



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
CURSO DE FARMÁCIA

FRANCISCO THIAGO GUEDES HOLANDA

**PADRONIZAÇÃO DE UM PROCEDIMENTO DE CANULAÇÃO CRÔNICA
INTRACEREBRAL GUIADO POR ESTEREOTAXIA**

FORTALEZA

2017

FRANCISCO THIAGO GUEDES HOLANDA

PADRONIZAÇÃO DE UM PROCEDIMENTO DE CANULAÇÃO CRÔNICA
INTRACEREBRAL GUIADO POR ESTEREOTAXIA

Monografia apresentada ao curso de
Farmácia da Universidade Federal do
Ceará como requisito parcial para obtenção
do título de Bacharel em Farmácia

Orientador: Prof. Dr. David Freitas de
Lucena

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- H669p Holanda, Francisco Thiago Guedes.
Padronização de um procedimento de canulação crônica intracerebral guiado por estereotaxia / Francisco Thiago Guedes Holanda. – 2017.
113 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Curso de Farmácia, Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Dr. David Freitas de Lucena.
Coorientação: Prof. Me. Ítalo Rosal Lustosa.
1. Canulação Crônica. 2. Estereotaxia. 3. Intracerebral. 4. ISO 17025. 5. Boas Práticas Laboratoriais. I.
Título.

CDD 615

FRANCISCO THIAGO GUEDES HOLANDA

PADRONIZAÇÃO DE UM PROCEDIMENTO DE CANULAÇÃO CRÔNICA
INTRACEREBRAL GUIADO POR ESTEREOTAXIA

Monografia apresentada ao curso de
Farmácia da Universidade Federal do
Ceará como requisito parcial para obtenção
do título de Bacharel em Farmácia

Orientador: Prof. Dr. David Freitas de
Lucena

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. David Freitas de Lucena (Orientador)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof^a Dr^a Francisca Maria Barros Souza
Universidade Federal do Ceará – UFC

Méd. -Vet. Gabriela Mariangela Farias de Oliveira
Universidade Federal do Ceará – UFC

A Jesus Cristo, porque Dele, e por meio Dele, e para Ele são todas as coisas. A Ele, pois, a glória eternamente. Amém! (Rm 11:36)

AGRADECIMENTOS

Ao **DEUS e PAI** de meu **Senhor Jesus Cristo**, que me tem abençoado com toda a sorte de bênção espiritual nas regiões celestiais em Cristo. Aquele que faz todas as coisas segundo o beneplácito de sua vontade e que há de fazer convergir Nele, na dispensação da plenitude dos tempos, todas as coisas, tanto as do céu como as da terra (Ef 1:3,5,11). A Ele seja o louvor, e a honra, e a glória, e o domínio pelos séculos dos séculos (Ap 5:13c).

A meus **Pais, Francisco Holanda e Graça Guedes**, por investirem tudo o que eram e tinham em mim, mesmo não tendo alcançado o devido retorno que mereciam. A eles, não só por terem me dado a vida, mas por aplicarem a disciplina que pacientemente construiu em mim o caráter adequado para servir a Deus e as pessoas, a qual pretendo reproduzi-la e aperfeiçoá-la, com o auxílio de Deus, nos meus filhos. Quando criança, não poderia imaginar que as palmadas se perpetuariam pelas gerações futuras (risos). Amo muito vocês!

A minha **Esposa, Emanuela Maria Araújo Oliveira Coelho Guedes**, pelo carinho e amor desmedido. A ela, um dos maiores desígnios de Deus na minha vida, cujo primeiro desafio foi memorizar seu nome completo (risos). Também por perseverar comigo e contribuir com meu crescimento, fazendo-me refletir sobre o que realmente importa: Deus e a Família. A **criança** que está no seu ventre, por ter me proporcionado as melhores, mais legítimas e gostosas distrações durante o processo de construção dessa monografia. Certamente essa pequena pessoa ainda irá se apropriar da minha mente por diversas vezes e me fazer orar a Deus e vagar pelo caminho sobremodo excelente que é o amor (1 Co 12:31b). Amo muito vocês!

Ao meu **Sogro** e a minha **Sogra, José Augusto e Fátima Araújo**, que, pela Graça de Deus, me deram o presente sem o qual não me tornaria o homem que sou hoje.

A toda a minha família que sempre me amou, encorajou e orou, não só pela conclusão desse curso, mas para que eu fosse feliz em todos os aspectos da minha vida. Amo vocês!

A meu **orientador**, Prof. Dr. **David Freitas de Lucena** (presidente da banca avaliadora) por ter me dado a oportunidade e a honra de exercer a Iniciação Científica em um dos melhores laboratórios da Universidade Federal do Ceará. Não somente por isso, mas por ter me desejado, no comunicado de aprovação da minha bolsa, a profissão de cientista, a qual hoje aspiro com fervor. Obrigado!

Ao meu **co-orientador**, Me. **Ítalo Rosal Lustosa**, antes de tudo um amigo por quem oro e desejo sucesso em sua empreitada de doutorado internacional. Agradeço pelos ensinamentos e pela inspiração científica que, sem dúvida, irão nortear meu futuro acadêmico.

Obrigado pelo cuidado e pela contribuição inestimável que empregaste neste Trabalho de Conclusão de Curso.

Aos integrantes da **banca**, Prof^ª Dr^ª **Francisca Maria Barros Souza** e Méd. -Vet. **Gabriela Mariangela Farias de Oliveira**. A professora Francisca por contribuir com seu conhecimento em Procedimentos Operacionais. A médica veterinária Gabriela pela sua contribuição no cuidado com os animais do laboratório. Desejo que seus procedimentos e operações sejam conduzidos por Jesus e que todos os quebra-cabeças de suas vidas tomem a forma desejada por Deus.

A **tutora** do PET/UFC Farmácia, Prof^ª Dr^ª **Nádia Accioly Pinto Nogueira**, por ter me concedido a honra de participar da sua equipe de petianos. Obrigado pelo carinho, cuidado, conselhos, aperfeiçoamento e pelo sempre caloroso acolhimento nos corredores, preocupando-se comigo e minha família. Nunca imaginava, durante as reuniões por vezes tensas do PET, que se tornaria uma amiga tão estimada. Abraço!

Aos demais **professores** da graduação, em particular da coordenação, Prof^ª Dr^ª **Nirla Rodrigues Romero** e Prof^ª Dr^ª **Zirlane Castelo Branco**, por terem aberto todas as portas possíveis para concretizar a conclusão do meu curso.

Aos **colegas** de faculdade, em particular os petianos, pelo aprendizado em liderança, criatividade inspiradora, dedicação aos projetos desenvolvidos e pelas risadas e descontração em meio a tanto trabalho. Sucesso!

Aos **colegas** de sala que mostraram excelência nas suas atitudes e realizações, me impulsionando a estudar e melhorar meus resultados. A todos esses, **Alyne Barroso, Denia Albuquerque, Eberth Andrade, Fernanda Soares, Gabrielle Dantheias, George Nascimento, João Victor, Luciana Vasconcelos, Mateus Nobrega, Talita Oliveira**, agradeço o crescimento profissional e a inspiração. Em particular, gostaria de agradecer aos amigos **Daniel Moreira** e **Tiago Valentim** que planejaram minha entrada na Iniciação Científica. Gostaria de agradecer também ao amigo e irmão em Cristo **Pedro Mateus**, pela ajuda nas cirurgias e pela comunhão em Deus.

Ao **personal técnico e funcionários**, especialmente à **Maria Vilani (Vila)**, pelo suporte nas atividades desenvolvidas. Ao médico veterinário do laboratório de microbiologia da faculdade de Farmácia **Homero Magalhães**, por seus conhecimentos em Autoclavagem.

A **gerência** e aos **funcionários** da **Farmácia Pague Menos**, especialmente **Flávia Daniele**, que exercitaram a paciência e compreenderam minhas faltas durante o estágio. Vocês foram de suma importância para a conclusão deste trabalho. Obrigado! Sucesso!

Aos amigos e irmãos, **Zedequias Santos** e **Raíssa Duarte**, que contribuíram para a captação das fotos introduzidas neste trabalho.

Aos amigos e irmãos da **igreja em Fortaleza**, que gemem, com uma ardente expectativa, pela conclusão desse curso, orando para que eu seja redimido desse cativo e seja liberto para viver com eles a glória dos filhos de Deus (risos). Desejo que Deus me conceda a graça de viver todos os meus dias com eles e, quem sabe, um dia servi-los em tempo integral.

A todos que somaram com minha formação e com a conclusão dessa monografia.

“Mas o nobre projeta coisas nobres e na sua
nobreza perseverará” (Isaías 32:8)

RESUMO

O aumento da prevalência das neuropsicopatologias exige uma resposta da ciência em termos de novas abordagens de pesquisa e a construção de modelos animais inéditos que ajudem a elucidar as lacunas existentes nos mecanismos fisiopatológicos, desenvolvam estratégias de prevenção e contribuam com tecnologias farmacológicas que obtenham melhor perfil de efeitos adversos, tolerabilidade e suplantem as farmacoresistências. A canulação crônica intracerebral guiada por estereotaxia representa uma técnica com potencial para inovação em pesquisa e para dar continuidade a investigação dos estudos pré-clínicos já consagrados. Essa é uma ferramenta estratégica que permite alcançar com precisão e segurança qualquer área localizada no encéfalo de forma minimamente invasiva, o que permite a investigação dos efeitos dos neurotransmissores e das vias de sinalização em animais acordados, ou seja, somando o estudo comportamental às análises. A reprodução bem-sucedida dessa técnica, aliada a economia de tempo, recursos humanos e financeiros, só é possível com uma padronização dos procedimentos que seja submissa às Boas Práticas Laboratoriais e às normas preconizadas pela ABNT ISO/IEC 17025. Os Procedimentos Operacionais produzidos neste trabalho visam a padronização da técnica a fim de garantir a qualidade dos experimentos, assegurar a repetibilidade, reprodutibilidade e rastreabilidade dos dados, além de obter resultados mais fidedignos. Dessa maneira, este trabalho adquire importância como guia para procedimentos que envolvem estereotaxia e como referência para a certificação de laboratórios de pesquisa.

Palavras-chave: Canulação Crônica. Estereotaxia. Intracerebral. ISO 17025. Boas Práticas Laboratoriais.

ABSTRACT

The increase in the prevalence of neuropsychopathologies requires a response from science in terms of new research approaches and the construction of novel animal models that help elucidate existing gaps in pathophysiological mechanisms, develop prevention strategies and contribute to pharmacological technologies that obtain better adverse effects, tolerability and substitute pharmacoresistances. The Chronic cannulation intracerebral guided by stereotactic represents a technique with potential for innovation in research and to continue the investigation of the pre-clinical studies already consecrated. This is a strategic tool that allows to reach accurately and safely any area located in the brain in a minimally invasive way, which allows the investigation of the effects of neurotransmitters and signaling pathways in animals agreed, that is, adding the behavioral study to the analyzes. The successful reproduction of this technique, combined with the saving of time, human and financial resources, is possible only with a standardization of the procedures that is submitted to Good Laboratory Practices and to the norms recommended by ABNT ISO / IEC 17025. The Operational Procedures produced in this work aim at standardization of the technique in order to guarantee the quality of the experiments, to ensure the repeatability, reproducibility and traceability of the data, in addition to obtaining more reliable results. Thus, this work acquires importance as a guide for procedures that involve stereotactic and as a reference for the accreditation of research laboratories.

Keywords: . Chronic Cannulation. Stereotaxia. Intracerebral. ISO 17025. Good Laboratory Practice.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Modelo do Cabeçalho.....	31
Figura 2 – Modelo do Rodapé.....	32
Figura 3 – Fluxograma Multifuncional.....	33
Figura 4 – Fluxograma Simples.....	34
Figura 5 – Exemplos da Notação.....	34
Figura 6 – Modelo de Controle de Revisão.....	35
Figura 7 – Planilha de Controle em Estereotaxia.....	46
Figura 8 – Planilha de Coordenadas Cirúrgicas.....	46
Figura 9 – Planilha de Controle de Peso dos Animais	47
Figura 10 – Listra Mestra.....	48
Figura 11 – Planilha de Controle de Distribuição.....	49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Procedimentos desenvolvidos pré-ensaio.....	22
Quadro 2 – Modelo do cabeçalho para a primeira página.....	41
Quadro 3 – Modelo resumido do cabeçalho para as demais páginas.....	41
Quadro 4 – Modelo de rodapé.....	42
Quadro 5 – Modelo de controle de revisão.....	45
Quadro 6 – Relação de Procedimentos Operacionais Padrão e Documentos.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACSF: *Artificial cerebrospinal fluid*, i.e. fluido cerebrospinal artificial

BPL: Boas Práticas Laboratoriais

BPMN: Business Process Modelling Notation

CEUA: Comissão de Ética para o Uso de Animais

CONCEA: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DA: Doença de Alzheimer

DBCA: Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos

DM: Diabetes Mellitus

DP: Doença de Parkinson

DPO: Dia(s) pós operatório(s)

DV: Eixo ou coordenada dorsoventral

FDA: Food and Drug Administration

FSP: *flat skull position*

i.c.v.: Via de administração intracerebroventricular

IEC: *International Electromechanical Commission*

i.p.: via de administração intraperitoneal

ISO: *International Organization for Standardization*

IT: Instrução de Trabalho

LNF: Laboratório de Neuropsicofarmacologia

Na⁺K⁺ATPase: Sódio-Potássio Adenosina Trifosfatase

NBR: Norma Brasileira

NPDM: Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos

OECD: Organisation of Economic Co-operation and Development

ONU: Organização das Nações Unidas

PDCA: Plan, Do, Check, Act

PO: Procedimento Operacional

POP: Procedimento Operacional Padrão

STZ: Estreptozotocina

UFC: Universidade Federal do Ceará

6-OHDA: 6-hidroxidopamina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	Gestão da Qualidade	19
<i>2.1.1</i>	<i>Produção, Aprovação e Emissão dos Documentos</i>	20
<i>2.1.2</i>	<i>Qualificação do pessoal</i>	20
<i>2.1.3</i>	<i>Métodos selecionados ou desenvolvidos pelo laboratório</i>	22
<i>2.1.4</i>	<i>Validação de Métodos</i>	23
<i>2.1.5</i>	<i>Equipamentos</i>	24
<i>2.1.6</i>	<i>Manuseio de itens de ensaio</i>	24
<i>2.1.7</i>	<i>Apresentação de Resultados</i>	25
2.2	Boas Práticas de Laboratório	25
<i>2.2.1</i>	<i>Organização e Pessoal</i>	27
<i>2.2.2</i>	<i>Equipamentos</i>	27
<i>2.2.3</i>	<i>Caracterização dos itens de teste e sistemas de teste</i>	27
<i>2.2.4</i>	<i>Protocolos e Procedimentos Operacionais Padrão</i>	27
<i>2.2.5</i>	<i>Resultados</i>	28
<i>2.2.6</i>	<i>Controle de Qualidade</i>	28
2.3	Procedimento Operacional Padrão	28
<i>2.3.1</i>	<i>Estrutura de um Procedimento Operacional</i>	30
3	OBJETIVOS	36
3.1	Objetivo geral	36
3.2	Objetivos específicos	36
4	METODOLOGIA	37
4.1	Padronização dos Procedimentos	37
<i>4.1.1</i>	<i>Formatação dos POPs</i>	38
<i>4.1.2</i>	<i>Elementos de estrutura e identificação dos POPs</i>	39
4.2	Elaboração de Documentos e Fotos	45

4.2.1	<i>Documentos</i>	45
4.2.2	<i>Fotos</i>	47
4.3	Distribuição e Gestão de Documentos	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
6	CONCLUSÃO	56
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
	REFERÊNCIAS	58
	APÊNDICE A – FLUXO DE ATIVIDADES E O CUIDADO COM ANIMAIS	62
	APÊNDICE B – MANUFATURA DE CÂNULAS-GUIA, SONDAS E MANDRIS	72
	APÊNDICE C – CIRURGIA ESTEREOTÁXICA	85
	APÊNDICE D – MANEJO INTRACEREBRAL DE SUBSTÂNCIAS	103
	APÊNDICE E – PLANILHA DE CONTROLE EM ESTEREOTAXIA	111
	APÊNDICE F – PLANILHA DE COORDENADAS CIRÚRGICAS	111
	APÊNDICE G – PLANILHA DE COMPORTAMENTO	112
	APÊNDICE H – LISTRA MESTRA	113
	APÊNDICE I – CONTROLE DE DISTRIBUIÇÃO	119
	APÊNDICE J – ORÇAMENTO DAS CÂNULAS E MANDRIS	115

1. INTRODUÇÃO

Algumas doenças neurodegenerativas são associadas à idade e o envelhecimento da população mundial impôs mudanças drásticas na epidemiologia dessas psiconeuropatias. A Doença de Parkinson, por exemplo, é incomum antes dos 50 anos, mas aumenta consideravelmente em idades mais avançadas (FERREIRA, 2011). Um dos últimos relatórios técnicos produzidos pela Organização das Nações Unidas (ONU), intitulado “Previsões sobre a população mundial”, prevê que o número de pessoas com mais de 60 anos de idade pode triplicar nos próximos 43 anos, chegando a cerca de 2 bilhões de indivíduos (CONTESSA, 2010).

O trabalho intitulado “Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study” utilizou projeções de população da ONU para estimar o número de pessoas com demência. Foi previsto 4,6 milhões de novos casos de demência a cada ano, cerca de um novo caso a cada 7 segundos. De maneira que, em 2001, haviam cerca de 24,3 milhões de pessoas com demência. Dobrando-se esse número a cada 20 anos, em 2040, alcançar-se-á uma marca que pode chegar a 81,1 milhões de pessoas com a doença (FERRI *et al.*, 2005).

A epilepsia atinge cerca de 65 milhões de pessoas em todo mundo e representa um grande prejuízo em termos de mortalidade, comorbidade e custos relacionados à crise. Embora o número de medicamentos tenha aumentado, com melhor perfil de efeitos adversos e de tolerabilidade, e tenha ocorrido uma melhoria na eficácia dos procedimentos cirúrgicos, a vida das pessoas com epilepsia continua sendo prejudicada pelas lacunas no conhecimento e na pesquisa (MOSHÉ *et al.*, 2015; YACUBIAN, CONTRERAS-CAICEDO, RÍOS-POHL, 2014). Além disso, os novos antiepilépticos falharam em modificar a prevalência de epilepsias farmacoresistentes (REJDAK *et al.*, 2011; 2014).

Um estudo multicêntrico brasileiro realizado na atenção primária revelou alta taxa de transtornos mentais comuns, ansiedade e depressão na população do Rio de Janeiro, São Paulo, Fortaleza e Porto Alegre, cujo as porcentagens foram respectivamente, 51,9%, 53,3%, 64,3% e 57,7%. Os problemas de saúde mental foram especialmente altos entre as mulheres, desempregados, em pessoas com baixa escolaridade e baixa renda (GONÇALVES *et al.*, 2014).

As previsões, estimativas e dados epidemiológicos se concretizarão ou permanecerão os mesmos, principalmente, se não forem desenvolvidas estratégias eficazes de prevenção e tratamento para doenças como o Alzheimer (FERRI *et al.*, 2005). Os custos econômicos, sociais e pessoais de distúrbios como a epilepsia ressaltam a necessidade de mais pesquisas sobre novas

abordagens para o diagnóstico, tratamento e prevenção das neuropsicopatias e suas consequências (ENGEL; SCHWARTZKROIN, 2006).

Com o intuito de fomentar o uso da estereotaxia como ferramenta estratégica para dar continuidade ao uso das metodologias já consagradas ou desenvolver novas abordagens de pesquisa pré-clínica em laboratórios de neurociência, empreendemos nesse trabalho a padronização de um procedimento de canulação crônica guiado por estereotaxia.

Estereotaxia provem de um termo grego que significa espaço tridimensional ordenado. Por meio dessa técnica possibilita alcançar com segurança e precisão qualquer área localizada no encéfalo sem a necessidade de realizar uma grande abertura do crânio e com preservação das demais estruturas cerebrais, ou seja, trata-se de uma neurocirurgia minimamente invasiva. Esse procedimento neurocirúrgico se baseia em três premissas fundamentais: um atlas estereotáxico do encéfalo que permite a identificação das estruturas anatômicas alvos por meio de um sistema de coordenadas geométricas; um aparelho de estereotaxia fixado na cabeça com a finalidade de localizar o alvo intracerebral por meio do sistema de coordenadas calculado por intermédio do atlas; trepanação com o posicionamento da sonda ou cânula em direção a estrutura alvo direcionada pelo sistema de coordenadas (PITTELLA, 2008).

A canulação crônica em regiões específicas do cérebro tem sido uma metodologia utilizada para investigar os efeitos dos neurotransmissores e as vias de sinalização em animais acordados, permitindo mimetizar os sintomas de um determinado transtorno e analisá-lo por meio de um estudo comportamental. Esse é um dos critérios descritos por Ellenbroek e Cools em 1990 para considerar um modelo animal em transtorno psiquiátrico válido (PONT, 2016; FORNARI *et al.*, 2012).

Estudos pré-clínicos tem sido conduzidos com a finalidade de simular doenças neurológicas com o objetivo de compreender seus mecanismos fisiopatológicos, além de construir uma base para desenvolver estratégias de tratamento e prevenção. A pesquisa do efeito neuroprotetor da Berberina, por exemplo, foi possível devido a indução da Doença de Parkinson (DP) por meio da injeção intra-estriatal unilateral da neurotoxina 6-hidroxidopamina (6-OHDA) que, desde 1968, é a ferramenta mais utilizada para a replicação da perda de neurônio dopaminérgico em roedores. Essa técnica apresenta baixa complexidade e baixo custo, além de ser altamente reprodutível. A 6-OHDA não cruza a barreira hematoencefálica, por isso só produz toxicidade no SNC (modelo de DP) se for injetada diretamente no cérebro através de cirurgia estereotáxica (NUNES, 2015; TADAIESKY, 2010). Dessa maneira, a estereotaxia

representa uma técnica extremamente útil na administração de fármacos que não atravessam a barreira hemato-encefálica

Por sua vez, a administração de estreptozotocina (STZ) por via intravenosa ou intraperitoneal é usada para induzir tanto diabetes mellitus (DM) dependente de insulina quanto a não dependente em ratos. Contudo, animais submetidos a cirurgia estereotáxica com injeção intracerebroventricular de STZ produz um modelo de Doença de Alzheimer (DA) esporádica sem alterar os níveis de glicose no plasma e sem induzir DM (TORRÃO *et al.*, 2012). Isso reintera a importância do procedimento estereotáxico quando a via de administração da droga define o modelo a ser trabalhado.

No caso do transtorno bipolar, torna-se particularmente difícil desenvolver um modelo animal dessa doença, pois as alterações de humor são recorrentes e variam entre episódios maníacos, depressivos e mistos. Segundo Ellenbroek e Cools (1990) há pelo menos três critérios básicos para um modelo animal em transtorno psiquiátrico: mimetizar os sintomas, reproduzir alguns aspectos fisiopatológicos e a reversão dos sintomas induzidos no modelo animal com os fármacos já utilizados. O modelo animal de mania induzido pela administração intracerebroventricular de ouabaína, um potente inibidor da sódio-potássio adenosina trifosfatase ($\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$), atende todos os critérios de validação e reproduz sintomas tipo-maníaco por sete dias após uma administração e sintomas de hipoatividade, que pode ser considerado como sintoma tipo-depressivo. Isso acontece porque há a diminuição da atividade da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ tanto em pacientes com episódio depressivo quanto maníaco. Além disso, foi encontrado um aumento de ouabaína endógena em pacientes bipolares (PONT, 2016). Esses estudos mostram que a canulação crônica por estereotaxia pode contribuir com modelos animais mais completos e eficazes nos estudos pré-clínicos.

Quanto ao desenvolvimento de novos fármacos antiepilépticos que superem o problema da farmacoresistência, é preciso empreender novos modelos pré-clínicos da indução da doença, tendo em vista que o modelo do eletrochoque máximo e do pentilenotetrazol não contemplam todos os tipos de crise. Isso pode ter levado ao descarte prematuro de substâncias potencialmente eficazes nos demais tipos de crises (WHITE *et al.*, 2006; LÖSCHER, 2011; BRANDT *et al.*, 2015). Assim, o modelo de crises epiléticas com injeção intracerebroventricular de ouabaína desenvolvido por Ítalo Rosal em 2016 e inspirado nos trabalhos publicados pelo grupo liderado por André Barbeau entre 1972 e 1978, atende a demanda de novos métodos que contemplem os demais tipos de crise (LUSTOSA, 2016). Assim a estereotaxia pode funcionar como uma metodologia inovadora que aborde outros espectros das doenças neurológicas ainda não estudados.

Existem diversas técnicas e modelos que envolvem estereotaxia e canulação crônica, inclusive microdiálise de líquido cerebral com medição de dopamina no Núcleo Accumbens durante a microinjeção simultânea e direta de medicamentos na Área Tegmentar Ventral, por exemplo (MURPHY; MAIDMENT, 2002). Contudo, a reprodução bem-sucedida dessa técnica, aliada a economia de tempo, recursos humanos e financeiros, não poderia ser possível sem uma padronização que assegurasse a Garantia da Qualidade e estivesse embasada nas Boas Práticas Laboratoriais (BPL).

Assim, a fim de garantir a qualidade dos experimentos e diminuir a perda de recursos, além de propor uma condução consciente, rastreável e eficiente dos estudos pré-clínicos, oferecemos nessa monografia uma padronização da cirurgia estereotáxica que seja executada de acordo com as Boas Práticas de Laboratório. Para isso, utilizamos instrumentos como o Procedimento Operacional Padrão (POP), componente vital no gerenciamento da qualidade do laboratório (PEIXOTO *et al.*, 2015; DAINESI, 2007; HATTEMER-APOSTEL, 2001).

Além disso, não havia no Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF) da Universidade Federal do Ceará (UFC) um Procedimento Operacional Padrão (POP) que obedecesse as normas da ABNT ISO/IEC 17025 que estabelece os requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Dessa maneira esse trabalho se propõe a produzir POPs que sirvam para lançar as bases para certificação, não somente do LNF, mas também do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da UFC, como laboratório e instituição que obedecem às normas pré-estabelecidas. Estendemos esse objetivo para as demais instituições e laboratórios de pesquisa que queiram lançar mão desse trabalho com a finalidade de atender aos requisitos previamente estabelecidos pelas normas técnicas e enveredar pelo caminho do reconhecimento e da acreditação. Segundo Bordini (2009), a adoção de sistemas de gestão de qualidade é um dos caminhos pelos quais deve-se trilhar para alcançar a certificação de laboratórios de pesquisa em instituições públicas e privadas de ensino superior (BORDINI, 2009).

A ideia desse trabalho nasceu no LNF durante o mestrado do médico e pesquisador Ítalo Rosal Lustosa. Nesse tempo, pude acompanhá-lo como aluno de Iniciação Científica e participei ativamente da pesquisa que deu origem a sua dissertação de mestrado. Como fruto dessa colaboração, trago nessa monografia os métodos desenvolvidos em forma de POP.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Gestão da Qualidade

A qualidade e o desempenho das instituições de ensino e pesquisa na área de saúde vem sendo avaliada sob uma nova perspectiva pelo Ministério da Ciência e Tecnologia. Assim, torna-se fundamental a implementação de um sistema de gestão da qualidade em laboratórios de pesquisa (BORDINI, 2009).

Os resultados divulgados por Bordini (2009) mostraram que é viável a implementação de uma gestão de qualidade nos laboratórios de pesquisa e que a norma ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005 pode servir como base para a estruturação do sistema. Além disso, a ISO 17025 tem aplicabilidade ao escopo dos laboratórios de pesquisa e é reconhecida nacional e internacionalmente, característica importante para laboratórios que participam de projetos internacionais (BORDONI, 2009).

A administração consciente das atividades de pesquisa atribui valor científico, tecnológico e econômico a essas atividades. Do ponto de vista científico os resultados da gestão em pesquisa ganham importância sob a forma de novos conhecimentos gerados, nas publicações realizadas e na divulgação do nome da instituição; do ponto de vista tecnológico, pela transferência de resultados à sociedade; e econômico, pela entrada de novos recursos para a pesquisa e redução dos custos operacionais (SCHLATTER, 2006).

Sem dúvida, o sistema de gestão promove impacto positivo no desenvolvimento de pesquisa. Contudo, a falta de posicionamento claro da alta direção dos laboratórios ou centros de pesquisa sobre as diretrizes da qualidade acaba gerando descontinuação do processo de implementação desses sistemas (BORDINI, 2009).

Sistema de gestão é o termo utilizado para significar os sistemas de qualidade, administrativos e técnicos que regem as atividades de um laboratório (ABNT, 2005).

Segundo a ISO 17025, que estabelece os requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração, os laboratórios devem possuir políticas e procedimentos para evitar envolvimento em quaisquer atividades que poderiam diminuir a confiança na sua competência ou integridade operacional. Deve documentar, além de outras coisas, seus procedimentos e instruções, na extensão necessária para assegurar a qualidade dos resultados dos ensaios. A documentação deve ser comunicada, compreendida, estar disponível e ser implementada pelo pessoal apropriado (ABNT, 2005).

2.1.1. Produção, Aprovação e Emissão dos Documentos

Os documentos devem fazer referência aos procedimentos complementares, incluindo os procedimentos técnicos. O laboratório deve estabelecer e manter procedimentos para controlar todos os documentos, tais como métodos de ensaios, instruções e manuais (ABNT, 2005).

“Todos os documentos emitidos para o pessoal do laboratório como parte do sistema de gestão devem ser analisados criticamente e aprovados para uso por pessoal autorizado, antes de serem emitidos. Uma lista mestra ou um procedimento equivalente para controle de documentos, que indique a situação de revisão atual e a distribuição dos documentos do sistema de gestão, deve ser estabelecida e estar prontamente disponível, para evitar o uso de documentos inválidos e/ou obsoletos.” (ABNT, 2005, p.5).

Após a autorização da edição dos documentos, estes devem ser distribuídos e estar disponíveis em todos os locais onde sejam realizadas as operações. Os documentos devem ser analisados periodicamente e, quando necessário, revisados para garantir contínua adequação e conformidade com os requisitos aplicáveis. Os documentos inválidos e/ou obsoletos devem ser removidos de todos os locais anteriormente expostos, a fim de evitar o seu uso não intencional. Os documentos obsoletos que forem retidos com a finalidade de preservar o conhecimento neles contido, devem ser rigorosamente identificados (ABNT, 2005).

Os documentos produzidos pelo laboratório devem ser univocamente identificados. A identificação deve incluir a data de emissão e identificação da revisão (versão), paginação, o número total de páginas, uma marca indicando final do procedimento e as autoridades emitentes (ABNT, 2005).

As alterações nos documentos devem ser analisadas criticamente e aprovadas por profissionais que apresentem a mesma competência e desempenha as mesmas funções daqueles que realizaram a análise crítica original. Os profissionais designados devem receber as informações necessárias e pertinentes que subsidiem sua análise crítica e aprovação. O texto alterado deve ser identificado no documento (ABNT, 2005).

2.1.2. Qualificação do pessoal

A direção do laboratório deve assegurar a competência de todos que operam os equipamentos e realizam ensaios. Quando for utilizado pessoal em treinamento, estes devem fazê-lo com uma supervisão adequada. O pessoal que realiza tarefas específicas devem ser qualificados com base na formação, treinamento, experiência apropriada e/ou habilidades demonstradas (ABNT, 2005).

A ciência é um processo que exige tempo e maturação intelectual, sendo fruto de várias vertentes, dentre elas, a constante capacitação das pessoas. Os estudantes de iniciação científica, por exemplo, possuem um treinamento mais coletivo e adquirem um espírito de equipe que nasce de uma capacitação ainda na graduação (FAVA-DE-MORAES; FAVA, 2000).

Em algumas áreas técnicas, pode ser requerido a certificação do pessoal que realiza determinadas tarefas. O laboratório é responsável pelo cumprimento dos requisitos especificados para a certificação de pessoal. Convém que o pessoal responsável pelas qualificações e treinamentos possuam conhecimento da tecnologia utilizada na fabricação de materiais e na realização dos ensaios, bem como dos defeitos e degradações que possam ocorrer durante o serviço empreendido. Devem também conhecer os requisitos gerais expressos na legislação e nas normas que regem as atividades e o entendimento da importância dos desvios encontrados (ABNT, 2005).

A direção do laboratório deve estabelecer os objetivos referentes à formação, treinamento e habilidades do pessoal do laboratório. O laboratório deve munir-se de um sistema que identifique as necessidades de treinamento e o momento de proporcioná-las ao pessoal. O programa de qualificação do pessoal deve estar em consonância com as tarefas atuais e previstas para o laboratório. Também deve ser desenvolvida uma ferramenta para a avaliação da eficácia do treinamento empreendido. Onde houver pessoal técnico e pessoal-chave de apoio, o laboratório deve assegurar a supervisão e a competência dos mesmos, trabalhando estes segundo as normas do laboratório (ABNT, 2005).

De acordo com o parágrafo primeiro do artigo segundo da instrução normativa número 21 de 2013, emitido pelo Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, a comprovação de conclusão de curso de aperfeiçoamento ou especialização profissional é garantido por meio da emissão de diploma, certificado ou declaração de conclusão de curso ou documento similar, expedido pela instituição responsável pelo curso, com indicação da data de conclusão e respectiva carga horária, não sendo aceitos certificados de frequência ou participação (MDIC, 2013).

As descrições das funções podem ser definidas da seguinte forma: responsabilidade com respeito à realização dos ensaios e demais procedimentos; responsabilidade com respeito ao planejamento das atividades e avaliação dos resultados; responsabilidade com respeito a modificação de métodos e quanto ao desenvolvimento e validação de novos métodos; especialização e experiências requeridas; qualificação e programas de treinamento; tarefas gerenciais (ABNT, 2005).

2.1.3. Métodos selecionados ou desenvolvidos pelo laboratório

O laboratório deve utilizar métodos e procedimentos apropriados para todos os seus ensaios. Estes incluem amostragem, manuseio, transporte, armazenamento e preparação dos itens necessários para a realização bem-sucedida dos ensaios. O laboratório deve fornecer instruções sobre o uso de todos os equipamentos pertinente e envolvidos nos ensaios, bem como instruções sobre o manuseio e a preparação dos itens necessários ao ensaio. Todas os procedimentos, instruções, normas, manuais e dados de referência aplicáveis ao trabalho realizado devem ser mantidos atualizados e disponíveis para o pessoal envolvido (ABNT, 2005).

O laboratório deve selecionar técnicas apropriadas que tenham sido publicadas por órgãos responsáveis em textos ou jornais científicos relevantes ou especificados pelo fabricante. Também pode utilizar métodos desenvolvidos ou adotados internamente, desde que sejam apropriados para o uso e sejam válidos. O método desenvolvido deve ser validado de maneira apropriada, antes de se tornar rotina do laboratório. A introdução de métodos de ensaios pelo laboratório deve ser uma atividade planejada, ser empreendida por pessoal qualificado e munido de recursos necessários e adequados para a realização bem-sucedida do projeto. O plano deve sofrer contínua atualização que acompanhe o desenvolvimento do método e deve assegurar a manutenção de uma comunicação efetiva e prática entre o pessoal envolvido (ABNT, 2005).

Para os novos métodos de ensaio, é preciso desenvolver procedimentos antes das realizações dos ensaios, contendo um leque de informações descritas no quadro exposto a seguir.

Quadro 1: Procedimentos desenvolvidos pré-ensaio

1.	Identificação adequada;
2.	Escopo;
3.	Descrição do tipo de item a ser ensaiado;
4.	Parâmetros e faixas a serem determinadas;
5.	Aparatos e equipamentos, incluindo os requisitos de desempenho técnico;
6.	Padrões de referência e materiais de referência requeridos;
7.	Condições ambientais requeridas;
8.	Descrição do procedimento:

	<ul style="list-style-type: none"> - Fixação de marcas de identificação, manuseio, transporte, armazenamento e preparação dos itens; - Verificações a serem feitas antes do início dos trabalhos; - Verificação do funcionamento adequado do equipamento e, onde necessário, calibração e ajuste do equipamento antes de cada utilização; - O método de registro das observações e dos resultados; - Quaisquer medidas de segurança a serem observadas;
9.	Critério e ou requisitos para aprovação/rejeição
10.	Dados a serem registrados e método de análise e apresentação;

Fonte: Adaptado de ABNT, 2005

2.1.4. Validação de Métodos

A validação é um instrumento utilizado para verificar se os métodos são apropriados para o uso pretendido. O laboratório precisa validar os procedimentos não normalizados, métodos criados/desenvolvidos pelo próprio laboratório, métodos normalizados usados fora do escopo original, bem como ampliação e modificação de métodos normalizados. A validação deve ser bastante abrangente com a finalidade de atender à uma determinada aplicação ou área de aplicação. O laboratório deve registrar os resultados obtidos, o procedimento utilizado para a validação e uma declaração que mencione se o método atendeu ou não às especificações, tornando-se adequado para o uso pretendido (ABNT, 2005).

“Validação é a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos.” (ABNT, 2005).

A técnica utilizada para determinar o desempenho de um método pode ser, dentre outras, a avaliação sistemática dos fatores que influenciam o resultado. Quando esses procedimentos sofrerem modificações, é preciso documentar essas mudanças e, se apropriado, realizar uma nova validação. A validação inclui a especificação dos requisitos, determinação das características dos procedimentos, uma verificação de que os requisitos podem ser atendidos com o uso da técnica desenvolvida e uma declaração sobre a validade. Quaisquer mudanças nos requisitos que modifiquem o planejamento do método em desenvolvimento devem ser aprovadas e autorizadas (ABNT, 2005).

A validação é legitimada com base em um equilíbrio entre custos, riscos e possibilidades técnicas. Existem casos em que os parâmetros necessários para validação só podem ser fornecidos de forma simplificada devido a falta de informações (ABNT, 2005).

2.1.5. Equipamentos

O laboratório deve estar aparelhado com todos os equipamentos necessários para o desempenho correto dos ensaios. Estes devem ser capazes de atingir a exatidão requerida e atender as especificações pertinentes aos ensaios em questão. O equipamento deve passar por uma verificação de suas especificações antes de ser utilizado e deve ser operado por pessoas autorizadas. Instruções atualizadas sobre uso e manutenção dos equipamentos devem estar disponíveis para a consulta dos profissionais habilitados (ABNT, 2005).

Devem ser mantidos registros de cada item do equipamento envolvidos no ensaio, incluindo pelo menos os seguintes itens: nome do item do equipamento; nome do fabricante, identificação do modelo e número de série ou outra identificação unívoca; verificação de que o equipamento atende às especificações; localização atual; instruções do fabricante ou referência à sua localização; quaisquer danos, mau funcionamento ou reparos dos equipamentos (ABNT, 2005).

O equipamento que tenha sido submetido a sobrecarga, manuseado incorretamente, produza resultados suspeitos, que mostre ter defeitos ou demonstrar estar fora dos limites especificados deve ser retirado de serviço. Este deve ser isolado, etiquetado ou marcado como fora de serviço até que seja concertado e provado seu funcionamento corretamente (ABNT, 2005).

2.1.6. Manuseio de itens de ensaio

Os itens de ensaio mencionados pela ABNT NBR ISO/IEC 17025 podem ser interpretados, nesta monografia, como animais de laboratório, materiais, equipamentos e fármacos.

O laboratório deve possuir procedimentos para o transporte, recebimento, manuseio, proteção, armazenamento, retenção e/ou remoção dos itens de ensaio, incluindo todas as providências necessárias para a proteção da integridade do item de ensaio e para a proteção dos interesses do laboratório. O laboratório deve manter um sistema para identificação de itens de ensaio. A identificação deve ser mantida durante a permanência do item no laboratório. O sistema deve ser projetado de maneira a assegurar que os itens não sejam confundidos fisicamente nem quando citados em registros ou outros documentos. O sistema deve possibilitar a subdivisão de grupos de itens (ABNT, 2005).

No ato do recebimento do item de ensaio, deve-se registrar as anormalidades ou desvios das condições normais ou especificadas, conforme descritas no método de ensaio. O laboratório deve possuir procedimentos e instalações adequadas para evitar deterioração, perda ou dano no item de ensaio durante o armazenamento, manuseio e preparação. As instruções de manuseio para o item devem ser seguidas. Quando os itens tiverem que ser armazenados ou acondicionados sob condições ambientais específicas, estas devem ser mantidas, monitoradas e registradas. Quando os itens de ensaio retornam ao serviço após os primeiros ensaios, é necessário um cuidado especial para evitar danos aos itens durante o manuseio, ensaio ou armazenamento/espera (ABNT, 2005).

2.1.7. Apresentação de Resultados

Os resultados dos ensaios realizados pelo laboratório devem ser relatados com exatidão, clareza, objetividade, sem ambiguidade e de acordo com as instruções especificadas nos métodos. Os resultados devem estar dispostos em um relatório de ensaio e devem incluir todas as informações necessárias para sua interpretação. Os relatórios de ensaios podem ser denominados de certificados de ensaios. Esses relatórios podem ser emitidos como impressos em papel ou por transferência eletrônica de dados (ABNT, 2005).

Se os laboratórios atenderem aos requisitos da ISO 17025, estarão também em conformidade com os princípios da ABNT NBR ISO 9001:2000, um sistema de qualidade que tem como principal objetivo dirigir e controlar uma organização no que diz respeito à qualidade. A ISO 9001 é um conjunto de regras escritas que organizam o funcionamento do quesito qualidade (ABNT, 2005; BORDINI, 2009).

Como a norma ISO 17025 é alinhada com a norma ISO 9001 que sugere a ferramenta PDCA, pode-se adotar essa ferramenta para a implementação do sistema de gestão. PDCA é uma sigla das palavras em inglês Plan, Do, Check, Act, ou seja, Planejar, Implantar, Avaliar, Melhorar (BORDINI, 2009).

2.2. Boas Práticas de Laboratório (BPL)

As normas da OECD (Organisation of Economic Co-operation and Development) que produziram os princípios e orientações do BPL auxiliam no alinhamento do sistema de gestão da qualidade às agências dos órgãos acreditadores (BORDINI, 2009).

As Boas Práticas de Laboratório (BPL) são definidas como um sistema de qualidade preocupado com o processo organizacional e as condições em que os estudos não clínicos de saúde e segurança ambiental são planejados, realizados, monitorados, registrados, arquivados e relatados. Os princípios do BPL pode ser considerado como um conjunto de padrões para garantir a qualidade, confiabilidade e integridade dos estudos, um relatório de conclusões verificáveis e a rastreabilidade dos dados. Os princípios exigem que as instituições atribuam funções e responsabilidades ao pessoal para garantir um bom gerenciamento operacional de cada estudo e se concentrar nos aspectos de execução do estudo (planejamento, monitoramento, registro, relatórios, arquivamento) que são de suma importância para a reconstrução de todo o estudo (WHO, 2009).

A posição dos estudos de Boas Práticas de Laboratório (BPL) é específico para o segundo estágio no processo de desenvolvimento de fármacos. Assim, ajuda o pesquisador a realizar o seu trabalho em conformidade com seu próprio projeto científico pré-estabelecido. Esses estudos são chamados de não clínicos, pois não são realizados em seres humanos. O conceito original de Boas Práticas de Laboratório foi criado nos Estados Unidos na década de 1970 devido a preocupação sobre a validade dos dados de segurança não clínicos submetidos ao Food and Drug Administration (FDA). Naquela época foi revelada inadequação do planejamento e execução dos estudos, além de casos de fraude (WHO, 2009).

O BPL podem ser aplicadas independente do local onde os estudos são realizados, ou seja, se adequa ao laboratório de um fabricante, laboratório do setor público ou universitário. Sem dúvida, a adesão do laboratório ao BLP vai remover muitas fontes de erros e incertezas, aumentando a credibilidade geral do estudo. Através da aplicação de Procedimentos Operacionais Padrão tecnicamente válidos e aprovados, muitas fontes de erros sistemáticos e artefatos podem ser evitados. Respeitar os princípios da BPL otimizará indiretamente o rendimento científico dos estudos (WHO, 2009).

O BPL enfatiza a importância da aplicação de vários pontos, dentre eles:

1. Recursos: organização, pessoal, instalações e equipamentos;
2. Caracterização: itens de teste e sistemas de teste;
3. Regras: protocolos, procedimentos operacionais padrão (POP);
4. Resultados: dados brutos, relatório final e arquivos;
5. Garantia de qualidade: monitoramento independente de processos de pesquisa (WHO, 2009).

2.2.1 Organização e Pessoal

O BPL exige definições claras da estrutura da organização de pesquisa e as responsabilidades do pessoal de pesquisa. Os gráficos organizacionais (fluxogramas) e as descrições de trabalho dão uma ideia imediata de como o laboratório funciona e a relação entre os diferentes departamentos. As responsabilidades de todo o pessoal devem ser definidas e registradas nas descrições do trabalho, bem como suas qualificações e competências (WHO, 2009).

2.2.2. Equipamentos

Todo o equipamentos deve estar em funcionamento. Um programa de validação / qualificação, calibração e manutenção atinge isso. Manter o registro de uso e manutenção é essencial para saber, em qualquer momento, o status preciso do equipamento e sua história (WHO, 2009).

2.2.3 Caracterização dos itens de teste e sistemas de teste

Para realizar um estudo corretamente, é preciso conhecer o máximo possível sobre os materiais utilizados durante o estudo. Para estudos não clínicos destinados a avaliar as propriedades dos compostos farmacêuticos, é um pré-requisito ter um conhecimento detalhado sobre as propriedades dos itens de teste (muitas vezes um animal ou parte isolada deste) ao qual a fórmula é administrada. Se o sistema de teste é um animal, é preciso conhecer seu estado de saúde, valores biológicos normais, etc (WHO, 2009).

2.2.4. Protocolos e Procedimentos Operacionais Padrão

Não é razoável incluir todos os detalhes técnicos da conduta do estudo no protocolo. Os detalhes de todos os procedimentos de rotina são descritos em POPs que fazem parte do sistema de documentação da instituição. Os POPs contribuem para reduzir o viés em estudos, padronizando técnicas frequentemente realizadas. Os laboratórios precisam padronizar certas técnicas para facilitar a comparação dos resultados entre os estudos. Ser capaz de reconstruir exatamente um estudo é uma condição *sine qua non*, indispensável, para a aceitação mútua dos dados. O BPL atribui especial importância aos POPs, sendo estes ferramentas imprescindíveis

para conduzir qualquer tarefa com qualidade, eficiência e eficácia, obedecendo critérios técnicos e observando as normas e legislações inerentes às áreas em estudo. Por fim, para facilitar a consulta, é importante que os POPs estejam disponíveis diretamente no local de trabalho e somente na versão atual (WHO, 2009).

2.2.5. Resultados

Todos os estudos geram dados brutos, às vezes chamados de dados de origem. Dados brutos são os dados originais coletados durante a condução de um procedimento. Os dados brutos também documentam as circunstâncias em que o estudo foi realizado. Eles são essenciais para a reconstrução de estudos e contribuem para a rastreabilidade dos eventos. São os resultados dos quais as conclusões dos estudos se basearam (WHO, 2009).

2.2.6. Controle de Qualidade

Conforme definido pelas BPL, é uma equipe de pessoas carregadas de assegurar que a conformidade BPL seja alcançada na unidade de teste como um todo e em cada indivíduo estudado. O controle de qualidade deve ser independente da conduta operacional dos estudos e funciona como testemunho de todo o processo de pesquisa pré-clínica (WHO, 2009).

2.3. Procedimento Operacional Padrão

A condução de pesquisas envolvem diversas atividades que exigem rigorosa observação e submissão às Boas Práticas. A maneira mais apropriada de contemplar essas atividades é por meio da elaboração de Procedimentos Operacionais Padronizados, um componente vital em qualquer sistema de gerenciamento de qualidade (DAINESI, 2007; HATTEMER-APOSTEL, 2001).

O caminho para a garantia de qualidade que perpassa pelo POP envolve, dentre outras coisas, o planejamento, o desenvolvimento, a verificação e a implementação. Gerenciamento de qualidade exige o estabelecimento de boas práticas com processos bem estabelecidos e controlados (DAINESI, 2007).

Dentro das universidades, a padronização e a gestão de processos são realizadas por meio dos POPs. O Procedimento Operacional é um roteiro padronizado que diz respeito ao

fluxo do processo, enquanto a Instrução de Trabalho é um relato detalhado de atividades específicas que exigem um padrão técnico (PEIXOTO *et al.*, 2015).

Os principais objetivos dos POPs são garantir os resultados esperados em cada tarefa executada (PEIXOTO *et al.*, 2015), alcançar a uniformidade na execução de uma função específica (BARBOSA *et al.*, 2011) e permitir a verificação de cada uma de suas etapas. Para isso, deve ser escrito de forma detalhada, garantindo a padronização da rotina operacional desejada (LOUSANA, 2005).

A importância da implementação de POPs em um centro de pesquisa reside em melhorar o preparo na condução dos estudos, garantir um processo consistente, treinamento, profissionalismo e credibilidade, garantia da qualidade por meio da padronização, rastreabilidade do processo, tanto internamente (revisões e atualização) como em inspeções e auditorias, harmonização dos processos em pesquisa na instituição (DAINESI, 2007).

O POP traz consigo o conceito de melhoramento contínuo. Para isso, esses procedimentos devem ser analisados e revisados com base nas constantes atualizações das especificações e técnicas inerentes aos métodos. Por esta razão, os POPs idealizados nesse trabalho possuem uma formatação padrão que permite quaisquer alterações necessárias (LUIZ, 2010). De acordo com Peixoto *et al.* (2015), os POPs, apesar de serem documentos estáveis, devem adaptar-se às constantes mudanças e melhorias que ocorrem ao longo do tempo nos processos.

Todas as alterações aos POPs devem ser feitas através de revisões formais. Notas e alterações como comentários de margem manuscritos não são admissíveis. Por isso, a necessidade de um sistema de controle de alterações para modificar os POPs. Alguém deve ficar responsável pelo POP (autor). Este precisa lidar com consultas e manter cada procedimento atualizado. É uma boa ideia manter um requisito mínimo para a revisão periódica, geralmente fixada em 2 anos. Se o sistema do POP estiver funcionando corretamente, parecerá sempre incompleto, devido a adições, exclusões e modificações que refletem a taxa normal de melhorias ou mudanças. Na verdade, mudanças e emendas são boas evidências de que o laboratório utiliza os POPs. Portanto, a mudança deve ser fácil e rápida, não envolvendo muitos signatários (WHO, 2009).

É aconselhável apresentar os POPs em pastas (manuais) com um índice atualizado e divisões de capítulo lógica. Deve-se ser seletivo ao distribuir os POPs, para evitar a formação de pacotes enormes de papel que coletam poeira e ficam mal armazenados. Contudo, devem estar imediatamente disponíveis para a pessoa que faz o trabalho. Todos os POPs retirados, se

não forem mais usados ou substituídos por uma versão revisada, devem ser arquivados para fazer um registro histórico completo (WHO, 2009).

A implementação bem sucedida de um POP requer suporte contínuo e entusiasmo de todos os níveis de gestão, com o objetivo de estabelecê-los como elemento essencial na organização e cultura dos laboratórios. O POP deve ser baseado na educação e no treinamento de pessoal, de modo que os procedimentos são realizados da mesma forma por todos. Também deve haver um sistema de gerenciamento para garantir que os POPs atuais estejam disponíveis no lugar certo (WHO, 2009).

Um POP devidamente desenhado trata vários benefícios para o laboratório, dentre eles, uma oportunidade para otimizar os processos, capacitação de melhorias técnicas e administrativas, facilidade de documentar técnicas complicadas, continuidade do trabalho em caso de rotação de pessoal, pode ser usado como um manual de treinamento, um meio de reconstrução do estudo após o evento, um meio de comunicação em caso de auditoria, visitas, transferência tecnológica, etc. (WHO, 2009). Em um laboratório, até mesmo “os procedimentos de limpeza devem ter uma padronização adequada, a fim de evitar a disseminação de contaminação e danos ao instrumental.” (COSTA NETO et al., [20--]).

A configuração do sistema POP geralmente é vista como a tarefa de conformidade mais importante e demorada. As técnicas clássicas de garantia de qualidade, de fato, boa administração exigem procedimentos de trabalho padronizados, aprovados e escritos. Como pode ser ilustrado na seguinte citação com base na ideia de Deming & Juran: “Use padrões como o libertador que relega os problemas que já foram resolvidos no campo da rotina e deixe as faculdades criativas livres para os problemas que ainda não foram resolvidos” (WHO, 2009).

“Uma série de passos está envolvida na elaboração de um POP, mas antes de tudo é fundamental o desenvolvimento de um formato padrão, ou seja, um POP de como fazer um POP.” (DAINESI, 2007).

2.3.1 Estrutura de um Procedimento Operacional

Os textos dos POPs devem seguir um layout padrão e ser redigidos de maneira clara, concisa e no idioma local do pessoal operacional, procurando adequá-los ao vocabulário empregado no laboratório e na universidade como um todo. O conteúdo deve zelar pela didática e pela boa compreensão dos acadêmicos de iniciação científica, mestrandos, doutorandos e professores. Deve-se evitar expressões e instruções que deem margem a interpretações dúbias


ou subjetivas. Todo o pessoal deve ser encorajado a contribuir com os POPs. É uma boa prática encorajar as pessoas que realizam os procedimentos a escrever as instruções, promovendo assim o seu senso de responsabilidade sobre o trabalho que realizam (PEIXOTO *et al.*, 2015; WHO, 2009).

Alguns itens devem ser contemplados na formatação de um procedimento, tais como: cabeçalho contendo tipo do documento, título, logotipo da empresa ou instituição; rodapé com os responsáveis pela elaboração, aprovação e autorização; glossário de termos e siglas (abreviações e definições); objetivo; documentos de referência; responsabilidades; descrição dos procedimentos; palavra de busca; documentos correlatos; fluxograma; controle de revisão; paginação, versão e número da última revisão (DAINESI, 2007; PEIXOTO *et al.*, 2015).

Os POPs devem seguir o mesmo padrão de estrutura gráfica e de lay-out. Assim, o Cabeçalho é padronizado para primeira e demais páginas do documento e subdividida em Logomarca, Tipo de Documento, Unidade, Processo, Identificação, Versão e Número de Folhas (PEIXOTO *et al.*, 2015).

O Cabeçalho é iniciado com a Logomarca da universidade ou instituição, este deve estar no alto e à esquerda. Centralizado e do lado direito da logomarca deve ser indicado o nome da universidade ou instituição por extenso e em negrito. Ao lado, o Tipo de Documento deve ser indicado como PO ou IT da seguinte forma: “Sistema de Desenvolvimento Institucional” e abaixo “PO – Procedimento Operacional” ou “IT – Instrução de Trabalho”. A Unidade indica o órgão da administração central ou unidade acadêmica na qual o documento teve origem, funcionando como um indicador de responsabilidade sobre o processo. O Nome do Processo também deve ser mencionado no cabeçalho e aponta o conjunto de atividades descritos no documento. A Identificação é o código dado ao documento e que permite sua fácil localização entre os demais arquivos daquela instituição, ou seja, é a nomenclatura utilizada para fazer referência específica àquele documento. A Versão permite saber se houve alterações posteriores à elaboração original. O cabeçalho pode ser concluído com o número parcial e total de folhas, o que garante a leitura completa e em ordem do documento (PEIXOTO *et al.*, 2015).

Figura 1 – Modelo do cabeçalho

 Universidade Federal da Bahia	Sistema de Desenvolvimento Institucional PO – Procedimento Operacional (ou) IT – Instrução de Trabalho		
	Unidade Nome da Unidade		
Processo Nome do Processo	Identificação PO/Unidade ou Órgão/Coordenação/Núcleo/XX	Versão XX	Nº de Folhas X de X

O rodapé deve estar presente em todas as páginas do documento, contendo a identificação dos responsáveis pela elaboração, aprovação, a data específica em que foi aprovado e o início da vigência (PEIXOTO *et al.*, 2015).

Figura 2 – Modelo do Rodapé

Elaborado por	Aprovado por	Data / /
----------------------	---------------------	--------------------

Fonte: Peixoto *et al.*, 2015

Os elementos textuais são introduzidos pelo Glossário de Termos e Siglas que procura relacionar termos, expressões, siglas e abreviaturas utilizadas no documento. Deve ser abordada de maneira explicativa, clara e sucinta, procurando descrever os significados e finalidades de acordo com o proposto pelo processo descrito. Siglas e abreviaturas devem ser listadas primeiro, seguida de termos e expressões, ordenando-os em ordem alfabética (PEIXOTO *et al.*, 2015).

Prosseguindo na confecção do documento é preciso esclarecer os objetivos da rotina descrevendo de maneira clara, sucinta e confiável. Os documentos de referência utilizados para a elaboração devem ser relacionados em ordem alfabética. Podem tratar-se de documentos internos (resoluções, portarias, outros POPs) ou externos que estabeleçam os parâmetros a serem seguidos pelos procedimentos descritos de maneira específica e podem ser consultados para melhor compreensão (EBSERH, 2014; PEIXOTO *et al.*, 2015).

Para o cumprimento da rotina descrita é preciso estabelecer as atribuições ou responsabilidades referentes ao pessoal de cada setor das respectivas unidades. A lista de responsabilidades deve ser organizada por ordem de execução no fluxo de atividades realizadas. O horário e o tempo de execução das atividades devem ser estabelecidos somente quando o procedimento prevê essa necessidade. Assim, deve estimar o tempo de duração da atividade descrita (PEIXOTO *et al.*, 2015).

Os POPs devem descrever minuciosamente o passo a passo para assegurar a execução da atividade ou procedimento proposto, de maneira que obedeça a sequência lógica da rotina. Se necessários, ao longo da descrição dos procedimentos, pode-se construir um espaço para comentários e observações que expliquem melhor e ajudem na compreensão da etapa realizada. Nesta, também é recomendado a indicação dos POPs e outros documentos correlacionados. Esses comentários devem vir logo abaixo da etapa ou subetapa a que se referem, a fim de evitar possíveis confusões. O final do procedimento deve ser indicado com

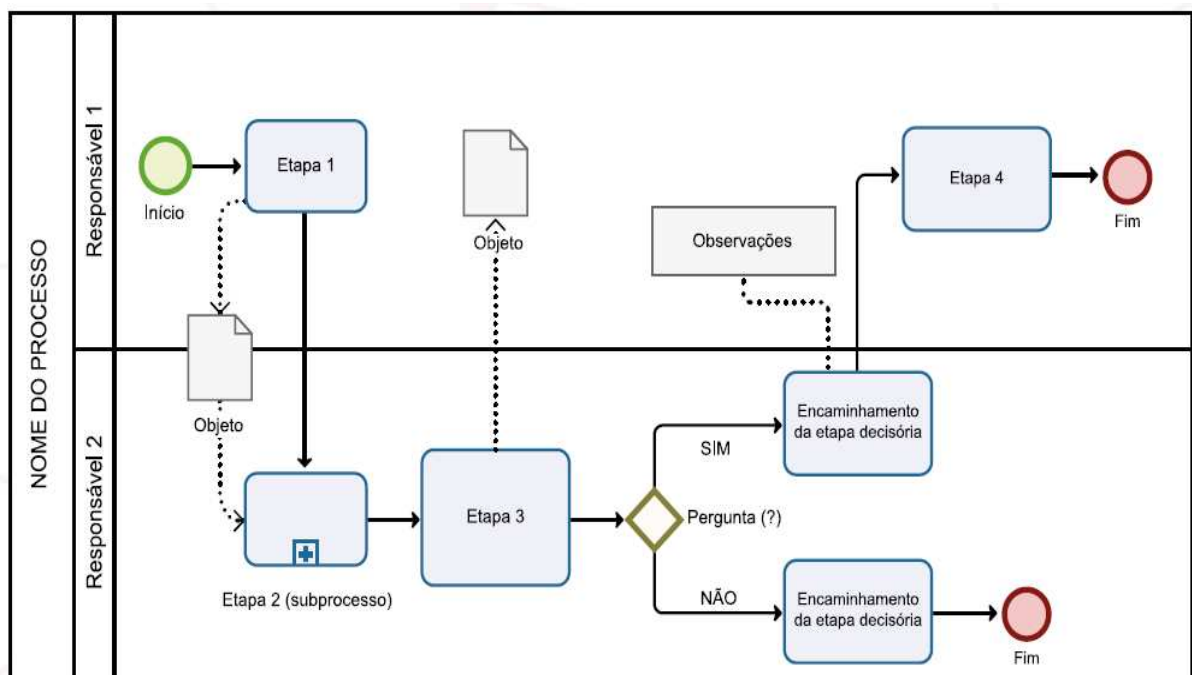
destaque e assegurar o final da rotina com a expressão “Fim do Processo” (PEIXOTO *et al.*, 2015).

As figuras ou fotos devem ser dimensionadas de acordo com a necessidade de melhor visualização dos detalhes. A legenda virá em uma caixa de texto alinhada à margem direita, indicando o número da figura e sua descrição (EBSERH, 2014).

Para facilitar a busca e identificação dos POPs conforme seus respectivos assuntos, utilizam-se palavras de busca que servem como indexadores. Devem ser escolhidos palavras que guardem relação direta com o objetivo do documento. Além disso, deve-se fornecer o endereço dos demais documentos que são utilizados ou gerados durante a rotina. Os documentos relacionados devem constar em uma lista ordenada alfabeticamente (EBSERH, 2014; PEIXOTO *et al.*, 2015).

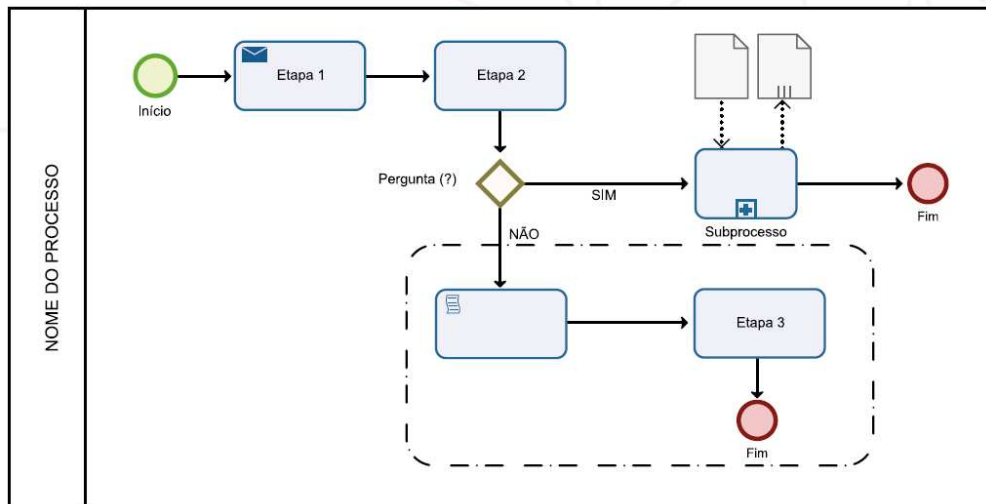
A representação gráfica do processo deve respeitar a sequência das etapas, os responsáveis, o início e o fim do processo. Este fluxograma deve representar de maneira esquemática e objetiva o procedimento, procurando abordá-lo como um todo. O objetivo é permitir a visualização global do processo e sua interdependência entre os setores e responsáveis, bem como a dependência de outros documentos. De preferência deve-se utilizar o fluxograma multifuncional em detrimento do fluxograma simples (PEIXOTO *et al.*, 2015).

Figura 3 – Fluxograma Multifuncional



Fonte: Peixoto *et al.*, 2015

Figura 4 – Fluxograma Simples



Fonte: Peixoto *et al.*, 2015

Os elementos gráficos utilizados para a construção do fluxograma seguem o padrão BPMN (*Business Process Modelling Notation*). Contudo, é prudente utilizar uma versão simplificada a fim de melhorar a compreensão por parte dos profissionais envolvidos no processo e que não tem treinamento específico nesta linguagem (PEIXOTO *et al.*, 2015).

Figura 5 – Exemplos da Notação



Fonte: Peixoto *et al.*, 2015

Por fim, é preciso manter o controle de versionamento e alterações do conteúdo do documento produzido. Este é produzido com um dos campos referente ao número da revisão. Caso seja a emissão inicial, utilizar a numeração 00, sendo incrementado em uma unidade após cada revisão. Outro campo deve conter a data em que a revisão foi realizada. Deve separar-se um campo para descrever um breve histórico informando a alteração que foi realizada. Um campo deve informar os item(s) que foram revisados e outro campo o responsável pela alteração, modificação, revisão, aprovação ou qualquer outra ação aqui não especificada que o modifique (PEIXOTO *et al.*, 2015).

Figura 6 – Modelo de Controle de Revisão

Revisão	Data	Histórico das Revisões	Item(ns) Revisados(s)	Revisado por

Fonte: Peixoto *et al.*, 2015

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Implementar a padronização de um procedimento de canulação crônica intracerebral guiado por estereotaxia.

3.2 Objetivos específicos

1. Elaborar um procedimento operacional que descreva o cuidado com animais e o fluxo de atividades inerentes à implementação bem-sucedida do processo de canulação crônica intracerebral em ratos Wistar.
2. Elaborar uma instrução de trabalho para o processo de fabricação de cânulas e mandris usados nos procedimentos que envolvem a canulação crônica guiado por estereotaxia.
3. Elaborar um procedimento operacional de cirurgia estereotáxica aplicável a qualquer área intracerebral de ratos Wistar.
4. Elaborar um procedimento operacional para o manejo, infusão ou coleta de substâncias em qualquer região intracerebral de ratos Wistar.

4. METODOLOGIA

A manufatura das cânulas-guia, sondas e mandris, bem como os procedimentos de cirurgia estereotáxica e o manejo intracerebral de substâncias que embasam esse trabalho, foram realizadas durante o mestrado do médico e pesquisador Ítalo Rosal Lustosa. Nesse tempo, pude acompanhá-lo como aluno de Iniciação Científica e participei da pesquisa que deu origem a sua dissertação de mestrado “**AVALIAÇÃO DO MODELO DE *STATUS EPILEPTICUS* POR OUABAÍNA: DA ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR À PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E INDICADORES DE DANO CEREBRAL**”, realizada com a anuência do CEUA, cujo parecer está registrado com o número 129/2014.

Em grosso modo, o protocolo de estereotaxia utilizado por Lustosa (2016) foi aquele descrito em Ferry, Gervasoni e Vogt (2014); e a manufatura das cânulas-guia, das cânulas-sonda e dos mandris foi conforme o descrito em Kokare *et al.*, (2011), com modificações.

4.1 Padronização dos procedimentos

4.1.1 Formatação dos POPs

Com a finalidade de facilitar o trabalho, foi escolhido uma formatação simples de fácil assimilação e possível de ser reproduzida em qualquer computador da universidade. Os procedimentos foram elaborados e digitados no Microsoft Office Word em papel branco no formato folha A4 (210 mm x 297 mm) com margens esquerda e superior de 3 cm e direita e inferior de 2 cm para o anverso. A fonte utilizada foi Times New Roman, tamanho 10, na cor preta. Foram utilizadas cores apenas para a logomarca, figuras, tabelas e demais ilustrações. Foi adotado o espaçamento de 1,0 entre as linhas e adicionado um espaçamento de 8 pt depois de cada título, subtítulo, seção, subseção, tabela, figura, ilustração e parágrafo, com exceção dos parágrafos do Glossário de termos e siglas e os sub itens das seções. Os títulos são numerados progressivamente em algarismos romanos e os subtítulos, seções, subseções são numerados progressivamente em algarismos arábicos. A formatação dos parágrafos está programada para o alinhamento do texto junto à margem esquerda e direita ao mesmo tempo, sem recuo da primeira linha do parágrafo (ABNT, 2011; PEIXOTO *et al.*, 2015; RATEKE; SILVA, 2014).

Os títulos não sofreram recuo. Os subtítulos sofreram um recuo de 0,64cm. O texto que compõe as seções referente a cada título ou subtítulo sofreram um recuo de 1,25 cm. Além

disso, o texto apresenta palavras em negrito e/ou em caixa alta que evidenciam o principal assunto tratado e ajudam na localização dos temas, bem como na leitura dinâmica do documento.

Foi adotado um recuo de 2,0 cm para as subseções que dizem respeito aos comentários e explicações dos assuntos trabalhados nas seções imediatamente anteriores (PEIXOTO *et al.*, 2015). Esses textos sempre iniciam com a palavra “observação” em caixa alta, no formato negrito e seguida de dois pontos.

Assim como no Manual de Elaboração de Procedimentos Operacionais e Instruções de Trabalho da Univesidade Federal da Bahia escrita por Peixoto *et al.* (2015), o cabeçalho, rodapé e títulos foram elaborados com fonte Times New Roman, tamanho 12, no formato negrito.

As tabelas, obrigatoriamente, têm título e são designadas pela palavra Tabela seguida de ifem e descrição (Tabela 1 – Fármacos usados na cirurgia estereotáxica), todo o texto está em negrito e centralizado na página. As tabelas também possuem a indicação da fonte de inspiração para sua produção (RATEKE; SILVA, 2014).

As figuras deverão ser dimensionadas objetivando a melhor visualização do procedimento e respeitando as margens estabelecidas para o documento. Esse conteúdo deve ser centralizadas na página e se dispor na sequência das informações mencionadas. Estas ilustrações devem ser colocadas logo abaixo da última informação a que se referem. As figuras devem possuir uma numeração referente ao fluxo de atividades descrito no procedimento. Essas ilustrações não possuirão legendas (EBSERH, 2014).

4.1.2 Elementos de estrutura e identificação dos POPs

Todos os POPs vão seguir o mesmo padrão de estrutura gráfica e *lay-out*. Para tal, foi adotado o modelo proposto por Peixoto *et al.* (2015), resultando na seguinte estrutura padrão:

Elementos pré-textuais:

a) Cabeçalho

b) Rodapé

Elementos textuais:

Glossário de termos e siglas

I. Objetivo

II. Documentos de Referência

- III. Responsabilidades
- IV. Procedimentos (descrição)
- V. Palavra de Busca
- VI. Documentos correlatos
- VII. Fluxograma
- VIII. Controle de revisão

Assim a estrutura estará subdividida e preenchida de acordo com os parâmetros especificados para cada um dos seguintes títulos:

- a) **Cabeçalho:** o cabeçalho está padronizado para a primeira página com os seguintes itens: Logomarcas, Tipo de Documento, Unidade, Processo, Identificação do Documento, Versão e Páginas. O cabeçalho está padronizado para as demais páginas do documento com os seguintes itens: Unidade, Processo, Identificação, Versão e Número atual e total de páginas. Acima do cabeçalho da primeira página encontra-se grafado o QR code relacionado a pasta do Dropbox onde estão contidos todos os documentos. Posiciona-se a câmera do Smartphone ou Tablet para acessar o conteúdo de forma eletrônica.

- **Logomarcas:** o primeiro item do cabeçalho é a logomarca da UFC em cores, posicionado na parte superior esquerda e com quebra de texto automática selecionado em Através. As dimensões da logomarca da UFC estão pré-estabelecidas em 2,3cm de altura por 1,73cm de largura.

Posicionado na parte superior direita dessa mesma célula e com quebra de texto automática selecionada em Através, está localizada a logomarca do NPDM. As dimensões da logomarca do NPDM estão pré-estabelecidas em 2,2cm de altura por 3,41cm de largura.

Centralizado em uma caixa de texto e do lado direito à logomarca da UFC está escrito por extenso “Universidade Federal do Ceará” e “Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos”, em negrito, com a primeira letra de cada palavra grafada em maiúsculo. Dentro da caixa de texto foi adotado um espaçamento entre as linhas de 1,0 e adicionado um espaçamento de 12 pt entre o nome da universidade e do núcleo. As dimensões da caixa de texto contida nessa célula estão pré-estabelecidas em 2,12cm de altura por 6,4cm de largura.

As dimensões dessa célula estão pré-estabelecidas em 2,3cm de altura por 11cm de largura.

- **Tipo de Documento:** Ao lado da logomarca está a célula que indica: “Instrumento de Padronização de Processo” em negrito e abaixo “POP – Procedimento Operacional Padrão”. O texto está centralizado e a primeira letra de cada palavra está grafada em maiúsculo. Dentro da célula foi adotado um espaçamento entre as linhas de 1,0 e adicionado um espaçamento de 6 pt entre o título e a especificação do tipo de documento. As dimensões dessa célula estão pré-estabelecidas em 2,3cm de altura por 5,44cm de largura.

- **Unidade:** Abaixo da logomarca está indicado em negrito: “Unidade” seguido por dois pontos. Ao lado, escrito por extenso e com a primeira letra de cada palavra grafada em maiúsculo, “Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)”. O texto está centralizado na célula. As dimensões dessa célula estão pré-estabelecidas em 0,48cm de altura por 12,9cm de largura.

- **Título:** Abaixo da unidade está indicado em negrito: “Título” seguido por dois pontos. Nesse item está escrito por extenso e com a primeira letra de cada palavra grafada em maiúsculo: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais; ou Manufatura de Cânulas-guias, Sondas e Mandris; ou Cirurgia Estereotáxica; ou Manejo Intracerebral de Substâncias. O texto está centralizado na célula.

As dimensões dessa célula estão pré-estabelecidas em 0,48cm de altura por 12,9cm de largura.

- **Identificação:** Abaixo do Processo está escrito em negrito: “Identificação” seguido por dois pontos. Ao lado está descrito sob a seguinte ordem: PO(ouIT).NPDM.LNF.03/01. O número 03/01 corresponde, respectivamente, à ordem em que os Procedimentos Operacionais (PO) ou Instruções de Trabalho (IT) devem ser consultados, a fim de realizar o procedimento no fluxo correto de execução das atividades e o número da versão daquele documento (Ordem de Consulta/Versão). O texto está centralizado na célula.

As dimensões dessa célula estão pré-estabelecidas em 0,48cm de altura por 16,44cm de largura.

- **Versão:** Abaixo do Tipo de Documento está indicado “Versão”. Abaixo deste, o número 01 para todos os documentos produzidos, haja vista que essa monografia concebe tais protocolos.

As dimensões dessa célula estão pré-estabelecidas em 0,48cm de altura por 1,77cm de largura.

- **Páginas:** Indica a numeração parcial e total de folhas do POP, a fim de garantir a leitura completa do documento e na ordem adequada.

As dimensões dessa célula estão pré-estabelecidas em 0,48cm de altura por 1,79cm de largura.

Quadro 2 – Modelo do cabeçalho para a primeira página

 Universidade Federal do Ceará Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos		Instrumento de Padronização de Processo	
		POP – Procedimento Operacional Padrão	
Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)		Versão	Páginas
Título: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais		01	041/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01			

Fonte: Modificado de Peixoto *et al.*, 2015

Quadro 3 – Modelo resumido do cabeçalho para as demais páginas

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título006F: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais	01	041/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01		

Fonte: Modificado de Peixoto *et al.*, 2015

b) **Rodapé:** O rodapé está presente em todas as páginas do documento e contém as seguintes informações:

- **Elaborado por:** “Elaborado por” está grafado em negrito na parte superior esquerda da célula e o nome “Francisco Thiago Guedes Holanda” está escrito abaixo. O espaçamento entre o título da célula e o nome é de 1,0.

- **Aprovado por:** Ao lado da célula que contem o item “Elaborado por”, está indicado: “Aprovado por” grafado em negrito na parte superior esquerda da célula e o nome “David Freitas de Lucena” está escrito abaixo. O espaçamento entre o título da célula e o nome é de 1,0.

- **Data:** 06/12/2017. Esta célula contem a data de aprovação do POP.

Quadro 4 – Modelo de rodapé

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------











Fonte: Modificado de Peixoto *et al.*, 2015

Glossário de termos e siglas: foram listados em ordem alfabética os termos, expressões, siglas e abreviaturas utilizados nos documentos e que poderiam causar dúvidas e confusão.

- I. Objetivo:** para cada documento foi informado o objetivo do procedimento ou instrução de maneira clara e concisa.
- II. Documentos de Referência:** para cada documento foi relacionado em ordem alfabética as referências utilizadas para a elaboração dos POPs. Foi adicionado um espaçamento de 8 pt depois de cada referência com o intuito de melhorar a visualização e aumentar a distinção entre os trabalhos.
- III. Responsabilidades:** para cada documento foram designados, desde técnicos de laboratório, passando por estudantes de Iniciação Científica (ICs), estudantes de pós-graduação e professores, os responsáveis e suas funções diante dos procedimentos.
- IV. Procedimentos:** apresentamos o passo a passo para a execução de cada atividade que envolve a rotina dos procedimentos estereotáxicos. As ilustrações foram citadas e inseridas o mais próximo possível do trecho a que se referiam, a fim de elucidar com êxito o procedimento descrito no texto (ABNT, 2011).
Os procedimentos iniciam com uma lista de checagem de todos os materiais e equipamentos necessários para a realização da atividade. Neste, de forma geral, encontram-se o nome do material ou equipamento, suas especificações, fabricante, localização ou portador do item seguido da data atualizada, o estado em que se encontra o item também seguido da data atualizada da lista de checagem. O checklist deve ser preenchido com canetas tipo pincel, cuja tinta pode ser facilmente removida para realizar a atualização dos dados.
O tempo médio de execução foi estimado para cada atividade por meio de um cronômetro. Registramos o tempo médio no início das seções correspondentes com a finalidade de permitir o melhor planejamento do tempo por parte dos pesquisadores.

Ao final do procedimento, indicamos a finalização da rotina com a expressão “Fim do Processo” em negrito, centralizado na página com 15 hifens antes e depois da expressão.

- V. Palavras de Busca:** para o Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais, utilizamos as seguintes palavras de busca: Canulação Crônica, Cirurgia Estereotáxica, Cluidado com animais, Fluxo de Atividades, Intracerebral, Wistar; para a Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris, utilizamos as seguintes palavras de busca: Cânula, Canulação Crônica, Estereotaxia, Mandris, Manufatura, Procedimento, Sondas; para Cirurgia Estereotáxica, utilizamos as seguintes palavras de busca: Cirurgia Estereotáxica, Intracerebral, Procedimento, Wistar; para Manejo Intracerebral de Substâncias, utilizamos as seguintes palavras de busca: Coleta, Infusão, Intracerebral, Substâncias, Wistar.
- VI. Documentos correlatos:** apresentamos links com material relacionado aos POPs necessários durante a rotina. Os links estarão disponíveis em formato de endereço eletrônico e QR code. Para acessá-los, o pesquisador deverá posicionar a câmera de seu celular ou tablet, aberto no aplicativo de QR code, defronte ao código de barras em 2D. O aparelho será redirecionado para o endereço eletrônico em questão, seja para o download do arquivo em pdf no Dropbox ou planilha do Google Drive. Todos os QR code estarão configurados no tamanho 2,5 x 2,5 cm.
- VII. Fluxograma:** apresentamos uma representação gráfica de todos o processo por meio de suas características básicas (nome do processo, início, fim, responsáveis, etapas, sequência). As setas mostram a sequência do processo, bem como a interdependência entre as funções desempenhadas pelos responsáveis. Nenhum dos fluxogramas estará separado por páginas, mas presente em apenas uma página, a fim de melhorar a visualização global do processo. Utilizamos o fluxograma multifuncional para representar os processos elaborados nessa monografia.
- Os elementos gráficos que utilizamos nos fluxogramas seguem o padrão BPMN (Business Process Modelling Notation). Foi adotada uma versão simplificada a fim de melhorar a compreensão daqueles que não tem treinamento específico nessa linguagem. Abaixo estão os exemplos de notação que utilizamos:

-  Indica o início do processo
-  Indica o fim do processo
-  Indica a realização de uma atividade (etapa do processo)
-  Indica a realização simultânea de atividades diferentes por indivíduos diferentes.
-  Indica a realização de uma atividade que não está diretamente ligada ao fluxo de atividades descritos
-  Indica um objeto de dados que fornece informações para realizar as checagens necessárias à realização do processo
-  Indica um objeto de dados que fornece informações para que uma atividade possa ser executada
-  Indica a existência de uma tomada decisória no processo
-  Indica a ordem em que as atividades são executadas
-  Indica a associação entre uma etapa do fluxograma e uma informação

VIII. Controle de Revisão: os dados foram preenchidos em tabela, fonte Times New Roman, nº 10, conforme o modelo abaixo:

- **Revisão:** o número que atribuímos à revisão em todos os documentos foi 00, por se tratar da emissão inicial destes. A cada revisão, este número deve ser incrementado em uma unidade.
- **Data:** 06/12/2017. Informa a data na qual foi entregue o trabalho para aprovação, seja no momento que sucede a elaboração ou a modificação.
- **Histórico das Revisões:** elaboração do documento. Este campo deve conter um breve histórico informando a alteração que foi introduzida.
- **Item(ns) Revisado(s):** todos. Este campo deve informar os itens que foram revisados.
- **Revisado por:** Francisco Thiago Guedes Holanda. Este campo deve informar o autor responsável pela elaboração ou alteração do documento.

- **Aprovado por:** David Freitas de Lucena. Esta linha da tabela deve conter a data de aprovação do documento, a identificação do responsável pela aprovação e o grau de qualificação deste.

- **Revisado:** Ítalo Rosal Lustosa e Gabriela Mariangela Farias de Oliveira. Esta linha da tabela deve conter a data em que as alterações sugeridas enviadas, a identificação dos responsáveis pelas propostas de modificação e o grau de qualificação destes.

- **Elaborado:** Francisco Thiago Guedes Holanda. Esta linha da tabela deve conter a data final em que as modificações sugeridas foram pensadas e executadas, a identificação do responsável pelas alterações e o grau de qualificação deste.

Quadro 5 – Modelo de controle de revisão

Revisão	Data	Histórico das Revisões	Itens Revisados	Revisado por
00	06/12/2017	Elaboração do Documento	Todos	Thiago Guedes

Fonte: Modificado de Peixoto *et al.*, 2015

	Data	Nome	Gruação/Título
Aprovado por	06/12/17	David Freitas de Lucena	Medicina/Doutor
Revisado	06/12/17	Ítalo Rosal Lustosa	Medicina/Mestre
Revisado	06/12/17	Gabriela Mariangela F. de Oliveira	Medicina Veterinária
Elaborado	06/12/17	Francisco Thiago Guedes Holanda	Farmácia

Fonte: Modificado de Silva e Peixoto, 2014

4.2. Elaboração de Documentos e Fotos

4.2.1. Documentos

As planilhas foram elaboradas e digitadas em papel A4 (210 mm x 297 mm) orientada como retrato ou paisagem e com margens esquerda e superior de 3 cm e direita e inferior de 2 cm para o anverso. A fonte utilizada foi Times New Roman, tamanho 10, na cor preta.

A “Panilha de Controle em Estereotaxia” foi contruída no Word em formato de tabela e subdividida em 10 colunas que correspondem aos títulos e 4 linhas que correspondem aos diferentes animais em experimentação. Cada coluna contem os seguintes títulos: Número da Gaiola (Nº da Gaila); Dia da Cirurgia; Peso_(g); Número do Animal (Nº do Animal); Dose Cetamina (P_(g) X 0,0014)mL; Dose Xilazina (P_(g) X 0,0005)mL; Dose Cetoprofeno (Peso_(g) X

0,0014)mL; Experimento Pós-operatório (data); Peso(g); Cor/Nº Eppendorf (grupo/área dissecada). A planilha ainda apresenta uma caixa de texto abaixo para a anotação das observações.

Figura 7 – Planilha de Controle em Estereotaxia

Nº da Gaiola ¹	Dia da Cirurgia	Peso(g)	Nº do Animal	Dose Cetamina (P(g) X 0,0014)mL	Dose Xilazina (P(g) X 0,0005)mL	Dose Cetoprofeno (Peso(g) X 0,0014)mL	Experimento Pós-operatório	Peso(g)	Cor/Nº Eppendorf
	__/__/__	g		mL	mL	mL	__/__/__	g	
	__/__/__	g		mL	mL	mL	__/__/__	g	
	__/__/__	g		mL	mL	mL	__/__/__	g	
	__/__/__	g		mL	mL	mL	__/__/__	g	
OBSERVAÇÕES:									

Fonte: Elaborado pelo autor

A “Planilha de Coordenadas Cirúrgicas” foi contruída no Word em formato de tabela e subdividido em várias células. As células sombreadas apresentam as informações que devem ser especificadas nas células não sombreadas. A planilha ainda apresenta uma caixa de texto para a realização dos cálculos e uma caixa de texto para observações.

Figura 8 – Planilha de Coordenadas Cirúrgicas

Nº da Gaiola:	Nº do Animal:	Dia: __/__/__	Cálculos:	Observação:
Peso(g):	Cirurgião:			
	Auxiliar:			
Coordenadas				
Mediolateral (ML):				
Dorsoventral final de Bregma (DV):				
Dorsoventral final de Lambda (DV):				
Altura do Clamp Nasal:				
Anteroposterior de Bregma (AP):				
Área Intracerebral:	AP -	=		
	ML -	=		

Fonte: Elaborado pelo autor

A “Planilha de Comportamento” foi contruída no Word em formato de tabela e subdividida em um cabeçalho de 8 colunas e um corpo de 2 colunas com 45 linhas para anotação do horário e manifestação comportamental do animal. Cada coluna do cabeçalho contem os seguintes títulos: Nome do Analista; Dia da Cirurgia; Número da Gaiola (Nº da Gaila); Número do Animal; Peso(g); Experimento Pós-operatório (data); Peso(g); Cor/Nº Eppendorf (grupo/área dissecada).

A “Planilha de Controle de Peso dos Animais” foi construída no Excel em formato de tabela e gráfico. A tabela foi subdividida em 12 colunas, cada uma referente a uma gaiola em específico. A numeração da gaiola segue a orientação contida no Procedimento Operacional Padrão (POP) intitulado “Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais”. O controle de peso

está disponível para no máximo 12 semanas e cada campo deve ser preenchido com a média da massa corpórea dos animais de uma determinada gaiola, começando a preencher quando a média atingir 100 gramas.

Quando a média da massa corpórea de uma determinada gaiola atingir um valor maior que 150 gramas, a célula passará automaticamente do preenchimento verde e texto verde escuro para preenchimento amarelo e texto amarelo escuro. Quando a média atingir um valor maior que 200 gramas, a célula passará automaticamente do preenchimento verde e texto verde escuro para preenchimento vermelho claro e texto vermelho escuro.

À medida que os campos são completados, o gráfico tomará forma automaticamente. As linhas traçadas no gráfico obedecem a mesma cor das células que correspondem a cada gaiola. A visualização e edição deste documento é feita em uma planilha compartilhada do Google Drive, o que permite o acompanhamento online por parte dos integrantes da pesquisa. Para editar a planilha por meio da tecnologia QR code é preciso baixar o aplicativo de Planilha do Google.

Figura 9 – Planilha de Controle de Peso dos Animais



Fonte: Elaborado pelo autor

4.2.2 Fotos

As fotos presentes nesse trabalho foram capturados com uma câmera Canon EOS Rebel T5 e uma câmera SONY 14.1 mega pixels. As fotos estão anexadas nos POPs no tamanho padrão de 2 ou 3 cm de altura e com numeração correspondente ao fluxo de atividade.

4.3. Distribuição e Gestão dos Documentos

A distribuição dos POPs estará sob a responsabilidade do Professor Orientador da respectiva pesquisa. As cópias serão plastificadas a fim de manter a durabilidade, evitar rasuras, alterações não autorizadas no documento e permitir a utilização de canetas pincel para a marcação da lista de checagem e demais pontos do texto, sendo a tinta facilmente removível. Os professores responsáveis pelo laboratório devem empreender treinamentos a fim de capacitar técnicos de laboratório, estudantes de iniciação científica, estudantes de pós-graduação no manuseio e execução dos POPs.

Os originais de todos os POPs, planilhas e demais documentos devem ser armazenados em uma pasta catálogo com pelo menos 20 envelopes (folhas plásticas). Esta pasta deve conter um índice atualizado e divisão de capítulos lógico, como aconselha as Boas Práticas Laboratoriais publicadas pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2006). O controle de distribuição e a lista mestra devem permanecer atualizados nessa pasta.

O controle de atualização dos documentos é realizado através da Lista Mestra encontrada na íntegra no apêndice H desta monografia. O documento apresenta um cabeçalho semelhante ao adotado para os POPs e descrito anteriormente na letra a e b do item 4.1.2 da metodologia deste trabalho. As demais células desta planilha foram planejadas com fonte de tamanho 12 e divididas em 5 colunas: Número da Revisão; Data da Revisão; Histórico de Revisões; Itens Revisados; Nome do Revisor.

Figura 10 – Lista Mestra

		Universidade Federal do Ceará Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos				Instrumento de Padronização de Processo LM – Lista Mestra	
Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)							
Processo: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais							
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01							
Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda				Aprovado por David Freitas de Lucena		Data 06/12/2017	
Revisão 00	Data 01/12/17	Histórico das Revisões Elaboração do Documento		Itens Revisados Todos		Revisado por Thiago Guedes	
Revisão	Data	Histórico das Revisões		Itens Revisados		Revisado por	
Revisão	Data	Histórico das Revisões		Itens Revisados		Revisado por	
Revisão	Data	Histórico das Revisões		Itens Revisados		Revisado por	

Fonte: Elaborado pelo Autor

O Controle de Distribuição é realizado com base na planilha encontrada na íntegra no apêndice I desta monografia e deve garantir que os documentos apropriados estejam disponíveis em todos os locais onde sejam realizadas as atividades. O documento apresenta um cabeçalho semelhante ao adotado para os POPs e descrito anteriormente na letra a e b do item 4.1.2 da metodologia deste trabalho. As demais células desta planilha foram planejadas com um tamanho da fonte equivalente a 12 e divididas em 6 colunas: Data de Entrega, referente a data em que o documento foi recolhido pelo professor responsável ou aluno de pós-graduação; assinatura do responsável pelo controle de distribuição; assinatura do professor ou aluno de pós-graduação; sigla do laboratório para qual foi feito o empréstimo do documento; data de devolução do documento; rubrica do responsável pela entrega.

Figura 11 – Planilha de Controle de Distribuição

 Universidade Federal do Ceará Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos		 NPDM		Instrumento de Padronização de Processo CD - Controle de Distribuição	
Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)					
Processo: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais					
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01					
Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda			Aprovado por David Freitas de Lucena		Data 06/12/2017
Data de Entrega	Assinatura do Responsável pelo CD	Assinatura do Aluno ou Professor	Sigla do Laboratório	Data de Devolução	Rubrica
Dia: __/__/__				Dia: __/__/__	

Fonte: Elaborado pelo Autor

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os procedimentos Operacionais Padrão (POPs), demais documentos e planilhas elaborados nesta monografia encontram-se na íntegra nos respectivos apêndices como ilustra o quadro abaixo.

Quadro 6: Relação de Procedimentos Operacionais Padrão e Documentos

DOCUMENTOS	APÊNDICE
Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais	A
Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	B
Cirurgia Estereotáxica	C
Manejo Intracerebral de Substâncias	D
Planilha de Controle em Estereotaxia	E
Planilha de Coordenadas Cirúrgicas	F
Planilha de Comportamento	G
Lista Mestre	H
Controle de distribuição	I
Orçamento das Cânulas e Mandris	J

Fonte: Elaborado pelo autor

Os POPs produzidos nesta monografia mostram sua segurança e eficácia devido a aplicação bem sucedida na pesquisa de mestrado do médico Ítalo Rosal Lustosa. O trabalho de dissertação intitulado “**AVALIAÇÃO DO MODELO DE *STATUS EPILEPTICUS* POR OUABAÍNA: DA ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR À PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E INDICADORES DE DANO CEREBRAL**” mostra que cerca de 85% dos animais cirurgiados e induzidos pelo método aqui descrito exibiram padrão comportamental compatível com o modelo de status epilepticus proposto para aquele trabalho. Além disso, mostra um corte coronal de cérebro de rato a fresco, como também um corte histológico, 0,9 mm caudal ao Bregma mostrando o trato da cânula em direção ao ventrículo lateral, o que evidencia a acurácia do método em alcançar a área intracerebral desejada (BARBOSA et al., 2011; LOUSANA, 2005; PEIXOTO *et al.*, 2015).

A produção dos POPs, assim como dos demais documentos, cumpre com o objetivo de documentar os procedimentos e instruções na extensão necessária para assegurar a reprodução dos ensaios por outros pesquisadores (ABNT, 2005).

Dessa maneira, a implementação desses POPs tem potencial para melhorar o preparo e a condução dos estudos que envolvem estereotaxia; garantir que esses processos sejam realizados de maneira consistente; proporcionar material didático para treinamentos, certificar profissionais e afirmar a credibilidade dos resultados; assegurar a qualidade e a rastreabilidade por meio da padronização e harmonizar os processos em pesquisa na instituição (DAINESI, 2007).

Os textos dos POPs foram produzidos de forma que seguissem um mesmo layout e foram redigidos de maneira clara, concisa e adotando a língua portuguesa como padrão, por ser o idioma local dos profissionais envolvidos. Procurou-se também adequar-se ao vocabulário empregado no Laboratório de Neuropsicofarmacologia e na Universidade Federal do Ceará como um todo. O conteúdo procura zelar pela didática e pela boa compreensão dos acadêmicos de iniciação científica, mestrandos, doutorandos e professores. Para isso, utilizou-se artifícios como figuras ilustrativas. Evitou-se expressões e instruções que dessem margem a interpretações dúbias ou subjetivas. As expressões e siglas que poderiam causar confusão, foram explicadas em um glossário de termos localizado logo no início dos documentos (PEIXOTO *et al.*, 2015; WHO, 2009).

A grande maioria dos itens preconizados pelas normas, manuais e artigos presentes na revisão bibliográfica e que devem ser contemplados na formatação de um procedimento, foram incluídos nos documentos. O nível de segurança e sigilo dos documentos representam um dos únicos itens não introduzidos no trabalho, pois o objetivo da criação desses POPs é promover a utilização da técnica estereotáxica. Para isso, os oferecemos de maneira pública e irrestrita (DAINESI, 2007; PEIXOTO *et al.*, 2015).

Os documentos foram univocamente identificados com a data de emissão, revisão, paginação, uma marca no final do procedimento e a identificação das autoridades emittentes responsáveis pela aprovação (ABNT, 2005).

As funções foram definidas e divididas entre os professores, alunos de pós-graduação, estudantes de Iniciação Científica e técnicos de laboratório. Os professores tem como principal atividade implementar a utilização dos procedimentos, incentivar os alunos a utilizá-los, avaliar e aprovar modificações nos documentos, além de, em coordenação com os estudantes, providenciar os materiais necessários para o sucesso da pesquisa. Os estudantes de Pós-graduação são responsáveis por dominar o método e capacitar os alunos de iniciação científica, além de realizar os ensaios e planejar um cronograma de atividades e avaliação de resultados. Os alunos de Iniciação Científica, por sua vez, são responsáveis principalmente por auxiliar nos procedimentos. Todas as funções foram inspiradas na divisão de atividades

preconizada na ISO 17025 e nas Boas Práticas Laboratoriais, a fim de garantir um bom gerenciamento operacional de cada estudo (ABNT, 2005; WHO, 2009).

Os métodos desenvolvidos são apropriados para todos os ensaios e incluem procedimentos de amostragem, lista de checagem, manuseio, transporte, armazenamento e preparação dos itens necessários para a realização bem-sucedida dos ensaios. Os POPs fornecem instruções sobre o uso de todos os equipamentos pertinente e envolvidos nos ensaios, bem como orientação sobre o manuseio e a preparação dos itens necessários (ABNT, 2005).

A incorporação da lista de checagem nos documentos, contendo o nome dos materiais necessários, o modelo com suas especificações e número de série, sua atualizada localização e o portador atual dos itens, bem como o estado em que se encontram, permitem a verificação, rastreabilidade e resolutividade dos problemas, além de prever com antecedência a calibração e/ou manutenção dos equipamentos, assegurando o bom funcionamento, exatidão e precisão destes no momento do experimento (ABNT, 2005; WHO, 2009).

No decorrer dos documentos foram determinados os parâmetros a serem seguidos com a finalidade de garantir a qualidade dos procedimentos. Também estão especificadas as condições ambientais requeridas para a conservação dos itens ensaiados e o sucesso dos experimentos (ABNT, 2005).

Foram elaborados planilhas de controle em estereotaxia (Apêndice E), de coordenadas cirúrgicas (Apêndice F) e de comportamento (apêndice G) a fim de padronizar e garantir o registro das observações, os resultados e a rastreabilidade dos experimentos. Além disso, os POPs descrevem os critérios ou requisitos de aprovação/rejeição e qualidade dos itens ensaiados e dos resultados (ABNT, 2005; WHO, 2009).

Incluimos nos POPs um sexto tópico intitulado Documentos Correlatos. Este tem como principal função fazer referência aos procedimentos complementares, incluindo os procedimentos técnicos, como preconiza a ISO 17025 (ABNT, 2005). Os procedimentos são acompanhados por um link e tecnologia QR code, facilitando o acesso aos mesmos.

Um dos últimos itens dos procedimentos são os fluxogramas, gráficos organizacionais que fornecem uma ideia geral e imediata de como o laboratório funciona durante a aplicação do procedimento e a relação entre os diferentes departamentos e profissionais (WHO, 2009).

No Apêndice A descrevemos os procedimentos para o transporte, recebimento, manuseio, proteção, armazenamento, retenção e eutanásia dos animais de laboratório. Neste, também foi descrito um sistema para identificação das gaiolas que devem ser mantida durante a permanência dos ratos no laboratório. O sistema foi projetado de maneira a assegurar que os

animais não sejam confundidos fisicamente quando citados no registro dos resultados ou outros documentos. Assim, o sistema possibilita a subdivisão dos grupos de animais e o controle do peso destes via online em um documento compartilhado no Google Drive (ABNT, 2005; CONCEA, 2016).

O Apêndice A foi estruturado dessa forma a fim de proporcionar e disseminar um conhecimento sobre os animais de laboratório, como propõe a BPL publicada pela Organização Mundial de Saúde. Esta organização considera como um pré-requisito para estudos não clínicos destinados a avaliar as propriedades de compostos farmacêuticos, ter um conhecimento detalhado sobre as propriedades dos animais ou partes deles aos quais a fórmula é administrada. Como nosso sistema de teste é um animal, descrevemos os parâmetros de avaliação do estado de saúde destes, com a finalidade de evitar desvios nos experimentos induzidos pelo ineficiente manuseio e cuidado com os animais (WHO, 2009).

Ainda no Apêndice A detalhamos o recebimento dos animais e demais itens de experimentação e incorporamos no documento uma lista de checagem para o registro de anormalidades ou desvios das condições normais de saúde especificadas. Também descrevemos o padrão mínimo das instalações que um laboratório e/ou biotério deve possuir para evitar deterioração, perda ou dano no item de ensaio durante o armazenamento, manuseio e preparação. As instruções de manuseio para os itens devem ser seguidas a risca como descrito no POP. A manutenção, monitoramento e registro das condições ambientais também foram descritas. Tendo em vista que nesse trabalho propomos uma canulação crônica com posterior manuseio intracerebral de substâncias, descremos os cuidados especiais quando os animais retornam após a cirurgia estereotáxica, a fim de evitar danos durante a acomodação, o manuseio ou posterior ensaio (ABNT, 2005).

O Apêndice B atribui valor científico, tecnológico e econômico para as atividades desenvolvidas. A descrição da manufatura de cânulas, mandris e sondas ganham importância do ponto de vista científico sob a forma de um novo conhecimentos produzido; do ponto de vista tecnológico, pela adequação criativa de materiais em peças cirúrgicas; e econômico, pela redução dos custos operacionais (SCHLATTER, 2006).

A redução dos custos operacionais ficou evidente depois da elaboração do orçamento de cânulas e mandris produzidos e importados da Plastics One, localizada no número 6591 da Merriman Road, Virgínia, Estados Unidos. A manufatura desses materias reduziu de forma relevante o custo da cirurgia, de modo que a produção de uma unidade do kit completo de cânulas e mandris custou em torno de R\$ 1,07 por animal, enquanto a importação do kit da Plastic One estaria avaliada, segundo a cotação realizada no dia 25 de agosto de 2017, em R\$

127,05 por animal, reduzindo os custos com cânulas e mandris em mais de 99%. A descrição detalhada dos orçamentos está disponível do Apêndice J deste trabalho.

No Apêndice C descrevemos também os procedimentos de limpeza como preconizado por Costa Neto ([20--], p.14). Em um laboratório, até mesmo “os procedimentos de limpeza devem ter uma padronização adequada, a fim de evitar a disseminação de contaminação e danos ao instrumental.” (COSTA NETO et al., [20--], p.14).

O Apêndice C está ilustrado com algumas fotos do procedimento em concordância com lei número 11.794 de 8 de outubro de 2008. No capítulo IV, artigo 14, parágrafo 3, prega-se que as práticas de ensino, sempre que possível, devem ser fotografadas, de forma a permitir sua ilustração para práticas futuras, evitando-se a repetição desnecessária de procedimentos didáticos com animais (BRASIL, 2008).

Ainda no apêndice C, foi descrito os cálculos e os métodos de analgesia e anestesia, como prevê a lei número 11.794 no parágrafo 5 do artigo 14 – experimentos que possam causar dor ou angústia desenvolver-se-ão sob sedação, analgesia ou anestesia (Brasil, 2008). A analgesia e anestesia devem ser executados utilizando procedimentos adequados à espécie e por pessoal habilitado (CONCEA, 2016).

Os Apêndices E, F e G foram produzidos com o objetivo de coletar os resultados dos ensaios realizados pelo laboratório de forma exata, clara, objetiva, sem ambiguidade e de acordo com as instruções especificadas nos métodos. Os resultados são discriminados como um relatório de ensaio e incluem todas as informações necessárias para sua interpretação. Esses relatórios podem estar impressos em papel ou podem ser visualizados por transferência eletrônica de dados, como é o caso da planilha de controle de peso dos animais (ABNT, 2005).

Segundo os princípios do BPL, os dados coletados são utilizados para verificar a qualidade, confiabilidade e integridade dos estudos, a fim de obter conclusões verificáveis e rastreáveis. Os dados brutos gerados são aqueles coletados durante a condução do experimento e revelam as circunstâncias em que o estudo foi realizado, por isso foi acrescentado um espaço para descrever as observações quando necessário. Essas planilhas são essenciais para a reconstrução do estudo e contribuem para a rastreabilidade dos eventos. Os resultados devem ser bem geridos, pois vão embasar a conclusão dos estudos (WHO, 2009).

O Apêndice H (Lista Mestra) e o apêndice I (Controle de Distribuição) foram produzidas com o intuito de atender a ISO 17025 que estabelece a necessidade de uma lista mestra ou um procedimento equivalente para controle de documentos, indicando a situação de revisão atual, bem como um documento que controle a distribuição dos mesmos, a fim de evitar o uso de documentos inválidos e/ou obsoletos (ABNT, 2005). Contudo, o controle de

distribuição dos documentos não deve tornar-se burocrático ao ponto de impedir a imediata disponibilidade para o pessoal responsável pelo trabalho. Por isso, disponibilizamos os documentos irrestritamente em pdf numa nuvem do Dropbox (WHO, 2009).

Os procedimentos operacionais produzidos nessa monografia atendem aos requisitos da ISO 17025 e, por isso, estão também em conformidade com os princípios da ABNT NBR ISO 9001:2000. Neste trabalho, desenvolvido em um laboratório de pesquisa em neuropsicofarmacologia, utilizamos a ISO 17025 para reger a produção dos procedimentos. A escolha da norma teve como base a dissertação de Bordini (2009) que mostrou em seus resultados a viabilidade de usar essa ISO em laboratórios de pesquisa.

6. CONCLUSÃO

A padronização do procedimento de canulação crônica intracerebral guiado por estereotaxia foi desenvolvido com sucesso segundo as normas da ABNT NBR ISO/IEC 17025 e de acordo com as Boas Práticas Laboratoriais publicada pela Organização Mundial de Saúde. Dessa maneira, esse trabalho serve de referência e tem potencial para lançar as bases para a certificação, não somente dos laboratórios do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos da Universidade Federal do Ceará, mas também dos demais laboratórios que a isso se proponham.

Neste trabalho foi descrito com minúcia o fluxo de atividades inerentes à implementação bem-sucedida do processo de canulação crônica, bem como o processo de manufatura de cânulas e mandris utilizados na cirurgia, proporcionando uma relevante redução dos custos com esses materiais. A cirurgia estereotáxica e o manejo de substâncias foram descritos de maneira que seja aplicável a qualquer área intracerebral de ratos Wistar. Assim, esse trabalho serve de inspiração para o desenvolvimento de estudos em neurociência e guia para pesquisas que envolvem canulação crônica intracerebral.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse protocolo é bastante versátil e pode ser reproduzido no camundongo (*Mus musculus*), no hamster (*Mesocricetus auratus*), no porquinho da Índia (*Cavia porcellus*), no coelho (*Oryctolagus cuniculus*), Marmoset de Goeldi (*Callimico goeldii*), Macoco Rhesus (*Macaca mulatta*), Babuínos do gênero *Papio*, dentre outros. Contudo, é preciso adaptar ou substituir o estereotáxico para adequar-se ao porte do animal escolhido e utilizar um atlas que proporcione as coordenadas exatas para aquela espécie.

Os métodos não normalizados descritos nos procedimentos operacionais publicados neste trabalho precisam ser validados a fim de tornarem-se métodos robustos e alcancarem posterior certificação.

Em um país como o Brasil, onde a ciência é conduzida com pouco investimento, a melhor gestão do tempo e a economia de recursos humanos e financeiros – dentre outras coisas, através da padronização de procedimentos – não é apenas uma estratégia de sobrevivência, mas uma oportunidade para o desenvolvimento humano e técnico-científico, além de um exercício de criatividade e perseverança. Após a democratização global do conhecimento, qualquer pessoa que tenha vontade, entusiasmo e atitude, pode vencer a pequenez, a lentidão e a pobreza.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14724**: Informação e documentação — Trabalhos acadêmicos — Apresentação. 3 ed. Rio de Janeiro: Abnt, 2011. 11 p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC 17025**: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. 2 ed. Rio de Janeiro: Abnt, 2005. 37 p
- BARBOSA, C. M. et al. A importância dos procedimentos operacionais padrão (POPs) para os centros de pesquisa clínica. **Rev Assoc Med Bras**, São Paulo, v. 57, n. 2, p.134-135, mar./abr. 2011. Bimestral
- BORDINI, M. E. B. **Implantação de um sistema de gestão da qualidade em laboratórios de pesquisa em saúde: planejamento, viabilidade e impacto do processo de implantação sobre indicadores selecionados**. 2009. 121 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2009.
- BRANDT, C. et al. Effective termination of status epilepticus by rational polypharmacy in the lithium-pilocarpine model in rats: Window of opportunity to prevent epilepsy and prediction of epilepsy by biomarkers. **Neurobiology of Disease**, v. 75, p. 78–90, 2015.
- BRASIL. Constituição (2008). Lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008. **Procedimento Para O Uso Científico de Animais**. Brasília, Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/111794.htm>. Acesso em: 30 nov. 2017.
- CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. Nº 30: DIRETRIZ BRASILEIRA PARA O CUIDADO E A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM ATIVIDADES DE ENSINO OU DE PESQUISA CIENTÍFICA – DBCA. 2 ed. Brasília/df: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 2016. 51 p. Disponível em: <https://ww2.icb.usp.br/icb/wp-content/uploads/bioterio_etica/RESOLUCAO_NOR_30.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2017
- CONTESSA, N. R. K. **“ENVELHECIMENTO E SAÚDE DA PESSOA IDOSA – ESPAÇO E POSSIBILIDADES NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO POLYDORO ERNANI DE SÃO THIAGO”**. 2010. 98 f. TCC (Graduação) - Curso de Serviço Social, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- COSTA NETO, J. M. da et al. **INSTRUMENTAL E INSTRUMENTAÇÃO CIRÚRGICA**. Salvador: Pet Ufba, [20--]. 64 p. Disponível em: <<http://www.cirurgia.vet.ufba.br/arquivos/docs/aulas/instrumental24082011.pdf>>. Acesso em: 13 set. 2017.
- DAINESI, S. M. ; NUNES, Denise B. Procedimentos operacionais padronizados e o gerenciamento de qualidade em centros de pesquisa. **Rev. Assoc. Med. Bras**, São Paulo, v. 53, n. 1, p.6-6, jan. 2007. Bimestral

EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES. Manual de Padronização de POPs. 1 ed. Brasília: Ascom, 2014. 44 p.

ELLENBROEK, B. A.; COOLS, A. R.. Animal models with construct validity for schizophrenia. **Behavioural Pharmacology**, [s.l.], v. 1, n. 6, p.469-490, 1990. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/00008877-199000160-00001>.

YACUBIAN, E. M. T.; CONTRERAS-CAICEDO, G.; RÍOS-POHL, L. **Tratamento Medicamentoso das Epilepsias**. 1. ed. São Paulo: Leitura Médica Ltda., 2014.

ENGEL, J.; SCHWARTZKROIN, P. A. What Should Be Modeled? **Models Of Seizures And Epilepsy**, [s.l.], p.1-14, 2006. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-012088554-1/50003-7>.

FAVA-DE-MORAES, F.; FAVA, M. A INICIAÇÃO CIENTÍFICA muitas vantagens e poucos riscos. **São Paulo em Perspectiva**, São Paulo, v. 14, n. 1, p.73-77, jan./mar. 2000. Trimestral.

FERREIRA, L. R. O. e. **NEUROEPIDEMIOLOGIA NO MUNDO: O PARTICULAR DE PORTUGAL**. 2011. 35 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biomedicina, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto, 2011.

FERRI, C. P. et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. **The Lancet**, [s.l.], v. 366, n. 9503, p.2112-2117, dez. 2005. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)67889-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67889-0).

FERRY, B.; GERVASONI, D.; VOGT, C. **Stereotaxic Neurosurgery in Laboratory Rodent - Handbook on best practices**. 1ª ed. Paris: Springer, 2014.

FORNARI, R. V. et al. Rodent Stereotaxic Surgery and Animal Welfare Outcome Improvements for Behavioral Neuroscience. **Journal Of Visualized Experiments**, [s.l.], n. 59, p.1-4, 30 jan. 2012. MyJove Corporation. <http://dx.doi.org/10.3791/3528>.

GONÇALVES, D. A. et al. Estudo multicêntrico brasileiro sobre transtornos mentais comuns na atenção primária: prevalência e fatores sociodemográficos relacionados. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 30, p.623-632, mar. 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/csp/v30n3/0102-311X-csp-30-3-0623.pdf>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

Hattemer-Apostel, R. *Standard Operating Procedures: a novel Perspective*. Qual Assur J. 2001; 5: 207-19.

KOKARE, D. M. et al. A simple and inexpensive method to fabricate a cannula system for intracranial injections in rats and mice. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 64, n. 3, p. 246–250, 2011.

LÖSCHER, W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. **Seizure**, v. 20, n. 5, p. 359–368, 2011. Lousana G. *Boas práticas clínicas nos centros de pesquisa*. Rio de Janeiro: Revinter; 2005.

LUIZ, R. S. **ELABORAÇÃO DE PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PARA EXECUÇÃO DE ESTRUTURA DE CONCRETO ARMADO MOLDADO IN LOCO**. 2010. 122 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Civil, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2010

LUSTOSA, Í. R. **AVALIAÇÃO DO MODELO DE STATUS EPILEPTICUS POR OUABAÍNA: DA ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR À ANÁLISE DE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E INDICADORES DE DANO CEREBRAL**. 2016. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016

MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS. **Instrução Normativa Nº 21/2013**: Critérios e procedimentos específicos para o pagamento da Gratificação de Qualificação dos servidores titulares de cargos de provimento efetivo de nível intermediário integrantes do Plano de Carreiras e Cargos do Instituto Nacional da Propriedade Industrial, e dos servidores titulares de cargos de provimento efetivo de nível intermediário integrantes das Carreiras de Desenvolvimento Tecnológico e de Gestão, Planejamento e Infraestrutura em Ciência e Tecnologia, em exercício no Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Brasília/df: Instituto Nacional da Propriedade Industrial, 2013. 8 p. Disponível em: <<http://www.inpi.gov.br/legislacao-arquivo/docs/in-21-13-gratificacao-de-qualificacao-gq.pdf>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

MOSHÉ, S. L. et al. Epilepsy: New advances. **The Lancet**, v. 385, n. 9971, p. 884–898, 2015.

MURPHY, N. P.; MAIDMENT, N. T. Orphanin FQ/Nociceptin Modulation of Mesolimbic Dopamine Transmission Determined by Microdialysis. **Journal of Neurochemistry**, v. 73, n. 1, p. 179–186, 18 jan. 2002.

NUNES, A. C. L. **ESTUDO DO EFEITO NEUROPROTETOR DA BERBERINA SOBRE O DANO NEURONAL, COMPORTAMENTO MOTOR E MEMÓRIA DE RATOS COM DEGENERAÇÃO NIGRO-ESTRIATAL POR 6-OHDA**. 2015. 125 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Ciências Médicas, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/15299/1/2015_tese_aclnunes.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2017

NEVES, Silvânia M. P. et al. **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**. São Paulo: Biotério de Produção e Experimentação, 2013. 234 p. Disponível em: <<http://www.fo.usp.br/wp-content/uploads/Manual-Cuidados-com-Animais.pdf>>. Acesso em: 01 dez. 2017.

PAXINOS, George; WATSON, Charles. **The Rat Brain**: in stereotaxic coordinates. London: Academic Press, 1998. 474 p.

PEIXOTO, A. de L. A. et al. **Manual de elaboração de procedimentos operacionais e instruções de trabalho da Universidade Federal da Bahia**. Salvador: Supad, 2015. 20 p.

PITTELLA, J. E. H. Biópsia estereotáxica no diagnóstico de tumores cerebrais e lesões não-neoplásicas: indicações, acurácia e dificuldades diagnósticas. **J Bras Patol Med Lab**, Belo Horizonte, v. 44, n. 5, p.343-354, out. 2008.

PONT, G. C. dal. **LÍTIO E VALPROATO AGEM SOBRE A VIA DE SINALIZAÇÃO DE PI3K/AKT/GSK-3 β REVERTENDO O COMPORTAMENTO DO TIPO MANÍACO DE RATOS SUBMETIDOS A UM MODELO ANIMAL DE MANIA INDUZIDO PELA OUABAÍNA**. 2016. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2016

RATEKE, E. C. de M.; SILVA, M. C. S. da. **Elaboração de Manuais, Procedimentos Operacionais Padrão e Instruções de Trabalho**. Florianópolis: Ufsc, 2014. 13 p

REJDAK, K. et al. Orphenadrine induces secondarily generalized convulsive status epilepticus in rats. **Brain research bulletin**, v. 84, n. 6, p. 389–93, 2011.

REJDAK, K. et al. Orphenadrine-induced convulsive status epilepticus in rats responds to the NMDA antagonist dizocilpine. **Pharmacological Reports**, v. 66, n. 3, p. 399–403, 2014.

SCHLATTER, R. P.; BORDIN, R.; MATTE, U. da S. A PERSPECTIVA ESTRATÉGICA NA GESTÃO DE UM LABORATÓRIO DE PESQUISA DA ÁREA DA SAÚDE. **Revista Hcpa**, Porto Alegre, v. 26, n. 2, p.24-31, ago. 2006. Mensal. Disponível em: <https://www.hcpa.edu.br/downloads/pesquisa/RevistaCientifica/2006/2006_26_2.pdf>. Acesso em: 02 jan. 2017

TADAIESKY, M. T. **A lesão dopaminérgica como modelo de estágio pré-motor da doença de Parkinson: efeitos do antagonismo do receptor CB1**. 2010. 97 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/93973/278128.pdf?sequence=1&isAllowe;>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

TORRÃO, A. S. et al. Different Approaches, One Target: Understanding Cellular Mechanisms of Parkinson's and Alzheimer's Diseases. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, [s.l.], v. 34, p.194-218, out. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbp.2012.08.004>. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbp/v34s2/pt_v34s2a06.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2017

WHITE, H. S. et al. Therapeutic Assays for the Identification and Characterization of Antiepileptic and Antiepileptogenic Drugs. In: **Models of Seizures and Epilepsy**. [s.l.] Elsevier, 2006. p. 539–549.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **GOOD LABORATORY PRACTICE (GLP): Quality practices for regulated non-clinical research and development**. 2 ed. Geneva: World Health Organization, 2009. 328 p. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/publications/documents/glp-handbook.pdf>>. Acesso em: 01 nov. 2017

APÊNDICE A – FLUXO DE ATIVIDADES E O CUIDADO COM ANIMAIS



 Universidade Federal do Ceará Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos		Instrumento de Padronização de Processo	
		POP – Procedimento Operacional Padrão	
Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)		Versão	Páginas
Título: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais		01	01/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01			

Glossário de Termos e Siglas

Ântero-posterior (AP) – Que diz respeito à, ou está situado na parte anterior e posterior; que vai desde a parte da frente até a parte de trás (GEIGER, 2012).

Biotério – É a instalação na qual são produzidos, mantidos ou utilizados animais para atividades de ensino ou pesquisa científica. Deve apresentar estrutura adequada para atender os requisitos ambientais, sanitários e de bem-estar do animal (CONCEA, 2016).

CEUA – Comissão de Ética para o Uso de Animais.

CFMV – Conselho Federal de Medicina Veterinária.

DPO – Dia(s) Pós Operatório.

Distresse: Estado de desconforto no qual o animal não é capaz de se adaptar completamente aos fatores estressores e manifesta respostas comportamentais ou fisiológicas anormais (CONCEA, 2016).

Dorso-ventral (DV) – Que diz respeito ao dorso e ao ventre (GEIGER, 2012). Em um sistema cartesiano, refere-se ao eixo y de coordenadas.

Estresse – Estado INDUZIDO quando condições adversas produzem respostas fisiológicas no indivíduo e este incapaz de manter sua homeostase (CONCEA, 2016).

Eutanásia – Modo de matar o animal, SEM DOR e com mínimo estresse.

Instalação de Manutenção – Ambientes ou locais que oferecem condições necessárias para a manutenção do bem-estar do animal (CONCEA, 2016).

Instalações de Produção – Ambientes ou locais que oferecem condições necessárias para a manutenção do bem-estar dos animais, compatíveis com as atividades a serem desenvolvidas na reprodução e criação de espécimes.

Instalação de Utilização – Ambientes ou locais que ofereçam condições adequadas para a realização dos protocolos requeridos nos projetos e que contemplem os cuidados necessários para a manutenção do bem-estar dos animais (CONCEA, 2016).

Médio-lateral (ML) – Em um sistema cartesiano, refere-se ao eixo x de coordenadas.

PO – Procedimento Operacional.

Recinto Primário – É a menor unidade de um alojamento. É o espaço delimitado por barreira física circunjacente aos animais, como é o caso das gaiolas (CONCEA, 2016).

I. OBJETIVO

Descrever o fluxo de atividades que são inerentes à implementação bem-sucedida do processo de canulação crônica intracerebral em ratos Wistar.

II. DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

BRASIL. Constituição (2008). Lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008. **Procedimento Para O Uso Científico de Animais**. Brasília, Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/11794.htm>. Acesso em: 30 nov. 2017.

BRASIL. Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012. **Procedimentos e Métodos de Eutanásia em Animais e Dá Outras Providências**. Brasília, DF.

CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. **DIRETRIZ DA PRÁTICA DE EUTANÁSIA DO CONCEA**. Brasília/DF – 2015: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. p. 25.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais	01	02/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01		

CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. **Resolução Normativa N° 30, Anexo:** DIRETRIZ BRASILEIRA PARA O CUIDADO E A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM ATIVIDADES DE ENSINO OU DE PESQUISA CIENTÍFICA – DBCA. 3 ed. Brasília/DF: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 2016. 51 p. Disponível em: <https://ww2.icb.usp.br/icb/wp-content/uploads/bioterio_etica/RESOLUCAO_NOR_30.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2017

LUSTOSA, Ítalo Rosal. **AVALIAÇÃO DO MODELO DE STATUS EPILEPTICUS POR OUABAÍNA: DA ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR À ANÁLISE DE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E INDICADORES DE DANO CEREBRAL.** 2016. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016

NEVES, Silvana M. P. et al. **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP.** São Paulo: Biotério de Produção e Experimentação, 2013. 234 p. Disponível em: <<http://www.fo.usp.br/wp-content/uploads/Manual-Cuidados-com-Animais.pdf>>. Acesso em: 01 dez. 2017.

PAXINOS, George; WATSON, Charles. **The Rat Brain:** in stereotaxic coordinates. London: Academic Press, 1998. 474 p.

III. RESPONSABILIDADES

Professores Responsáveis: Com a finalidade de implementar a utilização dos procedimentos, o orientador deve incentivar os alunos de graduação e pós-graduação a usar os POs e ITs. Responsável pelos aspectos relacionados ao bem-estar dos animais. Orientar os alunos no desenvolvimento do projeto e submissão ao CEUA.

Estudantes de Pós-Graduação: Estes são responsáveis pelo monitoramento diário do bem-estar dos animais e devem dominar as técnicas de cuidado com animais de laboratório, capacitando os estudantes de iniciação científica no manuseio dos mesmos e supervisionando tal cuidado. Devem fazer pedido de novos animais e agendar as cirurgias levando em consideração o aumento do peso dos animais (Planilha de Controle do Peso), respeitando a disponibilidade e carga-horária dos estudantes de iniciação.

Estudantes de Iniciação Científica: são responsáveis pelo monitoramento semanal da massa corporal dos ratos Wistar, atualizando-os periodicamente na “Planilha de Controle de Peso”. Devem realizar os procedimentos referentes ao pré-operatório, pós-operatório e auxiliar o estudante de pós-graduação no procedimento cirúrgico. Responsáveis pelos aspectos relacionados ao bem-estar dos animais.

Médico Veterinário: Estes são responsáveis por gerenciar o biotério, promover treinamentos para alunos de pós-graduação e iniciação científica, bem como orientar os estudantes e funcionários no manuseio e preparação dos materiais. Responsável pelos aspectos relacionados ao bem-estar dos animais.

IV. PROCEDIMENTOS

1. CONDIÇÕES AMBIENTAIS REQUERIDAS PARA CRIAÇÃO DOS ANIMAIS

A iluminação, temperatura (os animais devem ser protegidos de alterações climáticas extremas), qualidade do ar devem ser adequados. Deve haver ciclos apropriados de claro/escuro e proteção contra ruídos e vibrações excessivos. As forrações devem ser confortáveis, absorventes, seguras, de material não tóxico e que permita higienização (CONCEA, 2016).

OBSERVAÇÃO: Alterações nesses parâmetros podem afetar o bem-estar dos animais (CONCEA, 2016).

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais	01	03/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01		

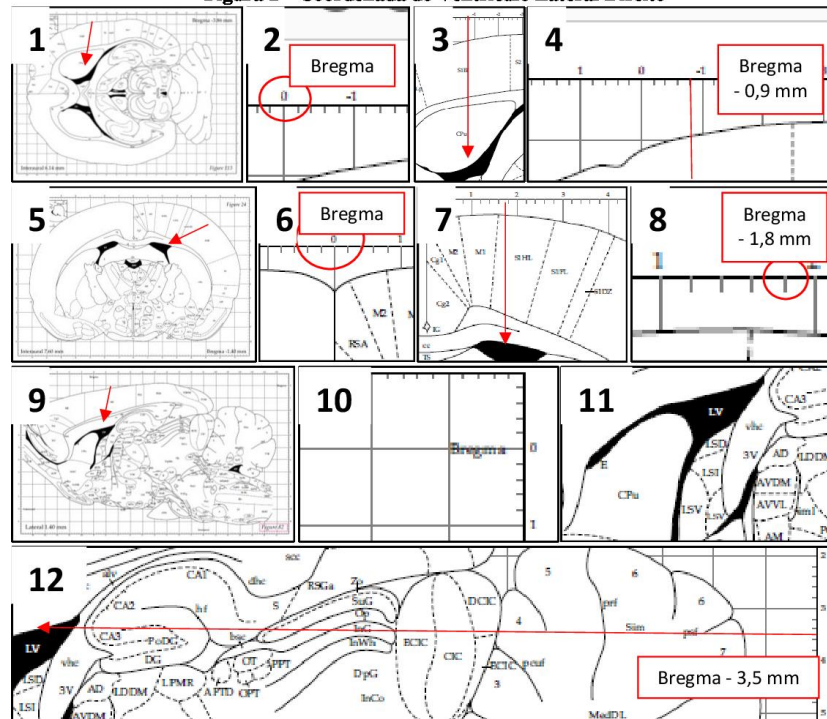
2. Metodologia do projeto de canulação crônica por estereotaxia em ratos Wistar

2.1. Cálculo das coordenadas do alvo intracerebral

1. Adquirir o atlas de Paxinos & Watson, intitulado "The Rat Brain – in stereotaxic coordinates".
2. O Bregma é o ponto de referência para o estabelecimento das coordenadas de ML, AP e DV do alvo intracerebral.
3. As coordenadas ML, AP e DV do alvo intracerebral são encontradas diminuindo ou somando valores fixos das coordenadas ML, AP e DV de Bregma.

OBSERVAÇÃO: EXEMPLO – O cálculo das coordenadas do ventrículo lateral direito são calculadas após o estabelecimento, por meio da estereotaxia, das coordenadas precisas do ML, AP e DV de Bregma em milímetros (mm). Assim, se a coordenada AP de bregma é igual a 56,3 mm, deve-se diminuir 0,9 mm deste valor, encontrando 55,4 mm (coordenada AP do ventrículo – Figura 1 – 4); se a coordenada ML de bregma é igual a 28,8 mm, deve-se diminuir 1,8 mm deste valor, encontrando 27,2 mm (coordenada ML do ventrículo – Figura 5 – 8); se a coordenada DV de bregma é igual a 47,4, deve-se diminuir 3,5 mm deste valor, encontrando 43,2 mm (coordenada DV do ventrículo, mais precisamente da parede do ventrículo lateral direito – Figura 9 – 12).

Figura 1 – Coordenada do Ventrículo Lateral Direito



Fonte: Adaptado de Paxinos e Watson, 1998

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais	01	04/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01		

2.2. Em posse das coordenadas do alvo intracerebral, pode-se manufaturar as cânulas, mandris e sondas com as medidas adequadas para o experimento.

OBSERVAÇÃO: A fabricação das peças estão descritas no Procedimento Operacional (PO) intitulado “Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris”. O link desse PO está disponível neste documento no título “DOCUMENTOS CORRELATOS”.

2.2. Submeter o projeto ao CEUA. Os responsáveis devem assegurar que as atividades de pesquisa envolvendo animais só se iniciarão após a autorização formal do CEUA (CONCEA, 2016).

2.3 O desenho da pesquisa deve estar associado a uma análise estatística de forma que se aproxime do menor número de animais necessários. Deve-se buscar orientação da bioestatística para a elaboração do projeto. O site StatPages.org oferece cálculos online de tamanho da amostra (CONCEA, 2016).

3. Pedido e Recepção de novos animais

3.1. Os animais devem ser adquiridos de Instituições de produção ou de manutenção credenciados no CONCEA.

3.2. O coordenador da instalação onde os animais estiverem alojados e o responsável técnico (Médico Veterinário) são responsáveis pelo monitoramento diário do bem-estar dos animais até que estes sejam alocados em um projeto ou protocolo (CONCEA, 2016).

3.3. Após o direcionamento dos animais para um projeto ou protocolo já aprovado pelo comitê de ética, a responsabilidade de monitoramento do bem-estar dos animais passa a ser do pesquisador ou professor responsável (CONCEA, 2016).

OBSERVAÇÃO: Os responsáveis pelos animais e pela instalação animal deve avisar imediatamente ao pesquisador e ao responsável legal da instituição sobre qualquer evento adverso que coloque em perigo o bem-estar do animal (CONCEA, 2016).



OBSERVAÇÃO: Em caso de emergência, animais poderão ser submetidos a tratamento ou eutanásia. Contudo, qualquer tratamento ou eutanásia divergente da proposta autorizada deve ser justificado e relatado na forma de desvio. Para isso, os responsáveis devem disponibilizar telefones e outros canais, a fim de efetivar a comunicação (CONCEA, 2016).

3.4. A produção e o pedido de novos animais deve ser realizado de forma planejada e controlada, a fim de evitar o descarte desnecessário de animais. Assim, recomenda-se a utilização da “Planilha de Controle de Peso” a fim de otimizar o gerenciamento dos espécimes.

OBSERVAÇÃO: O link que contém a “Planilha de Controle de Peso” está disponível neste documento no título “DOCUMENTOS CORRELATOS”.

3.5. Os responsáveis pela atividade de ensino ou pesquisa, professores e pós-graduandos, devem assegurar a qualidade da supervisão do pessoal envolvido, estudantes de iniciação e funcionários, no cuidado e manejo dos animais (CONCEA, 2016).

4. Lista de Checagem – registro de anormalidades ou desvios das condições normais especificadas dos animais.

 Desvio do padrão normal de comportamento, sinais dos primeiros indícios de dor, estresse ou distresse	SIM (X)	NÃO (X)	Medidas (●)
 Mudança no padrão do sono, hidratação, higiene e comportamento			() Aumentar a frequência de observação () Consulta com Médico Veterinário

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais	01	05/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01		

<input type="radio"/>	exploratório, outros: automutilação, comportamento compulsivo, movimentos repetitivos ou estereotipados			<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Analgesia	<input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="radio"/>	Comportamento agressivo ou anormal, depressão, inatividade			<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Analgesia <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="radio"/>	Postura ou movimentos anormais			<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Analgesia <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="radio"/>	Modificação da expressão facial			<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Analgesia <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="radio"/>	Resposta aversiva à palpação de área afetada			<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Analgesia <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="radio"/>	Vocalização anormal			<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Analgesia <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="radio"/>	Alteração da função cardiovascular ou respiratória			<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Analgesia <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="radio"/>	Apetite anormal			<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Analgesia <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="radio"/>	Vômitos e defecação			<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Analgesia <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="radio"/>	Declínio no peso corporal			<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais	01	06/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01		

			<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Analgesia	<input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="checkbox"/>	Alteração da temperatura corporal		<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	
			<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Analgesia	<input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="checkbox"/>	Mudanças na aparência física: ferimentos, textura do pelo, pelo sujo de urina ou fezes, hemorragias, cromodacriorréia (porfirina)		<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	
			<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Analgesia	<input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Eutanásia
<input type="checkbox"/>	Diurese anormal		<input type="checkbox"/> Aumentar a frequência de observação <input type="checkbox"/> Consulta com Médico Veterinário	
			<input type="checkbox"/> Tranquilizante <input type="checkbox"/> Analgesia	<input type="checkbox"/> Anestésico <input type="checkbox"/> Eutanásia

Fonte: Adaptado de CONCEA, 2016

✓O parâmetro foi verificado e o animal encontra-se dentro das especificações

OBSERVAÇÃO: Os ratos podem ter sinais de estresse ou distresse intercalados com comportamento normal (CONCEA, 2016).

OBSERVAÇÃO: Quando esses sinais forem detectados, medidas cabíveis devem ser tomadas para impedir ou minimizar suas consequências para os animais (CONCEA, 2016).

OBSERVAÇÃO: Verificar e avaliar os animais regularmente para observar evidências de dor, estresse ou distresse durante o curso do projeto (CONCEA, 2016).

OBSERVAÇÃO: O distresse pode ser evitado com medidas não farmacológicas – os envolvidos na pesquisa devem condicionar os animais ao ambiente, aos procedimentos e à equipe envolvida no projeto. Durante e após o procedimento, deve haver assistência aos animais. Pode-se utilizar técnicas de condicionamento por reforço positivo.

5. Armazenamento dos animais (Alojamento)

- Os animais devem ser acomodados na gaiola por similaridade de peso, facilitando o agendamento dos experimentos.
- A privação prolongada de água, alimento, interação social ou de estímulos sociais deve ser evitada (CONCEA).
- Identificação do recinto primário - o número da gaiola deve conter as seguintes informações: mês de chegada dos animais com 2 dígitos, seguido de um ponto; número da caixa em que os animais foram acomodados quando foram recebidos em 1 dígito, seguido de um ponto; número da maratona cirúrgica com dois dígitos, preenchido apenas no dia do procedimento. Exemplo: recebemos animais no mês de fevereiro e os acomodamos em uma terceira gaiola, estes foram operados na 11ª rodada de cirurgia – N° da Gaiola: 02.3.11.
- Identificação do animal - o número do animal é definido apenas no dia do procedimento cirúrgico e deve conter o número da maratona cirúrgica com 2 dígitos seguido de um ponto e a numeração pintada na calda. Exemplo: na rodada cirúrgica número 11, operamos o animal número 4 – N° do animal: 11.4.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais	01	07/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01		

5. Identificação do eppendorf - a cor e o número do eppendorf são usados para a identificação do animal, da área intracerebral dissecada, diferenciação entre grupo controle e experimental. Assim, padronizamos a cor vermelha para o grupo teste e a cor azul para o grupo controle.

6. Pré-cirúrgico

6.1 Manejo, imobilização e confinamento de animais

1. Não é recomendado períodos prolongados de contenção.
2. Monitorar o peso dos animais e manter o registro do peso médio das gaiolas via online por meio da "Planilha de Controle de Peso".

OBSERVAÇÃO: O link que contém a "Planilha de Controle de Peso" está disponível neste documento no título "DOCUMENTOS CORRELATOS".

OBSERVAÇÃO: Imprimir QR code da planilha de controle de peso na identificação da gaiola, a fim de facilitar a alimentação da planilha via online.

6.2 Transporte de animais

1. Os contêineres devem ter espaço adequado para forrações e serem seguros à prova de fuga (CONCEA, 2016).
2. Os animais devem estar protegidos contra movimentos bruscos e de alterações climáticas extremas (CONCEA, 2016).
3. Assegurar que o tempo de transporte seja o mínimo possível (CONCEA, 2016).
4. Garantir um período de aclimatização antes que sejam utilizados nas atividades de pesquisa (CONCEA, 2016).

OBSERVAÇÃO: O transporte de animais pode causar estresse ou distresse devido ao confinamento, ruídos e mudança no ambiente e de pessoal que manipula os animais (CONCEA, 2016).

7. Cirurgia Estereotáxica

Em cirurgias, deve haver um planejamento para prevenção, alívio e controle da dor (CONCEA, 2016).

OBSERVAÇÃO: Monitorar os efeitos adversos da anestesia – hipotermia, depressão cardiovascular ou respiratória (CONCEA, 2016).

OBSERVAÇÃO: As vias de administração e o cálculo das doses estão descritas no Procedimento Operacional (PO) intitulado "Cirurgia Estereotáxica". O link desse PO está disponível neste documento no título "DOCUMENTOS CORRELATOS".

8. Pós-cirúrgico

1. Dar atenção a hidratação, alimentação, higiene, temperatura e ao controle de infecções.
2. Preferencialmente, animais em período pós-operatório devem ser alojados individualmente, a fim de evitar que sejam mortos por outros animais.
3. O animal que apresentar sinais de dor intensa no período pós-operatório deve ser submetido a eutanásia.

9. Eutanásia

1. Os métodos de eutanásia devem ser adequados ao estágio de desenvolvimento do animal (CONCEA, 2016).
2. A eutanásia deve ser realizada em ambiente silencioso e longe outros animais (CONCEA, 2016).
3. O equipamento deve estar em boas condições de uso: a lâmina deve ser periodicamente amolada e a limpeza realizada após a morte de cada animal (CONCEA, 2015) com álcool 70%.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais	01	08/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01		

4. A morte deve ser confirmada antes que o cadáver seja descartado (CONCEA, 2016).
5. Decorridos uma hora da experimentação pós-cirúrgica (Manejo Intracerebral de Substâncias), os animais sofreram eutanásia por decapitação e as áreas cerebrais objetivadas (córtex pré-frontal, hipocampo, corpo estriado, tálamo e mesencéfalo) foram removidas para análise neuroquímica.

OBSERVAÇÃO: A resolução número 1000, de 11 de maio de 2012, dispõe sobre os procedimentos e métodos de eutanásia. Nesta, está descrito como aceitável para roedores, a eutanásia por barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis; anestésicos inalatórios seguidos de outro procedimento para assegurar a morte; cloreto de potássio com anestesia geral prévia. São aceitos sob restrição o N₂/Argônio; deslocamento cervical e decapitação por guilhotina em animais menores que 200 gramas; T61 e CO₂ (Brasil, 2012).

OBSERVAÇÃO: Os ratos Wistar utilizados nesse experimento apresentam peso entre 250 a 300 gramas. Contudo, sofrem eutanásia por decapitação, pois o método químico interfere na liberação de neurotransmissores, afetando os resultados das pesquisas em Neurociência (NEVES et al., 2013). A decapitação não contamina o material biológico a ser utilizado e não danifica o cérebro (CONCEA, 2015)

----- Fim do Processo -----

V. PALAVRAS DE BUSCA

Canulação Crônica; Cirurgia Estereotáxica; Cuidado com animais; Fluxo de Atividades; Intracerebral; Wistar.

VI. DOCUMENTOS CORRELATOS



Planilha de Controle de Peso está disponível em:
https://docs.google.com/spreadsheets/d/1KC4ibX6xYLMeB_jZ07mEkOOJpHe-mSS0IqFEVEp7yg/edit#gid=593940679



Procedimento Operacional “Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris” disponível:
<https://www.dropbox.com/s/k17sz5cdcug5j63/Op%C3%AAndice%20B%20Manufatura%20de%20C%C3%A2nulas-guia%20Sondas%20e%20Mandris.pdf?dl=0>

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais	01	010/09
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.01/01		

VIII. CONTROLE DE REVISÃO

Revisão	Data	Histórico das Revisões	Itens Revisados	Revisado por
00	06/12/17	Elaboração do Documento	Todos	Thiago Guedes

Fonte: Modificado de Peixoto et al., 2015

	Data	Nome	Graduação/Título
Aprovado por	06/12/17	David Freitas de Lucena	Medicina/Doutor
Revisado	06/12/17	Ítalo Rosal Lustosa	Medicina/Mestre
Revisado	06/12/17	Gabriela Mariangela F. de Oliveira	Medicina Veterinária
Elaborado	06/12/17	Francisco Thiago Guedes Holanda	Farmácia

Fonte: Modificado de Silva e Peixoto, 2014

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

APÊNDICE B – MANUFATURA DE CÂNULAS-GUIA, SONDAS E MANDRIS



 Universidade Federal do Ceará Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos		Instrumento de Padronização de Processo POP – Procedimento operacional Padrão	
		Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão 01
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris		Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01	

Glossário de Termos e Siglas

Agulha – “Uma agulha tem três partes: o canhão, que se encaixa na ponta da seringa; a cânula, que se conecta ao canhão; e o bisel, ou ponta chanfrada” (PERRY; POTTER; ELKIN, 2013).

Agulha Hipodérmica 0,55 X 20 mm – Possui um canhão na cor violeta e uma cânula fabricada a partir de uma fita de aço inoxidável rígido, o que evita curvaturas da cânula durante o experimento e permite o alcance com precisão da área intracerebral desejada. O calibre de 24G (0,55 mm) permite a penetração justa da agulha gengival de 30G (0,30 mm).

Agulha Gengival – Agulha que possui uma cânula altamente flexível a qual evita a quebra mesmo quando submetida a movimentos bruscos, possibilitando o seu uso em experimentos com animais em movimento. Esta permite colher ou administrar substâncias diretamente no meio intracerebral.

Alicate – Ferramenta que possui duas barras metálicas que se cruzam permitindo o afastamento e a aproximação das extremidades, achatadas ou recurvadas (GEIGER, 2012). A parte achatada é utilizada para comprimir e a parte recurvada é utilizada para cortar.

Cânula-guia (implante) – É o implante introduzido cronicamente no animal e que serve de canal entre o meio externo e a região alvo localizada no meio intracerebral.

Cânula Sonda – Sonda que é introduzida na cânula-guia com o fim de coletar líquido ou administrar substâncias. A matéria-prima para a fabricação da cânula sonda é a agulha gengival.

Fio Ortodôntico de Ni-Cr – Essa liga metálica, por possuir maior formabilidade em comparação ao aço, facilita a conformação de dobras, reduzindo o tempo de trabalho e, mesmo assim, mantém uma rigidez muito próxima ao do aço. Além disso, apresenta um coeficiente de atrito elevado, o que dificulta o escape do mandril da cânula-guia (MACENA et al., 2015).

Gabarito – “Padrão que deve ser obedecido na confecção de peças, ou ainda, um instrumento usado para verificar medidas” (GEIGER, 2012). A matéria-prima para fabricação do gabarito é a agulha de aspiração. **IT:** Instrução de Trabalho.

Lima Fina – “Ferramenta de aço usado para polir, raspar, desbastar ou serrar metais” (GEIGER, 2012).

Mandril – “Haste que se introduz em certas cânulas” (GEIGER, 2012). O mandril evita a contaminação e o entupimento da cânula-guia após a implantação crônica no animal até o momento da infusão ou coleta de substância na área intracerebral desejada.

Paquímetro Digital – “Instrumento próprio para medir pequenas distâncias, diâmetros e espessuras” (GEIGER, 2012).

Parafusos – Os parafusos são enroscados no crânio do animal e utilizados para sustentar o capacete.

PO: Procedimento Operacional.

Patência – Capacidade de estar desobstruído, permitindo livre passagem de fluidos (GEIGER, 2012).

Retífica – Máquinas especializadas que tem como propriedade o corte e o polimento.

RPM – Rotação Por Minuto.

SiC – Carbetto de Silício.

I. OBJETIVO

Descrever o processo de manufatura de cânulas, sondas e mandris usados nos procedimentos que envolvem a canulação crônica guiada por estereotaxia.

II. DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

GEIGER, Paulo. **Dicionário contemporâneo da língua portuguesa**. Brasil: Lexikon Editorial, 2012. 1456 p.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	02/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

KOKARE, D. M. et al. A simple and inexpensive method to fabricate a cannula system for intracranial injections in rats and mice. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 64, n. 3, p. 246–250, 2011.

LUSTOSA, Ítalo Rosal. **AValiação DO MODELO DE STATUS EPILEPTICUS POR OUABAÍNA: DA ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR À ANÁLISE DE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E INDICADORES DE DANO CEREBRAL**. 2016. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016

MACENA, Maria Carolina Bandeira et al. FIOS ORTODÔNTICOS, PROPRIEDADES MICROESTRUTURAIS E SUAS APLICAÇÕES CLÍNICAS: VISÃO GERAL. **Revista Saúde e Ciência On Line**, Campina Grande, v. 4, n. 2, p.90-108, 2015. Disponível em: <<http://150.165.111.246/revistasauedeencia/index.php/RSC-UFCG/article/view/256>>. Acesso em: 24 ago. 2017

PEIXOTO, Adriano de Lemos Alves et al. **Manual de elaboração de procedimentos operacionais e instruções de trabalho da Universidade Federal da Bahia**. Salvador: Supad, 2015. 20 p.

PERRY, Anne Griffin; POTTER, Patricia A.; ELKIN, Martha Keene. **Procedimentos e Intervenções de Enfermagem**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 816 p. Tradução de Sílvia Mariângela Spada et al..

SILVA, Robson de Almeida; PEIXOTO, Adriano de Lemos Alves. **Concessão de auxílio financeiro/bolsa ao Estudante Extensionista**. Salvadore: Supad, 2014. 5 p

III. RESPONSABILIDADES

Professores Responsáveis: Com a finalidade de implementar a utilização dos procedimentos, o orientador deve incentivar os alunos de graduação e pós-graduação a usar os POs e ITs. O professor também tem a responsabilidade de, em coordenação com os alunos, providenciar as ferramentas necessários para a confecção das cânulas e mandris.

Estudantes de Pós-Graduação: Estes são responsáveis por verificar o funcionamento adequado dos equipamentos e, quando necessário, providenciar a calibração e ajuste do equipamento antes de utilizá-lo. Estes também são responsáveis por dominar o método e capacitar os estudantes de iniciação científica no manuseio da retífica e do alicate, bem como na confecção das cânulas e mandris. Além de verificar o resultado e a qualidade do trabalho realizado, devem estabelecer um cronograma que se adeque com andamento das demais atividades, fornecendo todo suporte necessário para o cumprimento dos prazos. O pós-graduando é responsável por coletar o material já esterilizado, bem como pelo armazenamento deste no centro cirúrgico.

Estudantes de Iniciação Científica: Estes são responsáveis pela confecção de cânulas-guia, mandris e sondas em tempo hábil para o cumprimento do cronograma de experimentação. Também devem conferir, por meio da Lista de Checagem, se os materiais necessários para a manufatura das cânulas e mandris foram todos entregues. Estes também terão sob sua responsabilidade o resguardar dos equipamentos, bem como a devolução e comunicação de defeitos que porventura esses venham a apresentar. Os ICs também são responsáveis por embalar o material produzido em papel grau cirúrgico e entregá-los ao Técnico de Laboratório.

Técnicos de Laboratório: são responsáveis pelo processo de autoclavagem do material produzido e, após isso, por armazenar o material esterilizado até a entrega ao pós-graduando.

IV. PROCEDIMENTOS

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	03/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

1. **Lista de Checagem** – entrega de materiais para o aluno de iniciação científica e verificação a ser feita antes do início dos trabalhos.

Tabela 1 – Lista de Materiais para manufatura dos implantes craniais

Material	Especificações	Fabricante	Produto Final	Localização ou Portador (●)	Estado (●)
<input checked="" type="checkbox"/> Agulha de aspiração	1,2 x 40 mm	Becton Dickinson, Curitiba, Brasil	Gabarito	() EIC () EPG () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Agulhas gengivais	30 Gauge curta	Misawa Medical Industry Co Ltd, Kasama, Japão	Cânulas-sonda	() EIC () EPG () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Autoclave Digital	AV 18			() Laboratório	() Danificado () Qualificado
<input type="checkbox"/> Tubo de polietileno	PE-10 (0,28 mm diâmetro interno)	Becton Dickinson, Holdrege, USA		() EIC () EPG () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente () Desgastado () Qualificado
<input type="checkbox"/> Agulhas hipodérmicas	0,55 X 20 mm (24 Gauge X ¾ polegada)	Becton Dickinson, Curitiba, Brasil	Cânulas-guia	() EIC () EPG () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Alicate Universal	8 polegadas; 208x48 mm; cabo antideslizante;	DEBRO		() EIC () EPG () Orientador () Laboratório	() Danificado () Qualificado
<input type="checkbox"/> Discos de Corte;	22,2 x 0,6 mm (7/8" x .023"); Carbetto de Silício Puro; Ref-223	Dentorium, New York – USA		() EIC () EPG () Orientador	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Fio ortodôntico	Ni-Cr; 0,35 mm (0,014 polegada)	Morelli, Sorocaba, Brasil	Mandris	() EIC () EPG () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Luva Nitrílica Descartável	Tamanho 8(M), cano curto, sem amido, azul	Volk do Brasil, Araucária, Paraná, Brasil		() EIC () EPG () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Máscara Cirúrgica Descartável	Elástico, tripla com filtro	Neve, Vila Antonieta, São Paulo, Brasil		() EIC () EPG () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Micro Retífica	Velocidade em 220V – 8000 a 27000 RPM; RT650KA	Black & Decker do Brasil Ltda., Uberaba		() EIC () EPG () Orientador	() Danificado () Qualificado
<input type="checkbox"/> Óculos de Proteção	SS1 Ganiris Incolor	Ganiris, Rio de Janeiro, Brasil		() EIC () EPG () Laboratório	() Danificado () Qualificado
<input type="checkbox"/> Papel Grau Cirúrgico	Rolo 10cm x 200 m REF 230106 ISSO 11607	Stericlin, Algérie		() EIC () EPG () Orientador () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	04/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

<input type="radio"/>	Paquímetro	0,02x150mm, vernier calipers	Western		<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="radio"/>	Parafusos	0,9 mm de diâmetro para óculos	Otto Frey, Oakland, USA	Parafusos	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="radio"/>	Seladora de Papel Grau Cirúrgico	SM 300 PLUS			<input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado

Fonte: Adaptado de Lustosa, 2016

Os manuais dos materiais e equipamentos estão armazenados na Pasta de Instruções dos Fabricantes localizada no laboratório ou grafadas na própria embalagem do material ou equipamento Estudante de Iniciação Científica (EIC); Estudante de Pós-graduação (EPG)

A presença do material foi verificada e este atende às especificações
___/___/___ dia da última verificação

OBSERVAÇÃO: O fabricante pode ser modificado desde que obedeça às especificações propostas, excetuando-se as referências diretamente associadas ao fabricante.

2. CONDIÇÕES AMBIENTAIS REQUERIDAS PARA MANUFATURA

A manufatura das cânulas e mandris deve ser realizada em ambiente AREJADO com boa circulação de ar a fim de evitar o acúmulo de pó próximo ao operador.

3. Instrução para utilização da Micro Retífica

3.1 Segurança

- VISTA-SE ADEQUADAMENTE. Não vista roupas folgadas nem use adornos que possam se prender às partes móveis da ferramenta durante o trabalho.
- Cabelos longos devem ficar presos ou cobertos.
- Use ÓCULOS de segurança.
- Use LUVAS de borracha, pois a fricção dos discos de corte emite calor.
- Utilize MÁSCARA, pois essa operação produz pó fino.
- VOLTAGEM. Certifique-se que a voltagem indicada na ferramenta é a mesma da tomada que vai ser utilizada.
- DESCONECTE DA REDE ELÉTRICA ao montar os acessórios.

3.2 Acoplamento de Disco de Corte

- Certifique-se que o aparelho esteja desconectado da rede elétrica.
- Empurre para trás a trava de bloqueio de fuso (item 2), configurando da posição A para posição B (Figura 3).
- Gire collet nut (item 5) no sentido anti-horário.
- Insira a barra de fixação no orifício do collet (item 4) acoplado ao collet nut (item 5) até o fim e prenda o disco de corte com o auxílio do parafuso (Figura 5 – 11).

OBSERVAÇÃO: Utilize uma ruela entre o parafuso e o disco de corte a fim de dar mais estabilidade ao sistema. Esse ajuste é opcional.

- Utilizando apenas as mãos, aperte bem no sentido horário a collet nut (item 5).
- Selecione a velocidade 2 (12000 RPM) se o objetivo for desbastar a cânula para acertar o tamanho. Selecione a velocidade 3 (19000 RPM) se o objetivo for cortar a agulha hipodérmica (Figura 12 – 13).
- Conecte o aparelho à energia (Figura 14).

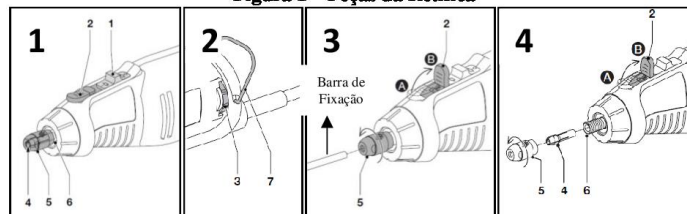
Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	05/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

8. Para liberar o eixo para utilização da máquina, empurre para frente a trava de bloqueio do fuso, configurando da posição B para a posição A (item 2). Se a trava do eixo de fixação estiver acionada, você não conseguirá fazer a ferramenta funcionar.

9. Para ligar a ferramenta, empurre o interruptor (item 1) para frente. A ferramenta começará a funcionar de imediato na velocidade selecionada.

Figura 1 – Peças da Retífica



Fonte: Black & Decker RT 650, 2000.

Figura 2 – Montagem da Retífica



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: Mais informações podem ser encontradas no Manual de Instruções da Micro Retífica RT650KA da fabricante Black & Decker. Disponível em: <http://www.bdferramentas.com.br/manuais/RT650KA.pdf>

4. Gabarito

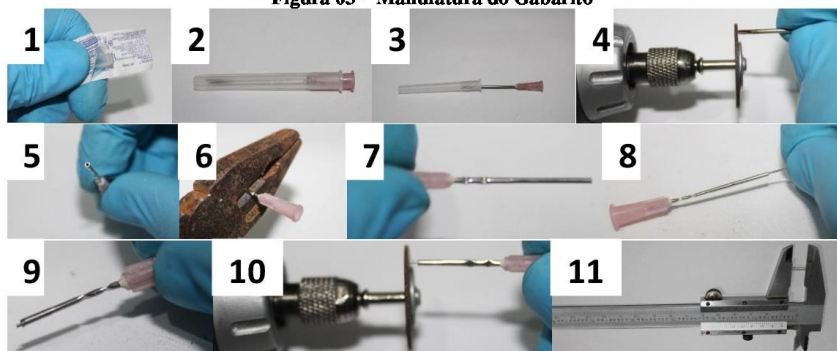
1. Retirar o invólucro individual e o protetor das agulhas de aspiração 1,2 X 40 mm (Figura 1 - 3).
2. Com a retífica conectada à energia, empurrar para frente a trava de bloqueio de fuso e deslocar o interruptor para frente, ligando o aparelho.
3. Aparar os biséis das agulhas através do desgaste por abrasão realizado com a retífica equipada com o disco de corte de SiC e configurada na velocidade 2 (12000 RPM) (Figura 4 - 5).
4. Após o término deste processo, desligar o aparelho empurrando para trás o interruptor. Em seguida, empurrar para trás a trava de bloqueio do fuso.
5. Com a parte recurvada do alicate, realizar uma compressão na cânula de aço sem cortá-la. Essa compressão é feita rente ao canhão da cânula, a fim de deixar o restante da cânula livre para ser ajustada e permitir a penetração da cânula de aço de uma agulha hipodérmica 0,55 X 20 mm (Figura 6 - 9).

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	06/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

6. Com a retífica conectada à energia, empurrar para frente a trava de bloqueio de fuso e deslocar o interruptor para frente, ligando o aparelho.
7. Com o auxílio da retífica, ajustar a parte livre da cânula do gabarito para um comprimento um pouco maior do que o comprimento desejado para a cânula-guia. Com a cânula de uma agulha hipodérmica dentro do gabarito, deve-se fazer o ajuste aos poucos e, à medida que as agulhas vão sendo desgastadas, retira-se o esboço de cânula-guia e verifica-se o tamanho desta com o auxílio de um paquímetro. Esse procedimento é feito até que o gabarito apresente o comprimento desejado (Figura 10 – 11).
8. Após o término deste processo, desligar o aparelho empurrando para trás o interruptor. Em seguida, empurrar para trás a trava de bloqueio de fuso.

Figura 03 – Manufatura do Gabarito



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: O cálculo do comprimento da Cânula-guia pode ser realizado como descrito no Procedimento Operacional (PO) intitulado “Fluxo de atividades e o Cuidado com Animais”. O link desse PO está disponível neste documento no título “DOCUMENTOS CORRELATOS”.

OBSERVAÇÃO: O gabarito permite a confecção de um grande número de cânulas-guia. Contudo, pode desgastar-se durante o processo e perder a dimensão anteriormente planejada. Neste caso, o gabarito deve ser substituído por um novo, a fim de garantir resultados mais precisos.

5. Cânulas-guia ou Implante

1. Retirar o invólucro individual e o protetor das agulhas hipodérmicas 0,55 X 20 mm (Figura 1 – 2).
2. Com a retífica conectada à energia, empurrar para frente a trava de bloqueio de fuso e empurrar o interruptor para frente, ligando o aparelho.
3. Aparar os biséis das agulhas através do desgaste por abrasão realizado com o auxílio da retífica configurada na velocidade 2 (12000 RPM) (Figura 3 – 4).
4. Após o término deste processo, desligar o aparelho empurrando para trás o interruptor. Em seguida, empurrar para trás a trava de bloqueio de fuso.
5. Com a parte romba do alicate, realizar leves compressões repetidas no canhão a fim de separá-lo da cânula de aço. Entre duas compressões sucessivas, tentar girar o canhão em sentido contrário ao da cânula a fim de liberar uniformemente o cano e evitar amassá-lo. Realizar uma leve compressão no cimento com o alicate a fim de esfregar a resina (Figura 5 – 8).
6. Os resquícios do cimento que fixam o canhão à cânula de aço foram removidos pela fricção de uma lâmina de bisturi (Figura 9 – 10).

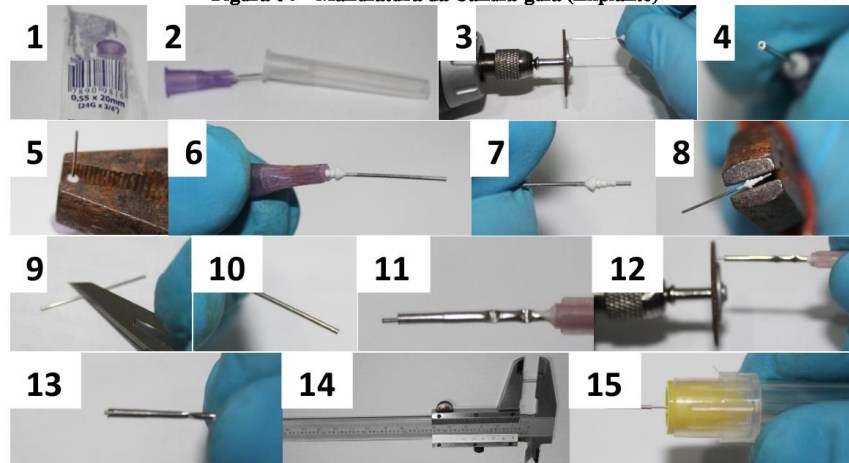
Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	07/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

OBSERVAÇÃO: Dependendo do tamanho estipulado para a cânula-guia, pode-se cortar a cânula ao meio com o auxílio da retífica configurada na velocidade 3 (19000 RPM), a fim de fabricar 2 implantes com apenas 1 cânula de agulha hipodérmica, diminuindo os custos.

7. As peças que são resultantes desse processo são colocadas, uma de cada vez, dentro do gabarito com a finalidade de serem ajustadas para o tamanho próximo ao ideal (Figura 11).
8. Com a retífica conectada à energia, empurrar para frente a trava de bloqueio de fuso e empurrar o interruptor para frente, ligando o aparelho.
9. Com a cânula da agulha hipodérmica dentro do gabarito, deve-se fazer o ajuste por desgaste aos poucos, até que a cânula esteja próximo ao tamanho ideal, ou seja, um pouco maior que o tamanho do gabarito (Figura 12 – 13).
10. Após o término deste processo, desligar a retífica empurrando para trás o interruptor. Em seguida, empurrar para trás a trava de bloqueio de fuso.
11. A finalização do ajuste do comprimento da cânula é feita com o auxílio de um paquímetro e uma lima fina (Figura 14).
12. Introduzir e girar uma agulha gengival curta de 30 Gauge no lúmen das cânulas-guia a fim de verificar sua patência, eliminar rebarbas internas e o pó remanescente do disco de SiC (Figura 15).

Figura 04 – Manufatura da Cânula-guia (Implante)



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: Critérios de aprovação - o erro aceitável para o comprimento da cânula-guia deve ser de $\pm 0,05$ mm, ou seja, se a cânula-guia precisa ter o comprimento X para ser implantada e atingir com precisão uma determinada região intracerebral do animal, então, pode-se admitir um erro de 0,05 mm em seu comprimento ($X \pm 0,05$ mm).

OBSERVAÇÃO: O aluno pós-graduando deve verificar, dentre outras coisas, a verticalidade da cânula-guia antes que essa seja autoclavada.

OBSERVAÇÃO: Critérios de rejeição - as cânulas que apresentarem qualquer obstrução, tortuosidade ou comprimento inadequado devem ser descartadas.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

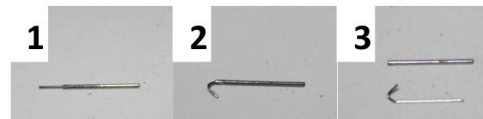
Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	08/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

OBSERVAÇÃO: O cálculo do comprimento da Cânula-guia pode ser realizado como descrito no Procedimento Operacional (PO) intitulado "Fluxo de atividades e o Cuidado com Animais". O link desse PO está disponível neste documento no título "DOCUMENTOS CORRELATOS".

6. Mandris

1. Introduzir um fio ortodôntico de Ni-Cr com diâmetro de 0,35 mm em uma cânula-guia pronta. O fio deve ser introduzido sem ultrapassar o comprimento da cânula (Figura 1).
2. Dobra-se a extremidade externa do fio utilizando como apoio a borda da cânula (Figura 2).
3. Com a parte recurvada do alicate, corta-se o fio a aproximadamente 2 mm da dobra.

Figura 05 – Manufatura de Mandris



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: O mandril só pode ser utilizado uma única vez no animal. Caso o mandril seja retirado da cânula-guia após a cirurgia, este deve ser substituído por um mandril novo e esterilizado. Dependendo do escopo adotado no experimento, pode-se confeccionar mais de um mandril por animal.

OBSERVAÇÃO: Na ausência do fio ortodôntico de Ni-Cr com diâmetro de 0,35, pode-se utilizar a agulha gengival de 30 Gauge para fabricação de mandris.

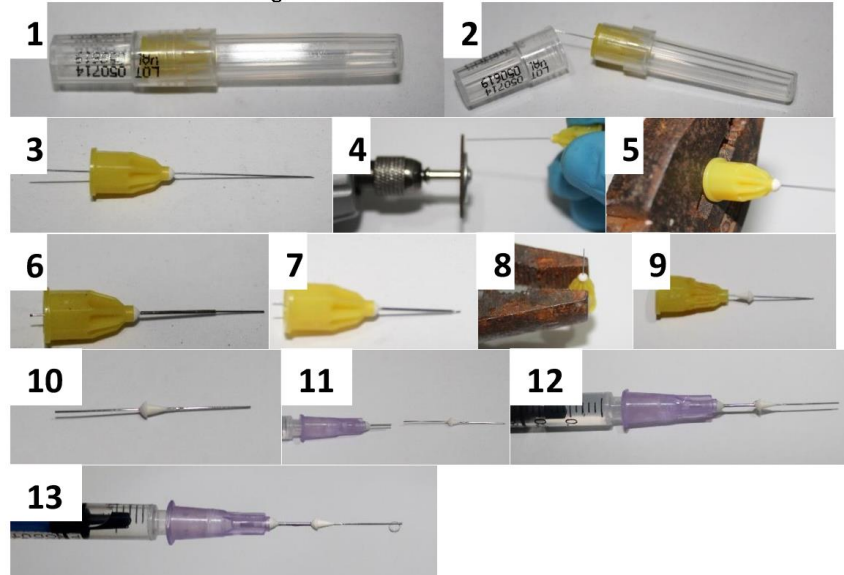
7. Cânulas-sonda

1. Girar em sentido contrário os dois protetores que formam o estojo plástico da agulha gengival de 30 Gauge a fim de rasgar o lacre de segurança que garante a esterilidade.
2. Puxe com cuidado os dois protetores para que a agulha saia dos invólucros (Figura 2 – 3).
3. Com a retífica conectada à energia, empurrar para frente a trava de bloqueio de fuso e empurrar o interruptor para frente, ligando o aparelho.
4. Aparar os biséis das agulhas através do desgaste por abrasão realizado com o auxílio da retífica configurada na velocidade 2 (12000 RPM) (Figura 4).
5. Após o término deste processo, desligar o aparelho empurrando para trás o interruptor. Em seguida, empurrar para trás a trava de bloqueio de fuso.
6. Com a parte recurvada do alicate, cortar a parte interna da agulha, aquela que vai originalmente dentro do tubo de anestésico, à altura da borda do canhão (Figura 5).
7. A parte externa da cânula da agulha gengival deve ser introduzida em uma cânula-guia pronta até atravessá-la por inteiro, ou seja, até que o corpo do canhão colida com as bordas da cânula-guia (Figura 6).
8. Com a parte recurvada do alicate, cortar a agulha a pouco mais de 1 mm de distância da extremidade da cânula-guia (Figura 7).
9. Com a parte romba do alicate, realizar leves compressões repetidas no canhão a fim de separá-lo da cânula. Entre duas compressões sucessivas, tentar girar o canhão em sentido contrário ao da cânula a fim de liberar uniformemente o cano e evitar amassá-lo (Figura 8 – 10).
10. As extremidades da cânula sonda são polidas com lima fina para eliminar a parte amassada pelo alicate e ajustar o comprimento da cânula sonda para 1 mm maior que a cânula-guia.
11. O último passo é verificar a patência da cânula sonda por meio do acoplamento de uma agulha hipodérmica 0,55 x 20 mm previamente desgastada e conectada a uma seringa de 1 mL (Figura 11 – 13).

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	09/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

Figura 06 – Manufatura da Cânula-sonda



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: Critérios para rejeição das cânulas - comprimento insuficiente, curvas, com rebarbas, ou obstruídas foram eliminadas.

8. Parafusos

1. Retirar todos os parafusos 0,9 mm de diâmetro do invólucro original;
2. Com o a parte romba do alicate, prender o parafuso pela cabeça e rosca, deixando apenas a extremidade pontiaguda livre da compressão.
3. Pressionar a extremidade pontiaguda na mesa ou outro suporte a fim de quebrá-lo.
4. Recolher os parafusos no invólucro original.

Figura 07 – Preparo dos parafusos



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: Utiliza-se 3 parafusos para cada animal.

9. Envelopar peças

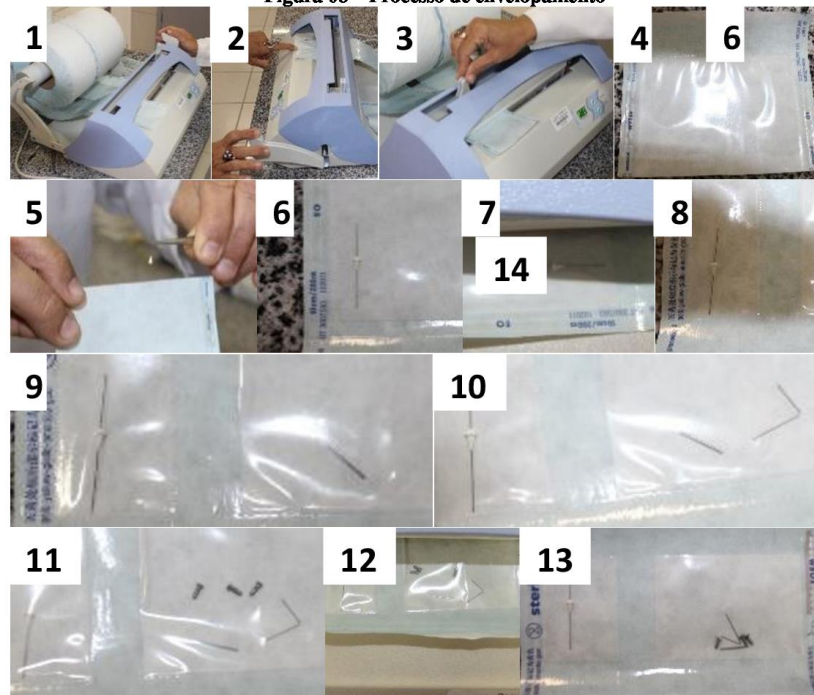
1. Inserir o papel grau cirúrgico na seladora (Figura 1).
2. Ligar a seladora e esperar que essa atinja 200 °C.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	010/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

3. Medir uma peça equivalente a 5 cm de papel (Figura 1).
4. Puxar a alavanca da seladora para selar um lado da peça de papel grau cirúrgico (Figura 2).
5. Ainda com a alavanca puxada, cortar a peça de grau cirúrgico. Esta deve apresentar dimensões em torno de 7 cm x 10 cm (Figura 3).
6. Inserir a cânula sonda recém manufaturada no quadrante esquerdo do papel (Figura 5 – 6).
7. Inserir o papel na seladora e selar o quadrante contendo a cânula sonda (Figura 7 – 8).
8. Inserir a cânula-guia, os 3 parafusos e o mandril no segundo quadrante (Figura 9 – 11).
9. Inserir o papel na seladora a fim de fechar o sistema e direcioná-lo para o autoclave (Figura 12 – 14).

Figura 08 – Processo de envelopamento



Fonte: Elaborado pelo autor

10. Autoclavagem

1. Ligar o equipamento. Nessa fase o painel indicará a letra P (Figura 10).
2. Abrir a porta do aparelho girando o manípulo no sentido anti-horário e colocar 2 litros de água destilada (Figura 2 – 3).
3. Colocar o papel grau cirúrgico na câmara (Figura 6).

OBSERVAÇÃO: Não encostar o material nas paredes da câmara e deixar um espaço entre os envelopes, para que haja livre circulação de vapor.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	011/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

4. Fechar a porta do equipamento e girar o manípulo no sentido horário sem forçar o manípulo (Figura 7 – 9).
5. Apertar iniciar. Nessa fase o painel apresentará 2 dígitos correspondentes à pressão (Figura 11).
6. Apertar selecionar. O valor a ser configurado é o 1.1, que corresponde a 121°C (Figura 11).
7. Apertar iniciar. Nessa fase aparecerá 2 dígitos equivalentes ao tempo de trabalho (Figura 12).
8. Apertar selecionar. O tempo de processo será de 16 minutos (Figura 12).
9. Apertar iniciar. Nessa fase, aparecerá 2 números que vão subindo até atingir a pressão desejada (Figura 14 – 15).
10. Após atingir a pressão selecionada, o painel começa a cronometrar o tempo (Figura 16 – 17).
11. No fim do processo o painel indicará FC (fim de ciclo) (Figura 18).

OBSERVAÇÃO: A esterilização utilizando papel grau cirúrgico em autoclave apresenta validade de 7 dias. Assim, o processo de Autoclavagem do conjunto de cânulas e mandris deve ser realizado no prazo máximo de 7 dias antes da cirurgia.

Figura 09 - Processo de Autoclavagem



Fonte: Elaborado pelo autor

----- Fim do Processo -----

V. PALAVRAS DE BUSCA

Cânula; Canulação Crônica; Estereotaxia; Mandris; Manufatura; Procedimento; Sondas.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	012/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

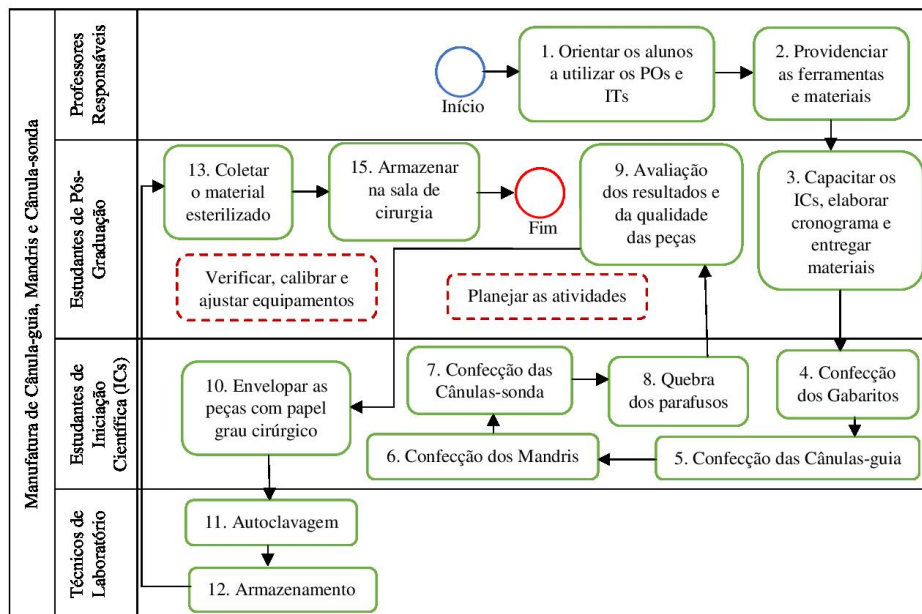
VI. DOCUMENTOS CORRELATOS



Procedimento Operacional “Fluxo de atividades e o Cuidado com Animais” disponível: <https://www.dropbox.com/s/vd6y89dv51v1e3d/Ap%C3%AAndice%20A%20Fluxo%20de%20Atividades%20para%20Canula%C3%A7%C3%A3o%20Cr%C3%B4nica%20Intracerebral.pdf?dl=0>

OBSERVAÇÃO: Utilize o leitor QRcode (câmera) de seu Smartphone ou Tablet e acesse o conteúdo acima.

VII. FLUXOGRAMA



Fonte: Modificado de Peixoto et al., 2015

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manufatura de Cânulas-guia, Sondas e Mandris	01	013/12
Identificação do Documento: IT.NPDM.LNF.01/01		

VIII. CONTROLE DE REVISÃO

Revisão	Data	Histórico das Revisões	Itens Revisados	Revisado por
00	06/12/17	Elaboração do Documento	Todos	Thiago Guedes

Fonte: Modificado de Peixoto et al., 2015

	Data	Nome	Graduação/Título
Aprovado por	06/12/17	David Freitas de Lucena	Medicina/Doutor
Revisado	06/12/17	Ítalo Rosal Lustosa	Medicina/Mestre
Revisado	06/12/17	Gabriela Mariangela F. de Oliveira	Medicina Veterinária
Elaborado	06/12/17	Francisco Thiago Guedes Holanda	Farmácia

Fonte: Modificado de Silva e Peixoto, 2014

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

APÊNDICE C – CIRURGIA ESTEREOTÁXICA



	Universidade Federal do Ceará Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos		Instrumento de Padronização de Processo POP – Procedimento Operacional Padrão
Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)		Versão 01	Páginas 01/18
Título: Cirurgia Estereotáxica			
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01			

Glossário de Termos e Siglas

Ântero-posterior (AP) – Que diz respeito à, ou está situado na parte anterior e posterior; que vai desde a parte da frente até a parte de trás (GEIGER, 2012).

Cânula-guia (Implante) – É o implante introduzido cronicamente no animal e que serve de canal entre o meio externo e a região alvo localizada no meio intracerebral.

Dilulsionar – Termo médico que descreve o ato de separar tecidos sem seccionar.

Dorso-ventral (DV) – Que diz respeito ao dorso e ao ventre (GEIGER, 2012). Em um sistema cartesiano, refere-se ao eixo y de coordenadas.

Holder do estereotáxico – Seringa acoplada à torre do estereotáxico com a função de manter a cânula-guia no lugar adequado.

Mandril – “Haste que se introduz em certas cânulas” (GEIGER, 2012). O mandril evita a contaminação e o entupimento da cânula-guia após a implantação crônica no animal até o momento da infusão ou coleta de substância na área intracerebral desejada.

Médio-lateral (ML) – Em um sistema cartesiano, refere-se ao eixo x de coordenadas.

PO: Procedimento Operacional.

Trepanação (Perfuração) – Ação ou resultado de trepanar. Abertura, furo feito com o auxílio de um instrumento (GEIGER, 2012).

I. OBJETIVO

Descrever os procedimentos realizados na cirurgia estereotáxica aplicável a qualquer área intracerebral de ratos Wistar.

II. DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

BRASIL. Constituição (2008). Lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008. **Procedimento Para O Uso Científico de Animais**. Brasília, Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/11794.htm>. Acesso em: 30 nov. 2017.

COSTA NETO, João Moreira da et al. **INSTRUMENTAL E INSTRUMENTAÇÃO CIRÚRGICA**. Salvador: Pet Ufba, [20--]. 64 p. Disponível em: <<http://www.cirurgia.vet.ufba.br/arquivos/docs/aulas/instrumental24082011.pdf>>. Acesso em: 13 set. 2017.

FERRY, B.; GERVASONI, D.; VOGT, C. **Stereotaxic Neurosurgery in Laboratory Rodent - Handbook on best practices**. 1ª ed. Paris: Springer, 2014.

GEIGER, Paulo. **Dicionário contemporâneo da língua portuguesa**. Brasil: Lexikon Editorial, 2012. 1456 p.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. 4ª ed. San Diego: Academic Press, 1998.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. 5. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005.

PEIXOTO, Adriano de Lemos Alves et al. **Manual de elaboração de procedimentos operacionais e instruções de trabalho da Universidade Federal da Bahia**. Salvador: Supad, 2015. 20 p.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	02/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

LUSTOSA, Ítalo Rosal. **AVALIAÇÃO DO MODELO DE STATUS EPILEPTICUS POR OUABAÍNA: DA ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR À ANÁLISE DE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E INDICADORES DE DANO CEREBRAL**. 2016. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016

MICHAJLOWSKY, Custódio et al. Tumores experimentais do sistema nervoso central: padronização de modelo em roedores utilizando a linhagem 9L. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, [s.l.], v. 61, n. 2, p.234-240, jun. 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-282x2003000200013>

SILVA, Robson de Almeida; PEIXOTO, Adriano de Lemos Alves. **Concessão de auxílio financeiro/bolsa ao Estudante Extensionista**. Salvador: Supad, 2014. 5 p

III. RESPONSABILIDADES

Professores Responsáveis (Orientador): Com a finalidade de implementar a utilização dos procedimentos, o orientador deve incentivar os alunos de graduação e pós-graduação a usar os POs e ITs. O professor também tem a responsabilidade de, em coordenação com os alunos, providenciar os fármacos, equipamentos e materiais necessários para o bom andamento da cirurgia estereotáxica. Ainda tem a responsabilidade de organizar, em coordenação com outros laboratórios e professores, um cronograma de uso da sala cirúrgica, com o intuito de evitar choque de horário entre os experimentos dos pesquisadores.




Estudantes de Pós-Graduação: Estes são responsáveis por verificar o funcionamento adequado dos equipamentos e, quando necessário, providenciar a calibração e ajuste do equipamento antes de utilizá-lo. Estes também são responsáveis por dominar os procedimentos da cirurgia estereotáxica e capacitar os estudantes de iniciação científica no manuseio dos animais e no auxílio da cirurgia. Devem fazer pedido de novos animais e agendar as cirurgias levando em consideração o aumento do peso dos animais (Planilha de Controle do Peso), respeitando a disponibilidade e carga-horária dos estudantes de iniciação. O pós-graduando é responsável por realizar o procedimento cirúrgico.

Estudantes de Iniciação Científica: Estes são responsáveis pelo monitoramento semanal da massa corporal dos ratos Wistar, atualizando-os periodicamente na "Planilha de Controle de Peso". Também devem conferir, por meio da Lista de Checagem, se os fármacos, materiais e equipamentos estão todos à disposição na sala de cirurgia. Devem realizar os procedimentos referentes ao pré-operatório, pós-operatório e auxiliar o estudante de pós-graduação no procedimento cirúrgico.

IV. PROCEDIMENTOS

- Lista de Checagem** – lista de fármacos, materiais e equipamentos necessários para o bom andamento da cirurgia científica e verificação a ser feita antes do início dos trabalhos.

Tabela 1 – Fármacos usados na cirurgia estereotáxica

 Fármacos	Dose mg/kg	Via	Fabricante	Localização ou Portador (●) / /	Estado (●) / /
 Cetamina	90 - 100	i.p.	Agner União Saúde Animal, Brail	() SC () EIC () EPG () Biotério () Orientador () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente Validade: / /
 Cetoprofeno (Ketofen)	5	s.c.	Bimeda-Mogivet, Monte-Mor, São Paulo,	() SC () EIC () EPG	() Suficiente () Insuficiente Validade:
Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda			Aprovado por David Freitas de Lucena		Data 06/12/2017

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	03/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

			Brasil	() Biotério () Orientador () Laboratório	___/___/___	
<input type="radio"/>	Clorexidina	4%	-	Farmácia Escola, Fortaleza, Ceará, Brasil	() SC () EIC () EPG () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente Validade: ___/___/___
<input type="radio"/>	Dexpanthenol (Epitegel)	5%	t.o.	Baush+Lomb	() SC () EIC () EPG () Biotério () Orientador () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente Validade: ___/___/___
<input type="radio"/>	Iodo- polivinilpirrolidona	-	t.d.	Natulab, Santo Antônio de Jesus, Bahia, Brasil	() SC () Biotério () Orientador () EIC () EPG () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente Validade: ___/___/___
<input type="radio"/>	Lactato de Ringer	5 mL/ Animal	s.c.	Frezenius Kabi, Aquiraz, Brasil	() SC () EIC () EPG () Biotério () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente Validade: ___/___/___
<input type="radio"/>	Lidocaína pomada dermatológica	50 mg/g	t.d.	EMS, Hortolândia, São Paulo, Brasil	() SC () EIC () EPG () Biotério () Orientador () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente Validade: ___/___/___
<input type="radio"/>	Lidocaína 2% com adrenalina 0,002%	0,3 mL/ Animal	s.c.	Laboratório Bravet Ltda., Rio de Janeiro, Brasil	() SC () EIC () EPG () Biotério () Orientador () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente Validade: ___/___/___
<input type="radio"/>	Pentabiótico veterinário para pequenos animais: - Benzilpenicilina benzatina: 600.000 UI - Benzilpenicilina procaína: 300.000 UI - Dihidroestreptomicin a: 250 mg - Estreptomicina: 250 mg	0,2 mL/ animal	i.m.	Zoetis	() SC () EIC () EPG () Biotério () Orientador () Laboratório	() Suficiente () Insuficiente Validade: ___/___/___

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	04/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

- Água destilada: 3 mL					
<input type="radio"/> Peróxido de Hidrogênio 10 volumes	-	Tópico	Rioquímica, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente Validade: ____/____/____
<input type="radio"/> Xilazina	9-10	i.p.	Syntec, Cotia, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Orientador <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente Validade: ____/____/____

Fonte: Adaptado de Lustosa, 2016

Os manuais dos materiais e equipamentos estão armazenados na Pasta de Instruções dos Fabricantes localizada no laboratório ou grafadas na própria embalagem do material ou equipamento

Intraperitoneal (i.p.); subcutâneo (s.c.); intramuscular (i.m.); tópico oftálmico (t.o.); tópico dermatológico (t.d.); Estudante de Iniciação Científica (EIC); Estudante de Pós-graduação (EPG); Sala de Cirurgia (SC)

A presença do material foi verificada e este atende às especificações

____/____/____ dia da última verificação; Validade: ____/____/____ Validade do Fármaco

Tabela 2 – Material necessário para a cirurgia estereotáxica

<input checked="" type="radio"/> Material/ Equipamento	Especificações (Modelo ou N° de Série)	Fabricante	Localização ou Portador (●)	Estado (●)
<input type="radio"/> Agulha de aspiração	40 X 1,2 mm	Becton Dickinson, Curitiba, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="radio"/> Aparelho Estereotáxico	EFF 33I	Insight, Campinas, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Orientador	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Calibrar <input type="checkbox"/> Reparo <input type="checkbox"/> Qualificado <input type="checkbox"/> Manutenção
<input type="radio"/> Avental Descartável TNT manga longa		Descarpack, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério	Não se aplica
<input type="radio"/> Balança Digital, Precisão Eletrônica 1g a 10kg	Modelo SF-400	ALG	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Orientador	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Calibrar <input type="checkbox"/> Reparo <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="radio"/> Bandeja metálica de inox para esterilização			<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	Não se aplica
<input type="radio"/> Béquer de vidro contendo clorexidina 4%			<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	Não se aplica
<input type="radio"/> 4 Brocas de aço esférica	2 brocas 1016 FG 2 brocas 1012 FG	KG Sorensen, Cotia, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Desgastada <input type="checkbox"/> Insuficiente <input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Qualificada

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	05/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

<input type="radio"/>	Carrinho de aço inox			<input type="checkbox"/> Biotério	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Reparo <input type="checkbox"/> Qualificado <input type="checkbox"/> Manutenção
<input type="radio"/>	Coletor de poliestireno				
<input type="radio"/>	Coletor para material perfurocortante com desconector de agulha	1,5 litros Código 0160501	Descarpack, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> SC	<input type="checkbox"/> Cheio <input type="checkbox"/> Vazio
<input type="radio"/>	Compressa de gaze estéril 13F, 7,5 X 7,5	Código 194579	Cremer, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="radio"/>	Detergente enzimático neutro	1 Litro	Rioquímica, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="radio"/>	Escova para lavagem com cerdas em crina	Modelo 2240	Weinberg	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="radio"/>	Espátula de Arame de Aço Inox com Colher	25 cm	Ricilab, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="radio"/>	Estufa			<input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Calibrar <input type="checkbox"/> Reparo <input type="checkbox"/> Qualificado <input type="checkbox"/> Manutenção
<input type="radio"/>	Fio de Nylon 4 – 0 com agulha de secção triangular	-	Johnson & Johnson, São José dos Campos, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="radio"/>	Frasco Plástico com válvula Spray contendo álcool 70°GL	300ml		<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="radio"/>	Gaiola reserva (Microisolador)			<input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	Não se aplica
<input type="radio"/>	Indicador Químico para Estufa	CD 30 Classe 4	Chemdye	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="radio"/>	Instrumental cirúrgico (2 Sets): - Lâmina de Bisturi estéril N°10 - 1 Cabo para Bisturi N°3 - 1 Tesouras reta 12cm - 4 Pinças de Halsted (Mosquito)		Solidor Golgran Íris Stark	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Orientador <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Desgastado <input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente <input type="checkbox"/> Qualificado

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	06/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

<input type="checkbox"/> - 1 Pinça de Cushing sem dentes - 1 Porta-agulhas - 1 Pinça de Foester - 1 Elevador Periosteal				
<input type="checkbox"/> Jaleco			<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	Não se aplica
<input type="checkbox"/> Lâmpada Incandescente	-	Philips, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/> Lixo Infectante			<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> Biotério	<input type="checkbox"/> Cheio <input type="checkbox"/> Vazio
<input type="checkbox"/> Luminária de Mesa Startec Jazz 12cm x 9cm x 42cm	Cromado	Startec Import, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/> Luva cirúrgica estéril		Embramac, Itapira, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="checkbox"/> Luva nitrílica descartável	Cano curto, sem amido	Sensivolk, Araucária, Paraná, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="checkbox"/> Micromotor odontológico tipo peça-de-mão (PM)	Modelo LB 100	Beltec, Araraquara, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Calibrar <input type="checkbox"/> Reparo <input type="checkbox"/> Qualificado <input type="checkbox"/> Manutenção
<input type="checkbox"/> Mandril adaptador PM-FG	-	Microdont, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/> Máquina de cortar cabelo (Tricótomo elétrico)	RSCW 389*	Raymonda	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado <input type="checkbox"/> Manutenção
<input type="checkbox"/> Máscara descartável tripla com elástico		Embramac, Campinas, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="checkbox"/> Mini chaves de fenda		Philips	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/> Óculos de Proteção Netuno	Modelo DA-15700	DANNY, Guarulhos, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	07/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

<input type="checkbox"/>	Pipeta Pasteur	3 MI	Labor Import, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/>	Papel alumínio			<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="checkbox"/>	Pote retangular para sorvete	1,8 litros	Emplal Embalagens Plásticas LTDA, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/>	Pote Dappen vidro	-	Art Vidro Brunor, Paraná, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/>	Papel TNT esterilizado	Dimensões 30x30cm		<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="checkbox"/>	Resina acrílica	-	Vipi Produtos Odontológ., Pirassununga, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="checkbox"/>	Seringas de Insulina 1mL/100U.I. com agulha de 26 G	Código 0341001	Descarpac, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="checkbox"/>	Seringas de 5 MI		Descarpac, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="checkbox"/>	Touca Descartável TNT		Embramac, Campinas, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente

Fonte: Adaptado de Lustosa, 2016

Os manuais dos materiais e equipamentos estão armazenados na Pasta de Instruções dos Fabricantes localizada no laboratório ou grafadas na própria embalagem do material ou equipamento.

Intraperitoneal (i.p.); subcutâneo (s.c.); intramuscular (i.m.); tópico oftálmico (t.o.); tópico dermatológico (t.d.); Estudante de Iniciação Científica (EIC); Estudante de Pós-graduação (EPG); Sala de Cirurgia (SC)

✓ A presença do material foi verificada e este atende às especificações

___/___/___ dia da última verificação

OBSERVAÇÃO: O fabricante pode ser modificado desde que obedeça às especificações propostas, excetuando-se as referências diretamente associadas ao fabricante.

OBSERVAÇÃO: A falta dos materiais ou o defeito de equipamentos devem ser comunicados em um tempo hábil para a reposição antes da cirurgia.

2. CONDIÇÕES AMBIENTAIS REQUERIDAS PARA A CIRURGIA

A sala de cirurgia deve ser climatizada e silenciosa, a fim de oferecer conforto aos pesquisadores e evitar o estresse do animal. Durante a confecção do capacete, o ideal é misturar os polímeros em ambiente aberto e ventilado.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	08/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

3. Pré-operatório (Tempo de Execução: 30 minutos):

3.1. Pesagem dos Animais

1. Realizar a higienização das mãos.
2. Paramentar-se com jaleco, avental, touca, máscara e óculos.
3. Colocar as luvas nitrílicas descartáveis.

OBSERVAÇÃO: Para cada turno diário é possível operar 2 animais. Assim, em um dia com operação no período da manhã e da tarde, é possível operar 4 animais em média.

4. transporta-se, na própria gaiola, 4 animais marcados em azul na ponta da calda (pesando entre 250 – 280 gramas).
5. Ainda no biotério, anotar o número da gaiola e a data do procedimento cirúrgico na “Planilha de Controle em Estereotaxia”.
6. Com o auxílio da balança digital e do pote retangular, realizar a pesagem dos animais. Cada animal deve receber uma marcação (de 1 a 4 traços) na calda indicando uma numeração progressiva correspondente ao decréscimo do peso, ou seja, o animal mais pesado deve receber a marcação de 1 traço na calda, enquanto o animal mais leve deve receber a marcação de 4 traços na calda. O peso e a numeração da calda devem ser anotados na “Planilha de Controle em Estereotaxia”.
7. O transporte dos animais para a sala de cirurgia deve ser feito, se possível, em um carrinho apropriado para o traslado e no interior do mesmo prédio do biotério. Aproveitar esse momento para fazer o transporte simultâneo da gaiola reserva.
8. Os procedimentos cirúrgicos devem ser realizados na ordem progressiva da numeração da calda de cada animal, ou seja, do mais pesado para o mais leve.

OBSERVAÇÃO: A cirurgia é realizada em ratos (*Rattus norvegicus*) machos adultos da linhagem albina Wistar com cerca de 2,5 meses de idade, pesando entre 250 – 300 gramas de massa corporal.

OBSERVAÇÃO: O manejo dos ratos, bem como as marcações destes, estão melhor descritos no Procedimento Operacional (PO) intitulado “Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais”. O link desse PO está disponível neste documento no título “DOCUMENTOS CORRELATOS”.

OBSERVAÇÃO: O link que contém a “Planilha de Controle em Estereotaxia” está disponível neste documento no título “DOCUMENTOS CORRELATOS”.

OBSERVAÇÃO: A gaiola reserva é usada para a acomodação dos animais no pós-operatório. Esta deve estar abastecida com água e ração à vontade.

3.2. Anestesia, Analgesia e antibioticoprofilaxia dos animais

1. A administração intraperitoneal de cetamina é realizada no quadrante inferior direito do abdômen do roedor com uma agulha de 26G conectada a uma seringa de insulina. A dosagem do fármaco foi calculada segundo a descrição abaixo:

$$\text{Dose de Cetamina} = \frac{100\text{mg}}{\text{Kg}} = \frac{0,1\text{mg}}{\text{g}} \text{ (Tabela 1)}$$

ou seja, 0,1 mg de Cetamina por grama do animal

$$\text{A concentração da Ketamina Agener é } 10\% = \frac{10\text{g}}{100\text{mL}} = \frac{100\text{mg}}{\text{mL}}$$

ou seja, 100 mg de Cetamina para cada mL do fármaco

Se há 100mg de Cetamina para cada 1 mL do fármaco, quantos mL do fármaco é preciso para administrar 0,1 mg de Cetamina?

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	09/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

$$100\text{mg} \rightarrow 1\text{mL}$$

$$0,1\text{mg} \rightarrow x\text{ mL}$$

$$x = 0,001\text{mL}$$

Se para uma grama de animal utilizo 0,001mL de fármaco, quantos mL do fármaco é preciso para administrar o anestésico em um animal de 250 g?

$$0,001\text{ mL} \rightarrow 1\text{g}$$

$$y\text{ (mL)} \rightarrow 250\text{g}$$

$$y\text{ (mL)} = 250 \times 0,001$$

Assim, podemos resumir o cálculo da dose de Cetamina em:

$$\text{Dose em mL} = \text{Peso(g)} \times 0,001$$

2. A administração intraperitoneal de xilazina é realizada no quadrante inferior direito do abdômen do roedor com uma agulha de 26G conectada a uma seringa de insulina. A dosagem do fármaco foi calculada segundo a descrição abaixo:

$$\text{Dose de Xilazina} = \frac{10\text{mg}}{\text{Kg}} = \frac{0,01\text{mg}}{\text{g}} \text{ (Tabela 1)}$$

ou seja, 0,01 mg de Cetamina para cada grama do animal

$$\text{A concentração de Xilazin Syntec é } 2\% = \frac{2\text{g}}{100\text{mL}} = \frac{20\text{mg}}{\text{mL}}$$

ou seja, 20 mg de Xilazina para cada mL do fármaco

Se há 20mg de Xilazina para cada 1 mL do fármaco, quantos mL do fármaco é preciso para administrar 0,01 mg de Cetamina?

$$20\text{mg} \rightarrow 1\text{mL}$$

$$0,01\text{mg} \rightarrow x\text{ mL}$$

$$x = 0,0005\text{mL}$$

Se para uma grama de animal utilizo 0,0005mL de fármaco, quantos mL do fármaco é preciso para administrar o anestésico em um animal de 250 g?

$$0,0005\text{ mL} \rightarrow 1\text{g}$$

$$y\text{ (mL)} \rightarrow 250\text{g}$$

$$y\text{ (mL)} = 250 \times 0,001$$

Assim, podemos resumir o cálculo da dose de Xilazina em:

$$\text{Dose em mL} = \text{Peso(g)} \times 0,0005$$

3. Devido ao excesso de pele, a administração subcutânea de cetoprofeno é realizada no dorso do animal com uma agulha de 26G conectada a uma seringa de insulina. A dosagem do fármaco foi calculada segundo a descrição abaixo:

$$\text{Dose de Cetoprofeno} = \frac{4\text{mg}}{\text{Kg}} = \frac{0,004\text{mg}}{\text{g}} \text{ (Tabela 1)}$$

ou seja, 0,004 mg de Cetoprofeno para cada grama do animal

$$\text{A concentração de Ketofen é } 1\% = \frac{1\text{g}}{100\text{mL}} = \frac{10\text{mg}}{\text{mL}}$$

ou seja, 10 mg de Cetoprofeno para cada mL do fármaco

Se há 10mg de Cetoprofeno para cada 1 mL do fármaco,

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	010/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

quantos mL do fármaco é preciso para administrar 0,004 mg de Cetoprofeno?

$$10\text{mg} \rightarrow 1\text{mL}$$

$$0,004\text{mg} \rightarrow x\text{ mL}$$

$$x = 0,0004\text{mL}$$

Se para uma grama de animal utilizo 0,0004mL de fármaco, quantos mL do fármaco é preciso para administrar o anestésico em um animal de 250 g?

$$0,0004\text{ mL} \rightarrow 1\text{g}$$

$$y\text{ (mL)} \rightarrow 250\text{g}$$

$$y\text{ (mL)} = 250 \times 0,0004$$

Assim, podemos resumir o cálculo da dose de Cetoprofeno em:

$$\text{Dose em mL} = \text{Peso(g)} \times 0,0004$$

4. A administração intramuscular de 0,2mL de pentabiótico veterinário é realizada no músculo posterior da coxa do animal com uma agulha de 26G conectada a uma seringa de insulina.

3.3. Tricotomia

1. Carregar o tricótomo com antecedência e retirar o pente acoplado ao aparelho.
2. Realizar uma tricotomia ampla desde a área posterior às orelhas até a região anterior aos olhos.
3. Após a tricotomia, realizar a hidratação corneal com dexpanthenol.
4. Utilizar a escova fornecida pelo fabricante e limpar o aparador após cada uso.
5. Aplicar o óleo no aparador após cada uso.

3.4. Acomodação do animal no estereotáxico

1. Fazer a assepsia do estereotáxico com álcool 70°GL.
2. Untar a ponta das barras auriculares do aparelho de estereotaxia com pomada de lidocaína (Figura 1).
3. Introduzir as barras auriculares no conduto auditivo externo do animal para impedir a mobilização da cabeça para os lados (MICHAILOWSKY et al., 2003) (Figura 2 e 5).
4. As barras auriculares possuem uma régua cuja graduação tem precisão de 100 µm, estas devem ser utilizadas para centralizar a cabeça do animal no aparelho estereotáxico. Para isso, as barras auriculares devem marcar a mesma graduação, indicando que a cabeça do animal está equidistante do suporte da barra auricular (Figura 3 – 4).
5. Após isso, girar e prender bem os parafusos fixadores da barra auricular.
6. Fixar a cabeça do animal com o clamp nasal (Figura 6 – 7).

Figura 1 – Acomodação do animal no estereotáxico



Fonte: Elaborado pelo autor

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	011/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

OBSERVAÇÃO: PONTO CRÍTICO – o erro de posicionamento das barras auriculares, o erro de centralização da cabeça do animal e a fixação incorreta do animal no Clamp nasal são os problemas mais comuns em estereotaxia e, por isso, essa fase exige do cirurgião atenção redobrada.

3.5. Montagem do micromotor odontológico

1. Retirar o micromotor Beltec LB 100 e suas peças da caixa. Este deve ser montado ao lado do estereotáxico a fim de assegurar o acesso fácil e rápido do cirurgião.
2. Conectar o cabo de energia da fonte bivolt ao micromotor.
3. Enroscar o cabo de acionamento à caneta.
4. Conectar o cabo do pedal de acionamento ao micromotor. O pedal de acionamento deve ficar posicionado abaixo da mesa de cirurgia e próximo ao pé do cirurgião.
5. Girar o anel de regulagem no sentido anti-horário e introduzir a broca de aço esférica (1016 FG ou 1012 FG), já inserida no mandril PM adaptado para FG, até que esta encontre o limitador interno. Após isso, girar o anel de regulagem no sentido horário para fixar a broca.
6. Colocar a caneta no suporte e ligar a fonte controladora à energia.

OBSERVAÇÃO: Entre as cirurgias, deve-se fazer a desinfecção do micromotor e da caneta com álcool 70°GL. As brocas devem passar por um processo de esterilização como descrito no item 4, antes de serem reutilizadas.

3.6. Assepsia

1. Eliminar as luvas descartáveis que manipularam o animal.
2. Realizar a assepsia das mãos.
3. Calçar luvas descartáveis novas.
4. Fazer a assepsia, com álcool 70°GL, da superfície que servirá de suporte para o instrumental cirúrgico (campo estéril).
5. Abrir papel grau cirúrgico que contém o TNT 30x30cm esterilizado. A embalagem deve ser aberta pela aba, descolando totalmente a parte superior e em seguida as laterais. O TNT esterilizado deve cobrir a superfície correspondente ao campo estéril.
6. Abrir a embalagem externa da luva estéril pela aba descolando totalmente a parte superior e em seguida as laterais. Deve-se evitar tocar as partes internas da embalagem.
7. A embalagem interna é depositada no campo estéril com TNT.
8. Abrir a embalagem interna da luva segurando pelas abas centrais. Firme os dedos sobre as laterais internas da embalagem a fim de evitar que essas voltem a tocar na luva.

4. Cirurgia Estereotáxica (Tempo de Execução: 90 minutos)

4.1. Calçar luvas estéreis

1. Realizar a assepsia das mãos:
2. Paramentar-se com jaleco, avental, touca, máscara e óculos.
3. Calçar as luvas estéreis primeiramente pela mão dominante, segurando a luva pela parte externa da dobra. Deslize a mão para dentro da luva procurando alocar cada dedo no seu espaço correspondente dentro da luva. Pare quando a luva chegar ao punho, mantendo a dobra.

OBSERVAÇÃO: Se algum dedo ficar alocado incorretamente, não proceda a correção neste momento, pois corre-se o risco de contaminação da luva.

4. Calce a luva na mão não dominante. Com a mão enluvada segure a luva pela parte interna da dobra. Deslize a mão para dentro da luva procurando alocar cada dedo no seu espaço correspondente dentro da luva. Pare quando a dobra estiver desfeita.
5. Corrigir o posicionamento dos dedos da mão não dominante e, em seguida, os da mão dominante.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	012/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

6. Desfaça a dobra da luva da mão que está na mão dominante.

OBSERVAÇÃO: Cuidado para não encostar a parte estéril da luva no antebraço.

4.2. Assepsia e Anestesia local

1. Molhar a gaze estéril com iodo-polivinilpirrolidona e realizar, de maneira unidirecional, a desinfecção da área que sofreu tricotomia.
2. A administração subcutânea de 0,3mL de lidocaína com adrenalina é realizada na área de incisão com uma agulha de 26G conectada a uma seringa de insulina.
3. Aguardar 3 a 5 minutos.
4. Utilizar esse tempo para a montagem da mesa de instrumental.

4.3. Incisão

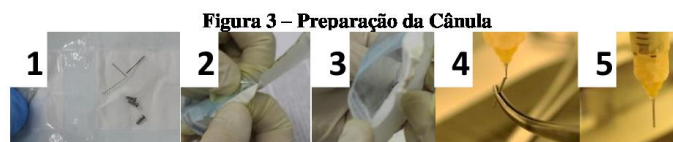
1. Utilizando o bisturi, realizar uma incisão na linha média da pele e partes moles subjacentes desde a parte anterior aos olhos até a área posterior às orelhas (Figura 1).
2. Grampear as bordas da ferida com 4 pinças hemostáticas de Halsted, cada uma deve estar disposta de maneira que tracione a pele e mantenha a ferida aberta (Figura 2).
3. Divulsionar as partes moles até o periósteeo por meio de um elevador periosteal.
4. Com swab estéril embebido em peróxido de hidrogênio, friccionar a calota craniana a fim de remover o tecido conjuntivo que fica aderido às suturas. Esse processo deve ser repetido até que as suturas fiquem bem evidentes (Figura 2).



Fonte: Elaborado pelo autor

4.4. Preparação da Cânula-guia

1. Abrir o quadrante do papel grau cirúrgico que contém a cânula-guia, os mandris e os parafusos. A embalagem deve ser aberta pela aba, descolando totalmente a parte superior e mantendo as laterais da embalagem intacta, permitindo que os materiais sejam “pescados” (Figura 1 – 3).
2. Pescar a cânula com o auxílio de uma pinça de Cushing sem dentes (Figura 3 – 4).
3. Colocar a cânula-guia no holder da torre do estereotáxico (Figura 5).
4. Verificar pela segunda vez a verticalidade da cânula.



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: PONTO CRÍTICO – a não verticalidade da cânula é um dos erros mais comuns em canulação crônica guiado por estereotaxia e essa etapa exige bastante atenção do cirurgião.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	013/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

4.5. Determinação da coordenada médio-lateral (ML)

1. Girando o rolamento dos micromanipuladores dos eixos x (ML), y (DV) e z (AP), posicionar a ponta da cânula sobre o bregma (Ponto de Referência), a fim de aferir sua coordenada ML (Figura 1 – 2).
2. Após aferir a coordenada de bregma, gira-se o rolamento do micromanipulador do eixo y de maneira que a cânula fique posicionada 2 mm acima do crânio.
3. Girando o rolamento do micromanipulador do eixo z, percorre-se a sutura sagital em direção ao lambda com a ponta da cânula, verificando se a coordenada aferida coincide com a trajetória da sutura.
4. Girando o rolamento dos micromanipuladores dos eixos x, y e z, posicionar a ponta da cânula sobre o lambda virtual, a fim de aferir sua coordenada ML e verificar a similaridade com o ML de bregma (Figura 2 – 3).
5. Anotar a coordenada ML na “Planilha de Coordenadas Cirúrgicas”.

Figura 4 – Coordenada Médio Lateral



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: Caso a trajetória da sutura sagital ou a coordenada de lambda não coincida com a coordenada aferida em bregma, deve-se realizar uma média aritmética entre a coordenada ML de bregma e a coordenada ML de lambda, a fim de estabelecer a coordenada médio-lateral mais precisa possível.

OBSERVAÇÃO: O lambda virtual está posicionado no vértice de uma parábola invertida (concaidade voltada para baixo) traçada visualmente e cuja a trajetória perpassa a sutura lambdaoide. Geralmente está posicionada entre 0,25 mm e 1 mm atrás do lambda.

OBSERVAÇÃO: PONTO CRÍTICO – a leitura incorreta do vernier configura um erro muito comum em estereotaxia e exige do cirurgião atenção redobrada a fim de registrar a coordenada exata.

OBSERVAÇÃO: MÉTODO DE REGISTRO DAS OBSERVAÇÕES E RESULTADOS - o link que contém a “Planilha de Coordenadas Cirúrgicas” está disponível neste documento no título “DOCUMENTOS CORRELATOS”.

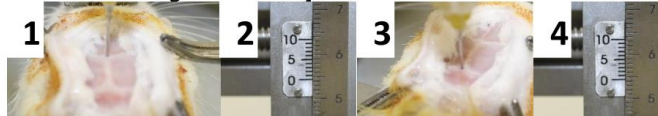
4.6. Validação da flat skull position (FSP) e determinação da coordenada dorso-ventral (DV) de bregma

1. Configurar o micromanipulador do eixo x na coordenada ML encontrada anteriormente.
2. Girar o rolamento do micromanipulador do eixo z até posicionar a ponta da cânula alinhada ao bregma.
3. Girar o rolamento do micromanipulador do eixo y até que a ponta da cânula encoste suavemente no crânio. Anotar a coordenada dorso-ventral de bregma na Planilha de Coordenadas Cirúrgicas (Figura 1 - 2).
4. Girar o rolamento do micromanipulador do eixo y até que a ponta da cânula esteja a mais ou menos 2 mm do crânio.
5. Girar o rolamento do micromanipulador do eixo z até posicionar a ponta da cânula alinhada ao lambda real.
6. Girar o rolamento do micromanipulador do eixo y até que a ponta da cânula encoste suavemente no crânio. Anotar a coordenada dorso-ventral de lambda na Planilha de Coordenadas Cirúrgicas e verificar a similaridade com a coordenada dorso-ventral de bregma (Figura 3 – 4).

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	014/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

Figura 5 – Validação da Flat Skull Position



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: a flat skull position é a posição em que as coordenadas dorso-ventrais de bregma e lambda são iguais, com tolerância de 0,1 mm de diferença.

OBSERVAÇÃO: Caso as coordenadas dorso-ventrais de lambda e bregma sejam diferentes, deve-se ajustar a altura do clamp nasal, até que as coordenadas se tornem iguais. A altura do clamp nasal na qual foi validada a FSP deve ser anotada na Planilha de Coordenada Cirúrgicas.

OBSERVAÇÃO: PONTO CRÍTICO – a não validação da flat skull position configura um erro muito comum em estereotaxia e exige do cirurgião atenção redobrada e paciência, até que a validação seja efetuada.

OBSERVAÇÃO: MÉTODO DE REGISTRO DAS OBSERVAÇÕES E RESULTADOS – o link que contem a “Planilha de Coordenadas Cirúrgicas” está disponível neste documento no título “DOCUMENTOS CORRELATOS”.

4.7. Determinação da coordenada ântero-posterior (AP) de bregma

1. Configurar o micromanipulador do eixo x na coordenada ML encontrada e o micromanipulador do eixo y de maneira que este não toque o crânio (cerca de 2 mm acima do crânio).
2. Girar o rolamento do micromanipulador do eixo z até posicionar perfeitamente a ponta da cânula alinhada ao bregma. Após isso, anotar a coordenada ântero-posterior (AP) de bregma na Planilha de Coordenadas Cirúrgicas.

Figura 6 – Coordenada ântero-posterior (AP)



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: MÉTODO DE REGISTRO DAS OBSERVAÇÕES E RESULTADOS - Após verificar a verticalidade do implante, validar a FSP e de posse das coordenadas ML, DV e AP de bregma, realizou-se os cálculos das coordenadas do alvo intracerebral.

OBSERVAÇÃO: PONTO CRÍTICO – a leitura incorreta do vernier e erros nos cálculos das coordenadas do alvo intracerebral configuram erros muito comuns em estereotaxia, exigindo do cirurgião e do auxiliar uma atenção redobrada a fim de registrar as coordenadas exatas e calcular as coordenadas corretas.

4.8. Identificação do alvo intracerebral

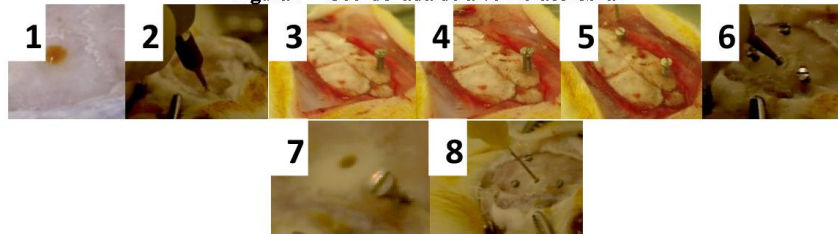
1. Com a cânula à 2 mm acima do crânio, girar o rolamento dos micromanipuladores dos eixos x e z até atingir as coordenadas do ponto de trepanação, ou seja, até atingir as coordenadas x e z do alvo intracerebral.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	015/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

2. Umedecer a extremidade da cânula guia com uma gotícula de clorexidina 4% OU iodopolivipirrolidona.
3. Girar o rolamento do micromanipulador do eixo y até que este toque suavemente a calota craniana, de maneira que, a gotícula que ali se deposita, sinalize o local da perfuração (Figura 1).
4. Logo em seguida, a marcação do ponto é finalizada com uma pequena escavação da calota craniana realizada pela fricção giratória da ponta de uma agulha 40 X 1,2 mm.
5. Perfurar o local demarcado com o auxílio de uma broca de aço esférica 1016 FG acoplada a um micromotor odontológico tipo peça de mão (PM) (Figura 2).
6. Substituir a broca 1016 FG por uma 1012 FG.
7. Fazer 3 perfurações adicionais cerca de 1,5 mm distantes da primeira perfuração. Estas devem ser feitas de modo a circunscrever a primeira em um triângulo. Geralmente duas frontais bilaterais e uma parietal ipsilateral e posterior à primeira trepanação (Figura 2 - 5).
8. Rosquear três parafusos rosca lenta de 0,9 mm de diâmetro nas três últimas trepanações (Figura 3 - 5).
9. Baixar o micromanipulador de eixo y, posicionado acima da primeira perfuração, até um valor idêntico a coordenada DV do Bregma (Figura 8).
10. Após isso, baixar o micromanipulador do eixo y até atingir a coordenada DV do alvo intracerebral.

Figura 7 – Coordenada do alvo intracerebral



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: MÉTODO DE REGISTRO DAS OBSERVAÇÕES E RESULTADOS - os cálculos das coordenadas do alvo intracerebral devem ser realizados somando ou diminuindo valores fixos das coordenadas AP, ML e DV de bregma. Esses valores fixos podem ser calculados como descrito no Procedimento Operacional (PO) intitulado "Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais". O link desse PO está disponível neste documento no título "DOCUMENTOS CORRELATOS".

OBSERVAÇÃO: PONTO CRÍTICO – a leitura incorreta do vernier configura um erro muito comum em estereotaxia e exige do cirurgião atenção redobrada a fim de registrar a coordenada exata.

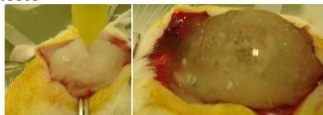
4.9. Montagem do capacete protetor

1. Rever as CONDIÇÕES AMBIENTAIS REQUERIDAS para a produção de resina. Deve-se utilizar apenas luvas descartáveis do tipo nitrílicas.
2. Com a colher da espátula, acrescentar duas colheres do pó de polimetilmetacrilato ao Dappen.
3. Com a pipeta pasteur, acrescentar por volta de 2 mL do líquido de metilmetacrilato ao Dappen.
4. Homogeneizar cuidadosamente com a espátula evitando a formação de bolhas até que os dois se misturem sem que haja excesso de pó ou líquido.
5. Entregar o Dappen e a espátula para o cirurgião a fim de que este deposite a resina sobre a calota craniana e em volta dos parafusos e da cânula, formando um capacete protetor.
6. Depois que o capacete estiver rígido, regá-lo com salina 0,9% em temperatura ambiente durante a polimerização da resina, pois esta é uma reação altamente exotérmica.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	016/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

Figura 8 – Confecção do Capacete



Fonte: Elaborado pelo autor

OBSERVAÇÃO: realizar a limpeza do Dappen e da espátula removendo todo material polimerizado.

4.10. Finalização

1. Remover o holder da cânula guia, obliterar a cânula guia com o mandril e selar o conjunto com cola de poliestireno.
2. Aproximar as bordas da ferida operatória com fio de Nylon 4-0 com agulha de secção triangular (própria para pele).
3. Administrar 5mL de solução de Ringer lactato subcutâneo no dorso do animal com uma agulha de 26G conectada a uma seringa de 5mL.
4. Durante a recuperação na gaiola reserva, aquecer o animal sob lâmpada incandescente até que este acorde. O animal deve estar suprido de água e ração ad libitum.

OBSERVAÇÃO: O instrumental cirúrgico foi mantido em um béquer de vidro contendo clorexidina a 4 %.

OBSERVAÇÃO: O critério para aprovação do experimento se dá por meio de corte histológico da área alvo, análise comportamental e testes neuroquímicos.

4.11. Descalçar as luvas estéreis

1. Retirar a luva da mão dominante. Segure a parte da luva de forma a não encostar no antebraço e puxe totalmente a luva.
2. Descalce a luva da mão não dominante. A mão dominante entra por dentro da luva da mão não dominante e puxa até encobrir parte da luva que está segurando.
3. Desprezar material no lixo infectante.

5. Pós-operatório

5.1. Limpeza e esterilização do instrumental cirúrgico e brocas de aço esférica

1. Utilizar escovas para lavagem com cerdas em crina para a limpeza de cremalheiras e serrilhas.
2. Colocar os instrumentos articulados em posição aberta.
3. Lavar os instrumentos somente com detergente enzimático neutro (pH 7). Soluções com pH diferente podem causar manchas e corrosão.
4. Deve-se limpar atentamente o encaixe dos instrumentos, pois são nesses locais que se acumulam as principais sujidades.
5. Para o enxague final, utilizar água destilada.
6. Secar completamente os instrumentos.
7. Colocar o instrumental sobre a bandeja metálica de inox, cobrindo as pontas dos instrumentos de corte com gazes e deixando suas junções semiabertas. Embalar em papel alumínio.
8. Esterilizar o material, incluindo as brocas, por calor seco em estufa em 1 hora a 170°C.

OBSERVAÇÃO: Enquanto um set de material cirúrgico é utilizado, o outro passa pelo processo de limpeza e esterilização.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	017/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		

OBSERVAÇÃO: Os instrumentos devem ser lavados o mais breve possível após a sua utilização.

OBSERVAÇÃO: Utilizar um indicador químico de estufa para verificar a efetividade do processo de esterilização.

5.2. Transportar os animais para o biotério em um carrinho apropriado para o traslado. Aproveitar esse momento para devolver a gaiola suja ao técnico responsável.

5.3. O animal operado é reavaliado nos primeiros 2 dias pós-operatório e, a partir de então, recebe os cuidados de rotina até o procedimento pós-operatório.

----- Fim do Processo -----

V. PALAVRAS DE BUSCA

Cirurgia Estereotáxica; Intracerebral; Procedimento; Wistar.

VI. DOCUMENTOS CORRELATOS



Planilha de Controle de Peso está disponível em:
https://docs.google.com/spreadsheets/d/1KC4ibX6xYLMeB_jz07mEkOOJjpHe-mSS0IqFEVEp7yg/edit?usp=sharing



Planilha de Coordenadas Cirúrgicas está disponível em:
<https://www.dropbox.com/s/dgay0mmqz1bmsf2/Ap%C3%AAndice%20F%20Planilha%20de%20Coordenadas%20Cir%C3%BArgicas.pdf?dl=0>



Planilha de Controle em Estereotaxia está disponível em:
<https://www.dropbox.com/s/rqbaxarkmp38sps/Ap%C3%AAndice%20E%20Planilha%20de%20Controle%20em%20Estereotaxia.pdf?dl=0>

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

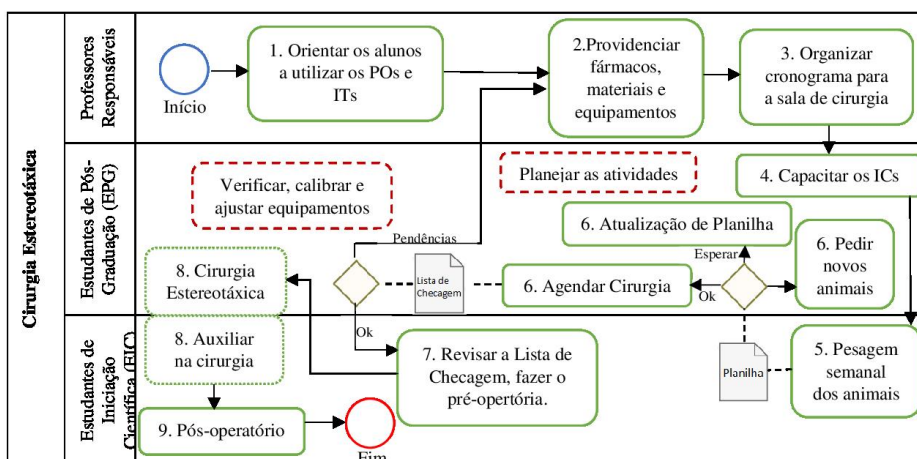
Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Cirurgia Estereotáxica	01	018/18
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.02/01		



Procedimento Operacional “Fluxo de Atividades e o Cuidado com Animais” disponível em: <https://www.dropbox.com/s/vd6y89dv51v1e3d/Ar%C3%AAndice%20A%20Fluxo%20de%20Atividades%20para%20Canula%C3%A7%C3%A3o%20Cr%C3%B4nica%20Intracerebral.pdf?dl=0>

OBSERVAÇÃO: Utilize o leitor QRcode (câmera) de seu Smartphone ou Tablet e acesse o conteúdo acima.

VII. FLUXOGRAMA



Fonte: Modificado de Peixoto et al., 2015

VIII. CONTROLE DE REVISÃO

Revisão	Data	Histórico das Revisões	Itens Revisados	Revisado por
00	06/12/17	Elaboração do Documento	Todos	Thiago Guedes

Fonte: Modificado de Peixoto et al., 2015

	Data	Nome	Graduação/Título
Aprovado por	06/12/17	David Freitas de Lucena	Medicina/Doutor
Revisado	06/12/17	Ítalo Rosal Lustosa	Medicina/Mestre
Revisado	06/12/17	Gabriela Mariangela F. de Oliveira	Medicina Veterinária
Elaborado	06/12/17	Francisco Thiago Guedes Holanda	Farmácia

Fonte: Modificado de Silva e Peixoto, 2014

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

APÊNDICE D – MANEJO INTRACEREBRAL DE SUBSTÂNCIAS



 Universidade Federal do Ceará Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos		Instrumento de Padronização de Processo	
		POP – Procedimento Operacional Padrão	
Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)		Versão	Páginas
Título: Manejo Intracerebral de Substâncias		01	01/08
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.03/01			

Glossário de Termos e Siglas

ACSF (artificial cerebrospinal fluid) – Fluido Cerebrospinal Artificial.

Cânula-guia (implante) – É o implante introduzido cronicamente no animal e que serve de canal entre o meio externo e a região alvo localizada no meio intracerebral.

Cânula Sonda – Cânula que é introduzida na cânula-guia com o fim de coletar líquido ou administrar substâncias.

DPO – Dia(s) Pós Operatório(s).

Mandril – “Haste que se introduz em certas cânulas” (GEIGER, 2012). O mandril evita a contaminação e o entupimento da cânula-guia após a implantação crônica no animal até o momento da infusão ou coleta de substância na área intracerebral desejada.

PO: Procedimento Operacional.

I. OBJETIVO

Descrever o manejo, infusão ou coleta, de substâncias em qualquer área intracerebral de ratos Wistar.

II. DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

GEIGER, Paulo. **Dicionário contemporâneo da língua portuguesa**. Brasil: Lexikon Editorial, 2012. 1456 p.

KUO, A.; SMITH, M. T. Theoretical and practical applications of the intracerebroventricular route for CSF sampling and drug administration in CNS drug discovery research: A mini review. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 233, p. 166–171, 2014.

LUSTOSA, Ítalo Rosal. **AVALIAÇÃO DO MODELO DE STATUS EPILEPTICUS POR OUABAÍNA: DA ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR À ANÁLISE DE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E INDICADORES DE DANO CEREBRAL**. 2016. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016

MURPHY, N. P.; MAIDMENT, N. T. Orphanin FQ/Nociceptin Modulation of Mesolimbic Dopamine Transmission Determined by Microdialysis. **Journal of Neurochemistry**, v. 73, n. 1, p. 179–186, 18 jan. 2002.

III. RESPONSABILIDADES

Professores Responsáveis: Com a finalidade de implementar a utilização dos procedimentos, o orientador deve incentivar os alunos de graduação e pós-graduação a usar os POs e ITs. O professor também tem a responsabilidade de, em coordenação com os alunos, providenciar os materiais e equipamentos necessários para um manejo intracerebral bem-sucedido. Ainda tem a responsabilidade de organizar, em coordenação com outros laboratórios e professores, um cronograma de uso da sala de experimentação, com o intuito de evitar choque de horário entre os pesquisadores.

Estudantes de Pós-Graduação: Estes são responsáveis por verificar o funcionamento adequado dos equipamentos e, quando necessário, providenciar a calibração e o ajuste do equipamento antes de utilizá-lo. Estes também são responsáveis por dominar o manejo intracerebral de substâncias e capacitar os estudantes de iniciação científica na preparação e suporte do experimento. Deve produzir

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manejo Intracerebral de Substâncias	01	02/08
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.03/01		

antecipadamente a substância neurotóxica, montar o sistema de infusão ou coleta, realizar a infusão ou coleta intracerebral da substância e registrar o comportamento com o auxílio de um estudante de iniciação devidamente treinado. Devem elaborar um cronograma levando em consideração o DPO ideal para o experimento e respeitando a disponibilidade e carga-horária dos estudantes de iniciação.

Estudantes de Iniciação Científica: Estes devem conferir, por meio da Lista de Checagem, se os materiais e equipamentos estão disponíveis na sala de experimentação. São responsáveis pela produção antecipada do ACSF, transporte, pesagem e manuseio dos animais, além de auxiliar e acompanhar o estudante de pós-graduação.

IV. PROCEDIMENTOS

- Lista de Checagem** – materiais necessários para a realização bem-sucedida do manejo intracerebral de substâncias:

Tabela 1 – Lista de Materiais utilizados no Manejo Intracerebral de Substâncias

Material	Especificações	Fabricante	Localização ou Portador (●)	Estado (●)
<input checked="" type="checkbox"/> Agulha gengival	30 Gauge curta	Misawa Medical Industry Co Ltd, Kasama, Japão	() EIC () EPG	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Agulhas hipodérmicas	0,55 X 20 mm (24 Gauge X ¾ polegada)	Becton Dickinson, Curitiba, Brasil	() EIC () EPG	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Agulha – seringa de Hamilton	Point Style n° 3		() EIC () EPG	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Balança Digital, Precisão Eletrônica 0,001 a 500g	M503i	BEL Engineering, Piracicaba, São Paulo, Brasil	() SC () EIC () EPG () Biotério () Orientador	() Danificado () Calibrar () Reparo () Qualificado
<input type="checkbox"/> Balança Digital, Precisão Eletrônica 1g a 10kg	Modelo SF-400	ALG	() SC () EIC () EPG () Biotério () Orientador	() Danificado () Calibrar () Reparo () Qualificado
<input type="checkbox"/> Béquer de Vidro Graduado			() EIC () EPG () Laboratório	Não se aplica
<input type="checkbox"/> Campo aberto de acrílico transparente			() EIC () EPG () Biotério () Laboratório	() Danificado () Reparo () Qualificado () Manutenção
<input type="checkbox"/> Cânula-Sonda		Fabricação Própria	() EIC () EPG	() Suficiente () Insuficiente
<input type="checkbox"/> Carrinho de aço inox			() Biotério	() Danificado () Reparo () Qualificado () Manutenção
<input type="checkbox"/> Corante Azul de Evans			() EIC () EPG	() Suficiente () Insuficiente
Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda		Aprovado por David Freitas de Lucena		Data 06/12/2017

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manejo Intracerebral de Substâncias	01	03/08
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.03/01		

<input type="checkbox"/>	Cronômetro Digital	SW-2018	Cronobio	<input type="checkbox"/> Laboratório <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Reparo <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/>	Frasco de Vidro Âmbar Cilíndrico	1 Litro; com tampa e batoque; 22,5 x 9 cm		<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	Não se aplica
<input type="checkbox"/>	2 Frascos tipo Penicilina com tampa de borracha	10 mL		<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	Não se aplica
<input type="checkbox"/>	Freezer vertical	142 Litros	Brastemp Brasil	<input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	Não se aplica
<input type="checkbox"/>	Gaiola reserva (Microisolador)			<input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	Não se aplica
<input type="checkbox"/>	Luva cirúrgica descartável		Embramac, Itapira, Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="checkbox"/>	Microcomputador		Acer Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Qualificado <input type="checkbox"/> Manutenção
<input type="checkbox"/>	Micro Tubos tipo Eppendorf	1,5 mL	Eppendorf, Alto da Lapa, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="checkbox"/>	PHMETRO de bancada	PHS3BW	BEL Engineering, Piracicaba, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Reparo <input type="checkbox"/> Qualificado <input type="checkbox"/> Manutenção
<input type="checkbox"/>	Pinça Aço Inox de Ponta Fina	HK-15	Hikari, Planalto Paulista, São Paulo Brasil	<input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Orientador <input type="checkbox"/> Laboratório	Não se aplica
<input type="checkbox"/>	Pincel marcador permanente	Vermelho	Pilot, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Desgastado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/>	Pipeta Volumétrica			<input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Desgastado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/>	Pote retangular para sorvete	1,8 litros	Emplal Embalagens Plásticas LTDA, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="checkbox"/>	Régua graduada em centímetros	30 cm		<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	Não se aplica
<input type="checkbox"/>	Seringa de Hamilton de 10 µL	Modelo Gastight 1801 RN	Nevada USA	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG	<input type="checkbox"/> Danificado <input type="checkbox"/> Qualificado

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manejo Intracerebral de Substâncias	01	04/08
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.03/01		

			<input type="checkbox"/> Orientador	
			<input type="checkbox"/> Laboratório	
<input type="radio"/> Seringas de 5 mL		Descarpack, São Paulo, Brasil	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente
<input type="radio"/> Tubo PE-10	0,26 mm de diâmetro interno e 80 cm de comprimento	Becton Dickinson	<input type="checkbox"/> EIC <input type="checkbox"/> EPG <input type="checkbox"/> Laboratório	<input type="checkbox"/> Suficiente <input type="checkbox"/> Insuficiente <input type="checkbox"/> Desgastado <input type="checkbox"/> Qualificado
<input type="radio"/> Webcam			<input type="checkbox"/> Biotério <input type="checkbox"/> Laboratório	Não se aplica

Fonte: Modificado de Lustosa, 2016

Os manuais dos materiais e equipamentos estão armazenados na Pasta de Instruções dos Fabricantes localizada no laboratório ou grafadas na própria embalagem do material ou equipamento

Estudante de Iniciação Científica (EIC); Estudante de Pós-graduação (EPG); Sala de Cirurgia (SC)

A presença do material foi verificada e este atende às especificações

___/___/___ dia da última verificação

OBSERVAÇÃO: O fabricante pode ser modificado desde que obedeça às especificações propostas, excetuando-se as referências diretamente associadas ao fabricante.

2. CONDIÇÕES AMBIENTAIS REQUERIDAS PARA O MANEJO

A sala de experimentação deve ser climatizada e silenciosa, a fim de oferecer conforto aos pesquisadores e evitar o estresse dos animais.

3. Produção de ACSF

1. O ACSF deve ser produzido segundo as especificações da tabela 2.

Tabela 2 – Composição Química do Fluido Cerebrospinal Artificial (ACSF – artificial cerebrospinal fluid)

Eletrólito	NaCl	KCl	NaH ₂ PO ₄	Na ₂ HPO ₄	CaCl ₂	MgCl ₂	pH
Concentração (mM)	125	2,5	0,9	5,0	1,2	1,0	~7,4
Concentração (g/L)	7,305	0,186	0,107	0,714	0,133	0,095	

Fonte: Modificado de Murphy, Maidment, 2002

2. Os sais devem ser dissolvidos em água destilada.

3. Faz-se a medição do pH. Este deve girar em torno de 7,4, segundo descrito na tabela 2.

4. O ACSF produzido deve ser acondicionado em um frasco de vidro âmbar cilíndrico de 1 litro sob ar refrigerado.

OBSERVAÇÃO: No momento da administração, o ACSF contido no frasco de 1 Litro dev ser transferido para um eppendorf.

4. Produção da Substância Neurotóxica

1. Diluir em um béquer a neurotoxina no ACSF segundo a concentração recomendada para a indução do modelo neuronal.

2. Acondicionar a preparação em micro tubo tipo eppendorf sob ar refrigerado e protegido com papel alumínio, caso a substância seja fotossensível.

OBSERVAÇÃO: Para a produção da substância neurotóxica, faz-se necessário o uso de balança analítica de precisão e pipeta volumétrica.

5. Montagem do Sistema de Infusão ou Coleta de substâncias

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manejo Intracerebral de Substâncias	01	05/08
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.03/01		

1. Com o auxílio de uma régua e pincel permanente, fazer graduações de 1/1 cm em um tubo PE-10 de 80 cm de comprimento.
2. Encher um frasco tipo Penicilina com corante azul de Evans.
3. Em outro frasco tipo Penicilina vazio e fechado com tampa de borracha, inserir agulha gengival de 30 Gauge até traspasar a tampa de borracha.
4. Mergulhar a ponta do tubo PE-10 no frasco tipo Penicilina aberto e contendo o corante.
5. Conectar a outra ponta do tubo PE-10 na agulha gengival.
6. Inserir uma agulha hipodérmica de 24 Gauge, conectada a uma seringa de 5 mL, até traspasar a tampa de borracha do frasco vazio.
7. Puxar o êmbolo da seringa a fim de causar uma pressão negativa dentro do tubo tipo penicilina, preenchendo assim o tubo PE-10 com corante azul de Evans.

OBSERVAÇÃO: Tomar cuidado de drenar todas as bolhas do sistema ao fim do processo.

8. Retirar a agulha hipodérmica da borracha do tubo tipo Penicilina, esvaziar a seringa de 5 mL e traspasar novamente a borracha com a agulha.
9. Retirar a extremidade do tubo PE-10 mergulhada no corante. Puxar um pouco o êmbolo da seringa de 5 mL, causando uma pressão negativa dentro do tubo tipo penicilina, permitindo a aspiração de uma bolha de ar de 1 a 2 cm pelo tubo PE-10.
10. Acoplar a extremidade livre do tubo PE-10 à cânula-sonda.
11. Mergulhar a cânula-sonda no eppendorf contendo a solução a ser injetada. Puxar o êmbolo da seringa de 5 mL completamente, causando uma pressão negativa dentro do tubo tipo penicilina, aspirando até preencher 20 cm do tubo PE-10 com a solução a ser injetada, conforme a graduação anteriormente feita.
12. Com o objetivo de diminuir o risco de perfuração e vazamento do tubo PE-10 e com o auxílio de uma lima fina, desgastar a ponta da agulha que está conectada à seringa de Hamilton.
13. Encher a seringa de Hamilton com corante azul de Evans, evitando, ao máximo, a formação de bolhas no interior da seringa.
14. Desconectar a ponta do tubo PE-10 da agulha gengival e conectá-la na agulha da seringa de Hamilton.

OBSERVAÇÃO: Neste ponto, ainda com a cânula-sonda dentro do eppendorf com solução a ser injetada, enchia-se e esvaziava-se a seringa de Hamilton, pelo menos duas vezes, a fim de detectar vazamentos. Caso haja vazamento, repetir a operação.

OBSERVAÇÃO: Os dois meios líquidos, corante azul de Evans e solução a ser injetada, permanecem o tempo todo separados por uma bolha de ar.

OBSERVAÇÃO: Esse sistema de infusão é feito para a administração de no máximo 10 µL de substância por animal. Caso seja necessário ser administrado um volume maior, deve-se substituir a seringa de Hamilton por um modelo de maior capacidade.

OBSERVAÇÃO: Antes de ser acoplada ao tubo PE-10, a cânula-sonda deve estar ainda lacrada dentro do papel grau cirúrgico. Após o rompimento do lacre, a cânula deve ser manipulada com luvas cirúrgicas descartáveis.

6. Infusão Intracerebral de Substâncias

1. A injeção intracerebral deve ser realizada entre o 5° e o 7° DPO.

OBSERVAÇÃO: Entre o 5° e o 7° DPO é o tempo necessário para a resolução da atividade inflamatória na escala glial, a qual atinge máxima atividade mitótica por volta do 4° DPO.

OBSERVAÇÃO: Intervalos maiores (>10° DPO) podem associar-se com deslocamento da cânula do alvo intracerebral, ainda que sem deslocamento do capacete (KUO, SMITH, 2014).

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manejo Intracerebral de Substâncias	01	06/08
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.03/01		

2. Alocar os animais em dois grupos: **controle**, os quais sofrem infusão no alvo intracerebral de x μL de ACSF; **teste**, os quais sofrem infusão no alvo intracerebral da neurotoxina dissolvida nos mesmos x μL de ACSF.

OBSERVAÇÃO: As concentrações das neurotoxinas e o volume de ACSF utilizados em modelos experimentais específicos podem ser encontradas em trabalhos científicos diversos. Baseado em sua própria experiência, Kuo e seus colaboradores injetam um volume de até 15 μL em regiões intracerebrais que correspondem a cavidades como o ventrículo lateral (KUO, SMITH, 2014). Outros trabalhos descrevem um volume de injeção de 1 a 2 μL em regiões intracerebrais parenquimatosas.

3. Realizar o transporte dos animais para uma antessala correspondente à sala de experimentação, oferecendo um tempo hábil para a ambientação. O transporte deve ser realizado na gaiola na qual os animais já estão habituados a conviver e com o auxílio de um carro apropriado.

4. Ainda na antessala e com o auxílio da balança digital e do pote retangular, realizar a pesagem dos animais. Deve-se realçar, se necessário, a marcação feita no pré-operatório, a fim de manter a rastreabilidade e controle dos animais. O peso e a numeração da calda devem ser anotados na “Planilha de Controle em Estereotaxia” e na “Planilha de Comportamento”.

5. Realizar o transporte para a sala de experimentação em uma caixa que simule o mesmo habitat da gaiola.

6. Ainda dentro da caixa, realizar a imobilização manual do animal com apenas umas das mãos. Com a outra, manipular uma pinça de ponta fina a fim de remover primeiramente o laque de cola de poliestireno e, em seguida, o mandril.

7. Introduzir na cânula-guia presa ao capacete do animal a cânula-sonda que permitirá a infusão direcionada da substância no alvo intracerebral desejado, cuidando para que a sonda seja introduzida completamente.

8. O animal é colocado no centro de um campo aberto de acrílico transparente.

9. Aguarda-se no mínimo 5 minutos para a ambientação do animal.

10. Após isto, pressionar o êmbolo da seringa de Hamilton a fim de realizar, no intervalo de 1 minuto, a administração seriada dos x μL da substância.

OBSERVAÇÃO: Após a administração, não se deve retirar imediatamente a cânula-sonda, mas aguardar por cerca de 1 minuto até que a área alvo intracerebral acomode o injetado, evitando assim o refluxo.

OBSERVAÇÃO: MÉTODO DE REGISTRO DAS OBSERVAÇÕES E RESULTADOS - o link que contem a “Planilha de Comportamento” está disponível neste documento no título “DOCUMENTOS CORRELATOS”.

OBSERVAÇÃO: MÉTODO DE REGISTRO DAS OBSERVAÇÕES E RESULTADOS - o link que contem a “Planilha de Controle em Estereotaxia” está disponível neste documento no título “DOCUMENTOS CORRELATOS”.

OBSERVAÇÃO: Em cada rodada de infusão, pode-se induzir dois animais ao mesmo tempo. Para isso, é necessário a aquisição de mais uma seringa de Hamilton e um tubo PE-10 nas mesmas condições.

7. Registro de Comportamento (Tempo de Execução: 60 minutos)

1. Com o auxílio de uma Webcam conectada a um computador, gravar o comportamento dos animais do grupo controle (Tempo de Filmagem: 15 a 30 minutos para cada animal).

2. Com o auxílio de um cronômetro, registrar na “Planilha de Comportamento” o horário e a reação dos animais à injeção de ACSF.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manejo Intracerebral de Substâncias	01	07/08
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.03/01		

3. Com o auxílio de uma Webcam conectada a um computador, gravar o comportamento dos animais do grupo teste (Tempo de Filmagem: 1 hora para cada animal).

4. Com o auxílio de um cronômetro, registrar na "Planilha de Comportamento" o horário e a reação dos animais à injeção da Neurotoxina dissolvida em ACSF.

OBSERVAÇÃO: A gravação deve ter início logo que se inicie a infusão.

OBSERVAÇÃO: MÉTODO DE REGISTRO DAS OBSERVAÇÕES E RESULTADOS - o link que contém a "Planilha de Comportamento" está disponível neste documento no título "DOCUMENTOS CORRELATOS".

OBSERVAÇÃO: O critério para aprovação do experimento se dá por meio de corte histológico da área alvo, análise comportamental e testes neuroquímicos.

----- Fim do Processo -----

V. PALAVRAS DE BUSCA

Coleta; Infusão; Intracerebral; Substâncias; Wistar.

VI. DOCUMENTOS CORRELATOS



Planilha de Comportamento está disponível em:
<https://www.dropbox.com/s/kfqg0jsce6kxrva/Ap%C3%AAndice%20G%20Planilha%20de%20Comportamento.pdf?dl=0>



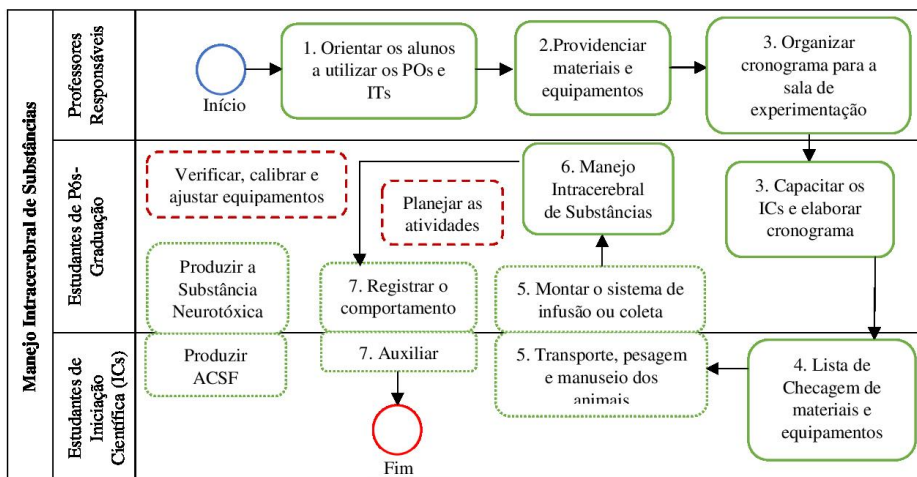
Planilha de Controle em Estereotaxia está disponível em:
<https://www.dropbox.com/s/rqbaxarkmp38sps/Ap%C3%AAndice%20E%20Planilha%20de%20Controle%20em%20Estereotaxia.pdf?dl=0>

OBSERVAÇÃO: Utilize o leitor QRcode (câmera) de seu Smartphone ou Tablet e acesse o conteúdo acima.

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

Unidade: Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNF)	Versão	Páginas
Título: Manejo Intracerebral de Substâncias	01	08/08
Identificação do Documento: PO.NPDM.LNF.03/01		

VII. FLUXOGRAMA



Fonte: Modificado de Peixoto et al., 2015

VIII. CONTROLE DE REVISÃO

Revisão	Data	Histórico das Revisões	Itens Revisados	Revisado por
00	06/12/17	Elaboração do Documento	Todos	Thiago Guedes

Fonte: Modificado de Peixoto et al., 2015

	Data	Nome	Graduação/Título
Aprovado por	06/12/17	David Freitas de Lucena	Medicina/Doutor
Revisado	06/12/17	Ítalo Rosal Lustosa	Medicina/Mestre
Revisado	06/12/17	Gabriela Mariangela F. de Oliveira	Medicina Veterinária
Elaborado	06/12/17	Francisco Thiago Guedes Holanda	Farmácia

Fonte: Modificado de Silva e Peixoto, 2014

Elaborado por Francisco Thiago Guedes Holanda	Aprovado por David Freitas de Lucena	Data 06/12/2017
---	--	---------------------------

APÊNDICE E – PLANILHA DE CONTROLE EM ESTEREOTAXIA



Planilha de Controle em Estereotaxia

N° da Gaiola ¹	N° do Animal	Peso _(g)	Dia da Cirurgia	Dose Cetamina (P _(g) X 0,0014)mL	Dose Xilazina (P _(g) X 0,0005)mL	Dose Cetoprofeno (Peso _(g) X 0,0004)mL	Experimento Pós-operatório	Peso _(g)	Cor/N° Eppendorf
		g	__/__/__	mL	mL	mL	__/__/__	g	
		g	__/__/__	mL	mL	mL	__/__/__	g	
		g	__/__/__	mL	mL	mL	__/__/__	g	
		g	__/__/__	mL	mL	mL	__/__/__	g	
OBSERVAÇÕES:									

N° da Gaiola ¹	N° do Animal	Peso _(g)	Dia da Cirurgia	Dose Cetamina (P _(g) X 0,0014)mL	Dose Xilazina (P _(g) X 0,0005)mL	Dose Cetoprofeno (Peso _(g) X 0,0004)mL	Experimento Pós-operatório	Peso _(g)	Cor/N° Eppendorf
		g	__/__/__	mL	mL	mL	__/__/__	g	
		g	__/__/__	mL	mL	mL	__/__/__	g	
		g	__/__/__	mL	mL	mL	__/__/__	g	
		g	__/__/__	mL	mL	mL	__/__/__	g	
OBSERVAÇÕES:									

APÊNDICE F – PLANILHA DE COORDENADAS CIRÚRGICAS



Planilha de Coordenadas Cirúrgicas

N° da Gaiola:	N° do Animal:	Dia: __/__/__	Cálculos:	Observação:
Peso _(g) :	Cirurgião:	Auxiliar:		
Coordenadas				
Mediolateral (ML):				
Dorsoventral final de Bregma (DV):				
Dorsoventral final de Lambda (DV):				
Altura do Clamp Nasal:				
Anteroposterior de Bregma (AP):				
Área Intracerebral:	AP -	=		
	ML -	=		
	DV -	=		

N° da Gaiola:	N° do Animal:	Dia: __/__/__	Cálculos:	Observação:
Peso _(g) :	Cirurgião:	Auxiliar:		
Coordenadas				
Mediolateral (ML):				
Dorsoventral final de Bregma (DV):				
Dorsoventral final de Lambda (DV):				
Altura do Clamp Nasal:				
Anteroposterior de Bregma (AP):				
Área Intracerebral:	AP -	=		
	ML -	=		
	DV -	=		

APÊNDICE J – ORÇAMENTO DAS CÂNULAS E MANDRIS

1. **Plastics One:**

- 1.1. Parafusos: R\$885,00 o cento. R\$885 dividido por 100 parafusos é igual a R\$8,85/parafuso. Contudo, utilizamos 3 parafusos por animal. Assim, 8,85 vezes 3 é igual a um gasto de R\$26,25 por animal.
- 1.2. Cântula de 24 Gauge: US\$5,74/animal. No dia 25 de agosto de 2017, quando orçamento foi enviado pela empresa, o dólar estava cotado em R\$3,154. Assim, o valor total de uma Cântula por animal é R\$18,10.
- 1.3. Mandril: US\$5,49/animal. Multiplicando esse valor pela cotação do dólar (3,154), encontramos o valor total de um mandril por animal em reais - R\$17,31.
- 1.4. Cântula de administração de 33 Gauge: US\$12,14/animal. Multiplicando esse valor pela cotação do dólar (3,154), encontramos o valor total de uma cântula de administração por animal em reais – R\$38,28.
- 1.5. Conector (tubo PE-10): US\$16,86/animal. Contudo, um tubo como este é utilizado em até 20 animais diferentes. Assim, 16,86 dividido por 20 é igual a US\$0,843. Multiplicando pela cotação do dólar, obtem-se um total em reais de R\$2,65.
- 1.6. Frete: US\$155,17. Se comprarmos material para 20 animais, pode-se dividir esse valor. Assim, US\$7,7 pode ser multiplicado pela cotação do dólar (3,154). O valor total do frete por animal equivale a R\$24,46.
- 1.7. O valor total do kit de peças para um animal em reais custa 127,05.

2. **Manufatura Própria:**

- 2.1. Parafusos: R\$12,00 o cento. R\$12,00 dividido por 100 parafusos é igual a R\$0,12. Assim, 0,12 vezes 3 parafusos equivale a um total de 0,36 centavos por animal.
- 2.2. Cântula de 24 Gauge: 100 cântulas equivale a R\$31,69. Assim, 31,69 dividido por 100 equivale a 0,31 centavos. Se conseguirmos fazer duas cântulas-guia com uma cântula de 24 Gauge, ainda podemos dividir esse valor por 2. Assim a Cântula-guia sairia pelo preço de R\$0,15.
- 2.3. Mandril (Fio ortodôntico de Ni-Cr): R\$12,00. Este fio é capaz de fazer por volta de 300 mandris. Assim, 12 dividido por 300 é igual R\$0,04.
- 2.4. Cântula de administração: R\$32,75 o cento. Esse valor dividido por 100 é igual a R\$0,32.
- 2.5. Agulha 40 x 12 (Gabarito): 100 unidades custa R\$18,38. Assim, uma unidade custa R\$0,18.
- 2.6. Disco de Corte: um recipiente com 10 discos de corte custa R\$12,8. Assim, cada disco de corte custa R\$1,28. Levando em consideração que um disco podem ser usados em torno de 50 vezes, pode-se dividir e obter um total de R\$0,02 por animal.
- 2.7. O valor total do kit de peças para um animal em reais custa R\$1,07.

