instalações e o tipo de contenção básico para organismos para essa classificação. Os profissionais que atuam neste nível devem seguir as boas práticas laboratoriais (BPLs), usar equipamentos de proteção individual (EPIs), possuir treinamento em biossegurança e ser supervisionados por um profissional de nível superior. O local deve possuir um bom planejamento de espaço, cabines de segurança biológica (CSB) e autoclaves não são obrigatoriamente necessários.

Nível de Biossegurança 2 (NB-2): procedimentos e manuseio de microrganismos de classe de risco 2. Podem possuir risco patológico, mas de baixa gravidade para os profissionais e comunidade. Os profissionais que atuam neste nível deverão possuir treinamento adequado ao trabalho com agentes biológicos em contenção e serem monitorados por outro profissional com conhecida competência no manuseio de agentes e materiais biológicos potencialmente patogênicos. Aplica-se aos laboratórios básicos de diagnósticos, então sendo obrigatório as BPL, uso de EPIs e todo trabalho que possa formar partículas de agentes biológicos deverá ser realizado em cabine de segurança biológica.

Nível de Biossegurança 3 (NB-3): procedimentos e manuseio de microrganismos de classe de risco 3. Geralmente o agente biológico causa doenças em humanos ou animais, representando um risco para o profissional, mas não há um alto risco de propagação. São utilizadas as práticas de segurança e tipos de barreiras físicas do NB-1 e 2. Além disso, faz-se necessário contenção para impedir transmissão pelo ar. Os laboratórios pertencentes a este nível de biossegurança devem ser registrados junto a autoridades sanitárias nacionais.

Nível de Biossegurança 4 (NB-4): procedimentos e manuseio de microrganismos de classe de risco 4. O agente biológico causa doença grave em humano ou animais, pode ser transmitido de um indivíduo para outro facilmente. Medidas de contenção devem ser incluídas dos outros três níveis e de proteção especial de segurança. Os laboratórios de contenção máxima só podem funcionar tendo sido autorizado pelas autoridades nacionais competentes e devem ser inspecionados pelas autoridades sanitárias.

2.4 Nível de Biossegurança 2 (NB-2)

Neste manual as orientações e recomendações serão focadas para organismos de classe de risco 2. As informações aqui descritas provêm do Manual de Segurança Biológica (WHO, 2004) e Diretrizes Gerais para o Trabalho em Contenção com Agentes Biológicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

2.4.1 Procedimentos-padrão de laboratório

O acesso ao local NB-2 deve ser restrito aos profissionais responsáveis das atividades desenvolvidas. Os procedimentos técnicos ou administrativos deverão estar

descritos e ser de conhecimento de toda a equipe. As áreas de circulação devem estar desobstruídas e na porta do laboratório deverá ser fixado o símbolo internacional de risco biológico com a identificação e o telefone do profissional responsável. As normas do tópico 2.1 deste trabalho, também são necessárias para o bom funcionamento do laboratório classificado neste nível.

2.4.2 Práticas adicionais

- O recomendado é que os profissionais sejam submetidos à avaliação médica e imunizados aos agentes manuseados ou potencialmente presentes no local;
- A elaboração e adoção de um Manual de Biossegurança;
- O treinamento da equipe nos procedimentos e práticas padrões antes do início das atividades com os agentes biológicos;
- Os equipamentos e área de trabalho devem ser descontaminadas regularmente, e principalmente após contato com um potente contaminante;
- Os EPIs devem ser retirados, antes de sair do local de trabalho e depositados para descontaminação;
- A porta deve ser mantida fechada.

2.4.3 Equipamentos de contenção

A utilização de CSB, de Classe I ou Classe II, além de EPIs, como máscaras, jalecos e luvas, deverão ser usados sempre que sejam realizadas em procedimentos com agentes patogênicos, principalmente quando existir possível formação de aerossóis. Uma autoclave deve estar disponível, em local associado ao laboratório, dentro do edifício, descontaminando todos os materiais utilizados e resíduos gerados, para à sua reutilização ou descarte.

2.4.4 Instalações laboratoriais

O laboratório NB-2 deverá estar localizado em área afastada de circulação do público. Deverá ser instalado um sistema de portas com trancas, pois o acesso ao laboratório deverá ser restrito aos profissionais e técnicos capacitados ao trabalho em contenção. Recomenda-se a instalação de lavatórios com acionamento automático ou acionados com cotovelo ou pé. As cabines de segurança biológica devem ser instaladas

de forma que as flutuações de ar da sala não interfiram em seu funcionamento, devendo as mesmas permanecer distante de portas, janelas e áreas movimentadas (Figura 5). As cadeiras também devem ser de material impermeável e de fácil limpeza. Não são recomendadas janelas que se abrem para área externa, mas caso haja, estas deverão permanecer fechadas. O local deve possuir pelo menos uma estação de lavagem de olhos disponível no laboratório. Por fim, a área de escritório deve estar localizada fora do laboratório.

Tabela 2: Associação das classes de risco com o nível de segurança, de acordo com equipamentos e procedimentos.

Classe de Risco	Nível de Biossegurança	Tipos de Laboratório	Procedimentos de Segurança	Tipos de Contenção
1	NB-1	Ensino básico; Pesquisa	EPI BPL	Bancada de trabalho CSB Classe I
2	NB-2	Clínicos; Diagnóstico primário; Pesquisa	EPI BPL	CSB Classe II
3	NB-3	Diagnósticos especiais; Pesquisa	Equipamentos para proteção respiratória Roupas de proteção	CSB Classe II/III
4	NB-4	Manipulação de agentes patogênicos graves	Máscara facial/ Macacão pressurizado	CSB Classe II/III Autoclave dupla porta Ar filtrado

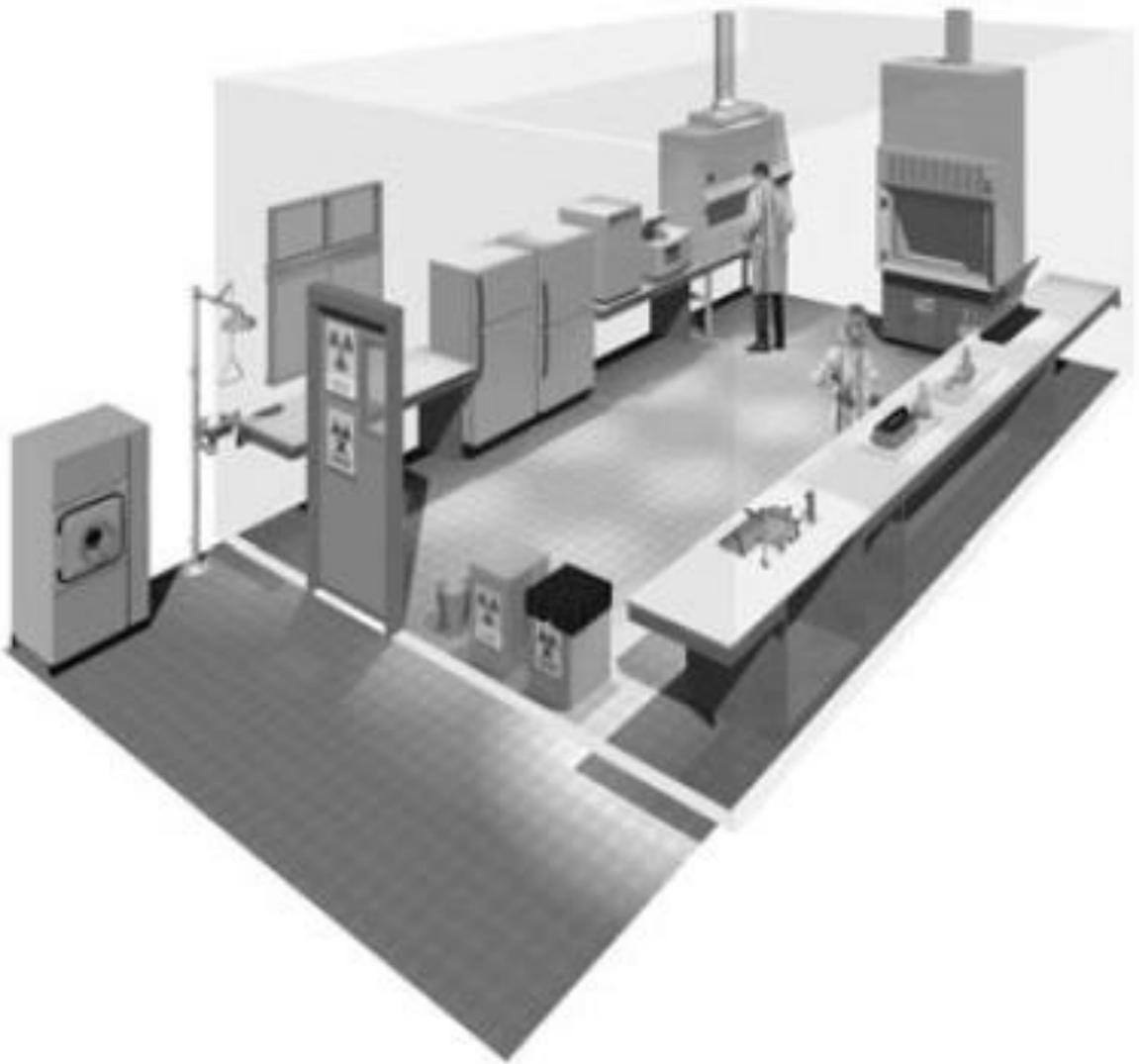
Fonte: Elaborado pela autora.

EPI – Equipamentos de proteção individual

BPL – Boas práticas laboratoriais

CSB – Cabine de segurança biológica

Figura 5. Disposição de equipamentos e organização típico de laboratório NB-2.



Fonte: WHO, 2004.

3 BIOSSEGURANÇA EM INSETÁRIO

O nível de biossegurança de um insetário é estabelecido de acordo com a classificação do agente patogênico do qual o inseto é vetor (WHO, 2004). As arbovírus dengue, chikungunya e febre amarela são classificadas em classe de risco 2, apresentando moderado risco individual e baixo risco para a comunidade, com isso o nível de contenção é NB - 2 (BRASIL, 2017, p. 51; CTBIO – FIOCRUZ, 2005; HHS, 2009). Contudo, mesmo considerando que a linhagem manuseada no laboratório não possui infecção, são necessários meios de contenção desse nível para evitar fugas ou possíveis contaminações.

A cepa utilizada no laboratório de Bioprospecção para a realização de atividades de pesquisa é a Rockefeller, que tem sua origem em laboratório no Instituto Carlos Finlay em Havana, Cuba. Em 1926, o médico Wilhelm H. Hoffmann enviou os ovos desta cepa para o Departamento de Medicina Tropical da Universidade de Harvard (KUNO, 2010). Esta cepa está estabelecida no laboratório do NUVET (Núcleo de Controle de Vetores da Secretária de Saúde do estado do Ceará). A partir do NUVET, foram obtidos os ovos para a criação do insetário de culicídeos do Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais.

Assim, para se obter credibilidade e reprodutibilidade dos resultados das pesquisas do laboratório, fez-se necessário a adoção de protocolos padronizados nos procedimentos e instalações para a criação desses culicídeos.

Para o bom funcionamento e padronização do Insetário, neste manual foram utilizadas informações de normas descritas em manuais e documentos de Instituições, como a Fiocruz e a Organização Mundial da Saúde, por exemplo. Destacam-se o Manual de segurança biológica em laboratório (WHO, 2004), Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ (CTBIO – FIOCRUZ, 2005), Parâmetros de biossegurança para insetários e infectórios de vetores (ADEGAS et al, 2005), Guia de orientação para treinamento de técnicos de laboratório de entomologia (SANTA CATARINA, 2015) e Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com agentes biológicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

3.1 Boas práticas laboratoriais (BPLs)

São um conjunto de ações com o objetivo de proporcionar a diminuição dos riscos do ambiente laboratorial. Estas medidas são constituídas por atividades organizacionais do ambiente de trabalho e por procedimentos básicos como a utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) e Equipamentos de Proteção Coletivos (EPCs), limpeza e higienização do ambiente laboratorial, entre outras (LABORATÓRIOS DE INVESTIGAÇÃO MÉDICA, 2015). As BPLs de um insetário são:

- Ter acesso restrito para pessoas com treinamento;
- Usar obrigatoriamente o jaleco;
- Abrir a segunda porta somente quando a primeira porta estiver fechada (porta-dupla);
- Usar luvas quando tiver contato com material biológico;
- Manter o insetário sempre limpo e organizado evitando material nas prateleiras, excluindo possíveis esconderijos;
- Inspeccionar sempre o local antes de sair;
- Evitar a invasão/evasão de qualquer inseto no local;
- Não entrar com alimentos e bebidas;
- Evitar uso de celular no local;
- Matar o mosquito, imediatamente no caso de fugas da gaiola (por exemplo: com auxílio da raquete elétrica);
- Lavar sempre as bandejas contendo organismos nas fases imaturas após a troca de água;
- Limpar a gaiola após a morte dos mosquitos com álcool 70%, para ser utilizada posteriormente;
- Observar a quantidade de copos contendo pupas na gaiola e retirá-los, mantendo apenas os que possuem pupas para a emergência de adultos.

3.2 Instalações

- O nível de Biossegurança deve ser indicado na porta de entrada do laboratório;
- O insetário deve estar localizado em uma sala separada no laboratório;

- O insetário deve possuir uma antessala telada e vedada com uma porta para o ambiente externo, porta dupla. A abertura deve ser para o interior do local, para ser possível manter uma fechada enquanto a outra estiver aberta;
- Uma cortina de ar (fluxo de ar de cima para baixo) deve ser instalada e acionada quando a porta for aberta;
- O teto deve ser telado;
- A superfície das prateleiras e paredes deve ser da cor branca, facilitando a visualização dos mosquitos, em caso de fugas.

3.3 Sinalização de Biossegurança

Nas portas dos locais onde há o manuseio de organismos vivos deve ser exposto o símbolo e o sinal internacional de risco biológico. Nessa sinalização é descrito o organismo que se é trabalhado, sua classe de risco, o responsável do laboratório e o número de contato (Figura 6). Além disso, as gaiolas de mosquitos adultos são identificadas para o controle da colônia. Nestas, são identificados o número da gaiola, a espécie, de onde originou o espécime, qual o sexo dos indivíduos, a quantidade aproximada de mosquitos e a data que a gaiola começou a receber as pupas (Figura 7).

Figura 6. Sinalização de risco biológico a ser exposto nas portas de laboratório.



Fonte: UFV (2013).

Figura 7. Etiquetas para a identificação das gaiolas de mosquitos adultos.

Insetário	Insetário
 	 
COLÔNIA DOS CULICÍDEOS	COLÔNIA DOS CULICÍDEOS
Gaiola nº: <u>01</u>	Gaiola nº: _____
Espécie/raça/linhagem: <u>Aedes albopictus</u>	Espécie/raça/linhagem: _____
Origem: <u>linhagem Rockefeller</u>	Origem: _____
Sexo: <u>♀♂</u>	Sexo: _____
Nº aproximado de insetos: <u>± 100</u>	Nº aproximado de insetos: _____
Observação: _____	Observação: _____
Data da eclosão: <u>05/10/2018</u>	Data da eclosão: _____

Fonte: Autora.

4 MACRO E MICROAMBIENTE DOS CULICÍDEOS

4.1 Macroambiente

O macroambiente é a ambientação do insetário, a temperatura, a umidade, as instalações e a cor do local. Esses fatores devem tentar reproduzir o hábitat natural do *Ae. aegypti*. Estes devem ser assim estabelecidos:

- ✓ **Temperatura:** Deve ficar entre 27° - 29°, semelhante aos locais tropicais;
- ✓ **Umidade:** Deve permanecer em torno dos 70%;
- ✓ **Instalações:** Todos os equipamentos devem ser vedados e com proteções, evitando a criação de esconderijos. Não deve possuir janela e, se existir, permanecer sempre fechada e vedar as possíveis aberturas;
- ✓ **Cor do local:** Coloração clara.

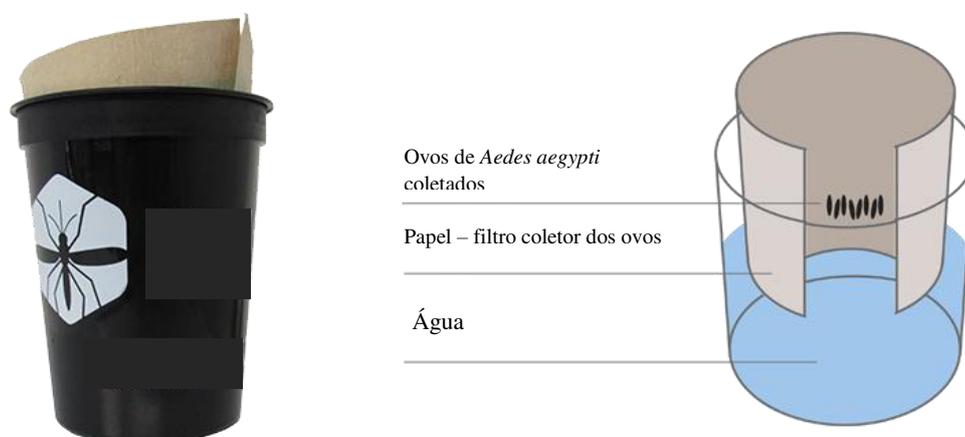
4.2 Microambiente

O microambiente dos culicídeos é definido como aquele onde há o desenvolvimento das larvas e pupas e, separadamente, dos mosquitos adultos. Dentre os componentes do microambiente estão a fonte de alimentação, água e densidade da população dos insetos. O desenvolvimento larval do *Ae. aegypti* é influenciado por diversos fatores, como disponibilidade de comida e a densidade de larvas no local que estão inseridos (CARVALHO & MOREIRA, 2017). De acordo com a mudança dos estágios, as necessidades fisiológicas são modificadas, com isso é necessário identificar as peculiaridades de cada fase para o seu bom desenvolvimento.

4.2.1 Manejo dos ovos

Após o repasto sanguíneo (explicado posteriormente), uma 'ovitrap' (Figura 8) com papel filtro é inserida na gaiola para a coleta dos ovos, esse recipiente tende a imitar o local de oviposição, isto é, escuro e com quantidade média de água. Após 6 dias, a armadilha é retirada da gaiola, a água é descartada e o papel ainda neste recipiente é colocado para secar 'overnight', após isso a cartela com ovos é armazenada em um envelope vedado.

Figura 8. Exemplificação da ‘ovitrap’ utilizada no laboratório.



Fonte: Unidade de Controle de Vetores do Porto Rico Logo, 2018.

4.2.2 Fase aquática

Os ovos coletados devem ser inseridos em uma bandeja de plástico (45 cm x 30 cm x 8 cm) com volume de 1,5 L de água declorinada. Durante o desenvolvimento das larvas a sua alimentação é por meio de ração para tartaruga (Reptolife, Alcon®, Camboriú, Brasil), fornecida em dias alternados.

Para evitar o acúmulo de matéria orgânica, a água da bandeja é trocada pelo menos a cada 10 dias. As larvas e pupas são filtradas em uma malha fina e despejadas cuidadosamente, para tentar impedir qualquer dano aos organismos. Após isso, as larvas são transferidas para uma nova bandeja com água limpa.

A pupa é o último estágio aquático do inseto. Assim, para a eclosão do adulto alado acontecer sem o perigo de fuga, as pupas devem ser coletadas e transferidas para gaiolas em dias alternados, pelo menos 3 vezes por semana.

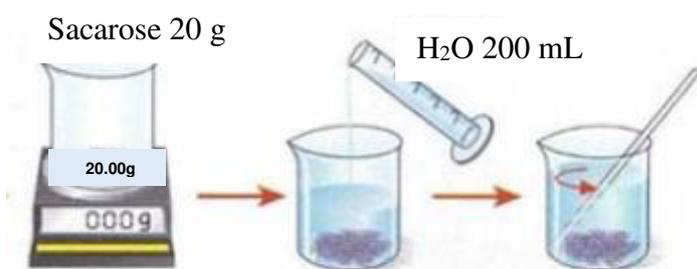
4.2.3 Fase terrestre/aérea

Os adultos alados devem ficar alojados em gaiolas teladas (29,5 cm x 30 cm x 30 cm) confeccionadas com madeira. Nessa última fase do mosquito, a alimentação é deve ser realizada de duas maneiras. Tanto os machos, como as fêmeas se alimentam, em geral, de fontes de carboidratos como seiva da planta e/ou néctar. Contudo, alimentação com sangue (repasto sanguíneo), principalmente do ser humano, deve ocorrer, pois este

fornece proteínas para a maturação dos ovos, por esta razão as fêmeas também se alimentam de sangue, sendo hematófagas (SANTA CATARINA, 2015).

Logo a necessidade diária de uma fonte de carbono, que deve ser suprida por algodões embebidos em solução de sacarose 10% (Figura 9), armazenada em ambiente refrigerado (4°C).

Figura 9. Método de preparação da solução de sacarose 10%.



Fonte: Nota positiva (2007).

Após três dias da última ecdise, os adultos maduros copulam e, com isso, as fêmeas necessitam da primeira refeição sanguínea para realizarem a oviposição (REY, 2010). O repasto sanguíneo em laboratório tenta assemelhar esta alimentação hematófaga do mosquito, para isso, é utilizado um rato imobilizado e, após a sua inserção na gaiola dos mosquitos, permanece por volta de 30 minutos. Este procedimento deve ser realizado, pelo menos, duas vezes por semana.

Esta imobilização deve ser feita por meio de anestesia. Para a preparação desse procedimento um rato saudável tem que ser pesado, para calcular a dosagem do relaxante muscular e anestésico a ser administrada. Os compostos utilizados são, respectivamente, o cloridrato de xilazina e o cloridrato de cetamina (ver Anexo B). Para as dosagens, a concentração estabelecida de xilazina e cetamina é de 5 e 90 mg por quilograma de peso do animal, respectivamente.

O rato utilizado é mantido no biotério experimental do laboratório em questão e são necessários cuidados para o seu uso. Além de trabalhar com jaleco e luvas, para a execução dos repastos é interessante que o laboratório possua 3 ou mais ratos. Estes devem ser identificados para evitar o uso consecutivo do mesmo animal. A quantidade de repastos deve ser até no máximo 4 vezes por gaiola, após isso, há uma diminuição na quantidade e qualidade dos ovos. Após o limite de repastos, os mosquitos da gaiola devem

ser exterminados por meio do congelamento em freezer (-20 °C). Como exemplo, para o controle de repastos por gaiola pode ser utilizado o quadro a seguir (Quadro 1) (Anexo 2).

Quadro 1: Exemplo de controle de repasto do insetário.

Nº da Gaiola	Repasto	Data do Repasto	Observação
1	I. Ok	- 01/01/2018	
	II. Ok	- 08/01/2018	
	III. Ok	- 15/01/2018	
	IV.	-	

IMPORTANTE!!!

Atentar para a gaiola possuir somente adultos maduros para copulação. Para isso, retirar os recipientes que ainda possuem pupas e transferir para outra gaiola, pelo menos um dia antes de fazer o repasto.

5 DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO

Os resíduos biológicos infectantes ou de possível infecção constituem uma fonte de contaminação capaz de causar doenças, podendo assim comprometer o meio ambiente e saúde pública. Estes riscos podem ser, respectivamente, o favorecimento, a persistência, a disseminação e a modificação dos agentes patológicos e a probabilidade da ocorrência de infecção dos humanos. Assim sendo, são necessários procedimentos especiais para o tratamento e eliminação do descarte de material biológico (COSTA; PEREIRA, 2015).

Todos os descartes que possuem matéria de origem biológica, tais como: a água suja das bandejas, a cartela de ovos após ser colocada para eclodir e as pipetas velhas, que obtiveram contato com algum estágio do mosquito devem ser descartados em um béquer de 4 litros. Após isso, devem passar por um processo de desinfecção, o qual pode ser incineração, fervura e/ou autoclavação. Essas ações objetivam evitar a disseminação de ovos ou de outras fases do mosquito. No método de ebulição o material permanece 5 minutos após atingir a fervura, e após isso é descartado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEGAS, M. G.; BARROSO-KRAUSE, C.; LIMA, J. B. P.; VALLE, D. **Parâmetros de biossegurança para insetários e infectórios de vetores**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2005. 64 p.

ALMEIDA, M. F. C. **Boas práticas de laboratório**. São Caetano do Sul, SP: Difusora Editora, 2009. 283 p.

ANJOLETTE, A. F. F.; MACORIS, M. L.G. Técnicas para manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório. **Superintendência de Controle de Endemias de Marília**. São Paulo, v. 156, n. 13, p. 19-29, 2016.

BALDACCHINO, F.; CAPUTO, B.; CHANDRE, F.; DRAGO, A.; DELLA TORRE, A.; MONTARSI, F.; RIZZOLI, A. Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: a review. **Pest management science**, v. 71, n. 11, p. 1471-1485, abr. 2015.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS. DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com agentes biológicos**. 3 ed, 2006. 70 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.349/17**. Rel. Ministro de Estado da Saúde. Brasília, DF, 14 de setembro de 2017. Diário Oficial da União, Brasília-DF, 22 de setembro de 2017. Disponível em: <http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19308017/do1-2017-09-22-portaria-n-2-349-de-14-de-setembro-de-2017--19307768>. Acesso em: 10 de novembro de 2018.

CATARINA, SANTA. **Guia de orientação para treinamento de técnicos de laboratório de entomologia**. 2015. 74 p.

COMISSÃO TÉCNICA DE BIOSSEGURANÇA DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ. **Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2005. 221 p.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. SciELO-Editora FIOCRUZ, 1994. 225 p.

COSTA, S. S.; PEREIRA, P. S. **Como realizar o descarte de resíduos biológicos?** Coordenação de Biossegurança – UFRJ. 2 ed. 2015.

FOSTER, W. A.; WALKER, E. D. Mosquitos (Culicidae). **Entomologia médica e veterinária**. 2002. p. 203-262.

HIRATA, M. H.; FILHO, J. M. **Manual de biossegurança**. 2. ed. Barueri, SP: Manole, 2014. 356 p.

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA. **Manual de Culicidos (Diptera: Culicidae) de la zona norte y centro de Chile, incluyendo Isla de Pascua**. 2 ed. Chile, Santiago, 2016. 95 p.

KUNO, G. Early history of laboratory breeding of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) focusing on the origins and use of selected strains. **Journal of medical entomology**, v. 47, n. 6, p. 957-971, 2014.

LABORATÓRIOS DE INVESTIGAÇÃO MÉDICA. **Guia de boas práticas laboratoriais**. São Paulo, 2015. 29 p.

MESSIAS, M. C. **Vivendo com os insetos**. 22 ed. Rio de Janeiro, RJ: Biomanguinhos/FIOCRUZ, 2011. 120 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE BRASIL. Guia de vigilância do *Culex quinquefasciatus*. 3 ed. Brasília - DF: Ministério da Saúde, 2011. 76 p.

MINISTÉRIO DE SALUD Y DESARROLLO SOCIAL. **Protocolo de acciones de control de *Aedes aegypti***. Argentina, 2009. 60 p.

NÚNCIO, M. S.; ALVES, M. J. **Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores**. OSÓRIO, H. C. Artrópodes e roedores associados à transmissão de agentes infecciosos. Lisboa, 2014. 186 p.

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. 3. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2010, 427 p.

US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES et al. **Biosafety in microbiological and biomedical laboratories**. 5 ed. 2009. 438 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Manual de segurança biológica em laboratório**. 3. ed. Califórnia, 2004, 215 p.

APÊNDICE A – INSTALAÇÕES DO INSETÁRIO DE CULICÍDEOS DO LABORATÓRIO DE BIOPROSPECÇÃO DE RECURSOS REGIONAIS

Figura 10. Porta-dupla na entrada do insetário de culicídeos.



Fonte: Autora.

Figura 11. Gaiolas de mosquitos adultos.



Fonte: Autora.

Figura 12. Organização no interior do Insetário.



Fonte: Autora.

Figura 13. A organização nas prateleiras de auxílio.



Fonte: Autora.

Figura 14. As bandejas com as fases imaturas do mosquito (ovo, larva e pupa).



Fonte: Autora.

ANEXO B – FICHA DE INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO (FISPQ) DE CLORIDRATO DE XILAZINA E DE CETAMINA.

Seção 1 – Identificação do produto e da empresa.

Produto: KENSOL
Uso veterinário exclusivo
Certificados: Argentina: SENASA Certificado Nº 87.509; Uruguai: MGAP 5083 Venezuela: MPC SASA. M.I. 7.087; Brasil: Licenciado no Ministério da Agricultura sob o Nº 4.047/92
Descrição: Analgésico, relaxante muscular, sedativo.
Empresa: KÖNIG DO BRASIL LTDA.
Endereço: Estrada dos Romeiros km 38,5 Santana de Parnaíba SP CEP 06500-000. **Informação do produto:** 0800-0156644; **E-mail:** 0800@konigvet.com.br.

Seção 2 – Composição: Xilazina Cloridrato 2g%; excipientes q.s.p. 100 mL

Seção 3 – Identificação de riscos:

A exposição durante o uso do produto é mínima. O princípio ativo do produto é xilazina, um sedativo, miorelaxante e analgésico. A exposição a xilazina pode causar depressão respiratória ou diminuição da pressão arterial. Outros efeitos são: o relaxamento muscular, diminuição da sensibilidade a dor, boca seca e palidez da pele.

Seção 4 – Medidas de primeiros socorros:

Geral: Retirar a vítima da zona de perigo. Em casa de risco de perda da consciência, colocar e transportar o paciente em posição lateral estável.
Ingestão: Chamar o médico imediatamente. Dar de beber 1 o 2 copos de água e induzir o vômito colocando dois dedos no fundo da garganta. Nunca administrar nada por boca a uma pessoa inconsciente. **Inalação:** Mover para local fresco ou uma zona não contaminada com os vapores deste material. Se ocorrer parada respiratória realizar a respiração artificial e chamar o médico. **Olhos:** Em caso de contato, lavar com água abundante durante 15 minutos. Chamar o médico se ocorrer irritação persistente.
Pele: Em caso de contato remover a roupa. Lavar a pele com água e sabão. Chamar o médico se ocorrer irritação. **Centros toxicológicos:** **Argentina:** 0800-333-0160. **Uruguai:** CIAT (02) 1722. **Venezuela:** (212) 605-2586/2732 **Brasil:** 0800-148110

Seção 5 – Medidas de combate a incêndio:

Para extinguir o fogo utilizar jatos de água, CO₂, pó de extintor ou espuma. Evacuar as pessoas para uma área segura. O pessoal deverá utilizar roupa antiinflamável e máscaras de oxigênio. **Produtos da decomposição térmica:** Em caso de incêndio existe a possibilidade de formação de óxidos de carbono.

Seção 6 – Medidas de para controle de derramamento ou vazamento:

Medidas de emergência: Utilizar o equipamento de proteção individual citado na seção 8. Não contaminar cursos de água. Recolher o material com elementos apropriados (material absorvente: grânulos, areia, etc.). Introduzir o material recolhido em recipientes fechados. Para limpar o solo e os objetos contaminados com o produto utilizar água e sabão. Utilizar material absorvente para recolher a solução de limpeza e deposita-lo em recipientes fechados.

Seção 7 – Manipulação e armazenagem:

Manipulação: Evitar o contato com a pele, olhos e roupas. Lavar as mãos com água e sabão após manipular. **Armazenagem:** Armazenar em ambiente seco e ventilado, afastado dos alimentos. Conservar entre 4 e 35°C. Manter fora do alcance de crianças e animais domésticos.

Seção 8 - Controle de exposição – Proteção individual :

Mãos: Usar luvas de borracha **Olhos:** Usar óculos protetores. **Aparelho respiratório:** Não requer **Outros equipamentos:** ducha de segurança, lavatório ocular.

Seção 9 – Propriedades físicos – químicas:

Aspecto: líquido límpido incolor. **Xilazina HCl:** 20 mg/mL.

Seção 10 - Estabilidade e reatividade:

Estabilidade química: estável **Risco de polimerização:** não ocorre. **Produtos não compatíveis:** nenhum conhecido **Condições/materiais a evitar:** nenhuma conhecida

Seção 11 – Informação toxicológica do princípio ativo:

DL50 oral rata: >130 mg/kg

Seção 12 – Informação ecológica:

Não existe informação disponível.

Seção 13 – Considerações relativas a eliminação:

Para a eliminação do material de descarte e as embalagens vazias e seguir a regulamentação local.

Seção 14 – Informação para o transporte:

DOT – IMO/IMDG – ICAO/IATA: Sem restrições para transporte

Seção 15 – Regulamentações:

R21/22, Nocivo em contato com a pele e por ingestão; S2, Manter fora do alcance das crianças; S28, Em caso de contato com a pele lavar imediatamente e abundantemente com água e sabão. S46, Em caso de ingestão levar imediatamente ao médico com o rótulo do produto.

Seção 16 – Outras informações:

Data da emissão: 05/2001
Data da revisão: 05/2006

A nosso saber, as informações aqui contidas são exatas. Não obstante, nem o provedor, nem nenhuma de suas subsidiárias assumem qualquer responsabilidade quanto a exatidão ou integridade das informações contidas. A determinação final relativa a idoneidade de todo o material é de responsabilidade exclusiva do usuário. Todos os materiais pode apresentar perigos desconhecidos e devem ser usados com cautela. A descrição de certos perigos não garante que sejam os únicos existentes.

Seção 1 – Identificação do produto e da empresa.

Produto: VETANARCOL
Uso veterinário exclusivo
Certificados: Argentina: SENASA Certificado Nº 83.476; Uruguai: MGAP N 1674562; Venezuela: MPC-SASA M.I. 7.026; Brasil: MAPA Nº 4.044/92
Descrição: anestésico injetável
Empresa: KÖNIG DO BRASIL LTDA.
Endereço: Estrada dos Romeiros km 38,5 Santana de Parnaíba_SP
CEP 06500-000. **Informação do produto:** 0800-0156644; **E-mail:** 0800@konigvet.com.br.

Seção 2 – Composição: Ketamina (como cloridrato) 5 g%; excipientes q.s.p. 100 mL.

Seção 3 – Identificação de riscos:

O produto pode ser absorvido por inalação ou por absorção através da pele ou da conjuntiva ocular. A ketamina é um anestésico general de efeito dissociativo. Afeta o SNC e o aparelho circulatório. A exposição ao produto pode elevar a pressão e aumentar o pulso arterial. Os sinais e sintomas da exposição incluem náuseas, vômitos, formigamento, entumecimento e cansaço. Pode irritar os olhos, a pele e o trato respiratório. Pode causar reações alérgicas.

Seção 4 – Medidas de primeiros socorros:

Geral: Retirar o acidentado da zona de perigo. Em caso de perigo de desmaio colocar e transportar o afetado em posição lateral estável.
Ingestão: Chamar ao médico imediatamente. Não induzir o vômito a menos que seja indicado pelo médico. Nunca administrar nada por boca a uma pessoa inconsciente. **Inalação:** Mover para um local arejado ou zona não contaminada com os vapores do material. Se ocorrer parada respiratória auxiliar com respiração artificial. Chamar o médico. **Olhos:** Em caso de contato, lavar os olhos com abundante água durante 15 minutos. Contatar o centro toxicológico mais próximo. **Pele:** Em caso de contato remover a roupa. Lavar a pele com abundante água e sabão. Contatar o centro toxicológico mais próximo. **Centros toxicológicos:** Argentina: 0800-333-0160. **Uruguay:** CIAT (02) 1722. **Venezuela:** (212) 605-2586/2732. **Brasil:** 0800-148110

Seção 5 – Medidas de combate a incêndio:

O produto possui base aquosa o que representa não representa um risco de incêndio. Para extinguir o fogo utilizar jatos de água. Evacuar as pessoas para uma área segura. O pessoal deverá utilizar roupa antiinflamável e máscaras de oxigênio.

Seção 6 – Medidas de controle de derramamento ou vazamento:

Medidas de emergência: Utilizar o equipamento de segurança individual citado na seção 8. Evitar que o produto passe para os sistemas de canalização e águas superficiais ou subterrâneas. Recolher o material com elementos apropriados (material absorvente: grânulos, areia, etc.). Introduzir o material recolhido em recipientes fechados. Para limpar o solo e os objetos contaminados utilizar água e sabão. Utilizar material absorvente para recolher a solução de limpeza e deposita-lo em recipientes fechados.

Seção 7 – Manipulação e armazenagem:

Manipulação: Evitar o contato com a pele, olhos e roupas. Lavar com água e sabão após a manipulação. **Armazenagem:** Armazenar em ambiente seco e ventilado, afastado de alimentos. Conservar entre 4 e 35°C. Manter fora do alcance de crianças e animais domésticos

Seção 8 - Controle de exposição – Proteção individual:

Mãos: Usar luvas de borracha. **Olhos:** Utilizar óculos de segurança. **Aparelho respiratório:** Em caso de geração de aerosol utilizar máscara. **Outros equipamentos:** ducha de segurança, lavatório ocular.

Seção 9 – Propriedades físicas – químicas:

Aspecto: Líquido límpido. **Cor:** Incolor a levemente amarelado. **Ketamina HCl:** 50 mg/mL.

Seção 10 - Estabilidade e reatividade:

Estabilidade química: estável. **Risco de polimerização:** não ocorre. **Produtos não compatíveis:** oxidantes fortes **Condições/materiais a evitar:** armazenar com oxidantes fortes

Seção 11 – Informações toxicológica do princípio ativo:

Toxicidade aguda: DL₅₀ rata oral: 447mg/kg. DL₅₀ rato oral: 617 mg/kg. DL₅₀ rata intravenosa: 59 mg/kg. DL₅₀ rato intravenosa: 56 mg/kg. DL₅₀ rata intraperitoneal: 224 mg/kg. DL₅₀ rato intraperitoneal: 224 mg/kg. DL₅₀ rato intramuscular: 356 mg/kg. DL₅₀ cobaio intramuscular: 361 mg/kg.

Seção 12 – Informação ecológica:

Não existe informação disponível sobre o impacto ambiental da ketamina. Manipular de modo de evitar derrames e liberação ao meio ambiente.

Seção 13 – Considerações relativas a eliminação:

Para a eliminação do material de descarte e embalagens vazias, seguir a regulamentação local.

Seção 14 – Informação para o transporte:

DOT – IMO/IMDG – ICAO/IATA: não restringido para seu transporte.

Seção 15 – Regulamentação:

R20/21/22, Nocivo por inalação, por ingestão e em contato com a pele; R36/37/38, Irrita os olhos a pele e as vias respiratórias; S2, Manter fora do alcance de crianças; S1, Conservar trancado; S24/25, Evitar o contato com os olhos e a pele; S46, Em caso de ingestão chamar imediatamente ao médico e levar o rótulo do produto.

Seção 16 – Outra informações:

Data de emissão: 11/2000
Data da revisão: 05/2006

A nosso saber, as informações aqui contidas são exatas. Não obstante, nem o provedor, nem nenhuma de suas subsidiárias assumem qualquer responsabilidade quanto a exatidão ou integridade das informações contidas. A determinação final relativa a idoneidade de todo o material é de responsabilidade exclusiva do usuário. Todos os materiais pode apresentar perigos desconhecidos e devem ser usados com cautela. A descrição de certos perigos não garante que sejam os únicos existentes.