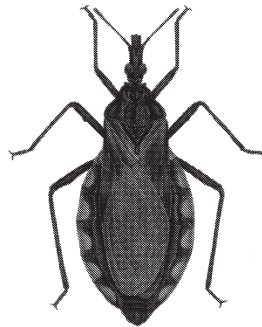
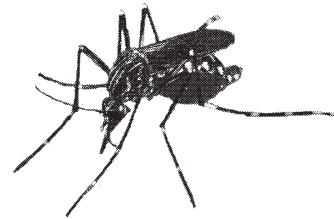


INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Parâmetros de Biossegurança para Insetários e Infectórios de Vetores





Ministro da Saúde
Humberto Costa



Presidente
Paulo Marchiori Buss

Vice-presidência de Ensino,
Informação e Comunicação
Maria do Carmo Leal

Vice-presidência de Pesquisa e
Desenvolvimento Tecnológico
Reinaldo Guimarães

Vice-presidência de Serviços
de Referência e Ambiente
Ary Carvalho de Miranda

Vice-presidência de Desenvolvimento
Institucional e Gestão do Trabalho
Paulo Gadelha



INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Diretor
Renato Sérgio Balão Cordeiro

Vice-diretor de Pesquisa
Jonas Enrique Perales Aguilar

Vice-diretor de Ensino
Marli Maria Lima

Vice-diretor de Serviços de Referência
Clara Fumiko Tachibana Yoshida

Av. Brasil, 4365 – Manguinhos
21.045-900 Rio de Janeiro, RJ, Brasil
www.fiocruz.br
www.ioc.fiocruz.br

Ministério da Saúde • Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Parâmetros de Biossegurança para Insetários e Infectórios de Vetores

**Aplicação e adaptação das normas gerais para
laboratórios definidas pela
Comissão Técnica de Biossegurança da Fiocruz**

Márcia Guedes Adegas
Cláudia Barroso-Krause
José Bento Pereira Lima
Denise Valle

Copyright © 2005 dos autores
Todos os direitos desta edição reservados a
Fundação Oswaldo Cruz/Instituto Oswaldo Cruz

Márcia Guedes Adegas – Arquiteta, Doutora,
Departamento de Entomologia, Laboratório de
Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores, em
convênio com o Instituto de Biologia do Exército.

Cláudia Barroso-Krause – Arquiteta, Doutora,
Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Faculdade de Arquitetura e Urbanismo, Programa
de Pós Graduação em Arquitetura.

José Bento Pereira Lima – Biólogo, Doutor,
Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz,
Laboratório de Fisiologia e Controle de
Artrópodes Vetores, em convênio com o Instituto
de Biologia do Exército.

Denise Valle – Bióloga, Doutora, Fundação Oswaldo
Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de
Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores, em
convênio com o Instituto de Biologia do Exército.

Projeto gráfico: Fernando Vasconcelos

P221 Parâmetros de biossegurança para insetários e infectórios de vetores:
aplicação e adaptação das normas gerais para laboratórios
definidas pela Comissão Técnica de Biossegurança da Fiocruz. /
Márcia Guedes Adegas...[et.al.]. – Rio de Janeiro: FIOCRUZ,
2005.

64 p.: il. color., tab., fot., graf. 28 cm.

1.BIOSSEGURANÇA. 2. INSETÁRIO. 3. INFECTÓRIO. 4.
INSETOS VETORES. I.Título. II. Adegas, Márcia Guedes. III. Fundação
Oswaldo Cruz.

CDD. 628.9657

Prefácio	7
Resumo	9
Introdução	11
1. VETORES EM ESTUDO – HÁBITOS E CICLO DE VIDA	15
1.1. Vetores de malária	15
1.2. Vetores de dengue	16
1.3. Vetores de Leishmanioses	17
1.4. Vetores de Doença de Chagas	18
2. ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE INSETÁRIOS	21
3. BIOSSEGURANÇA – CONCEITO	23
4. NÍVEIS DE RISCO E DE BIOSSEGURANÇA – CONCEITUAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO	25
5. INSETÁRIOS – CLASSIFICAÇÃO QUANTO AO NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA	29
6. APLICAÇÃO DAS NORMAS DE BIOSSEGURANÇA A INSETÁRIOS DE VETORES – RECOMENDAÇÕES (NB-2)	31
7. APLICAÇÃO DAS NORMAS DE BIOSSEGURANÇA PARA INFECTÓRIOS DE INSETOS VETORES (NB-2)	41
8. BIBLIOGRAFIA	51
ANEXO – FIGURAS	53

Prefácio

O crescente reconhecimento da necessidade de implantação dos parâmetros de Biossegurança nas atividades que envolvam o manejo de vetores de doenças de importância em saúde pública, e em consequência nos insetários onde são mantidos, gerou a demanda de um documento onde estes parâmetros fossem descritos com clareza e objetividade.

Esta publicação vem atender a esta demanda, descrevendo-se inicialmente os parâmetros dos ciclos de vida de insetos vetores importantes e, em seguida, as características gerais dos insetários e os conceitos básicos de Biossegurança a eles aplicáveis, dentro de seus respectivos níveis.

Como conclusão, apresenta-se uma adaptação para insetários das normas de Biossegurança, definidas pela Fiocruz em sua publicação “Procedimentos para a Manipulação de Microorganismos Patogênicos e/ou Recombinantes na Fiocruz”, editada pela Comissão Técnica de Biossegurança (CTBio).

A Biossegurança, como uma das bases para se alcançar a Qualidade Total, passou a ser indispensável não somente nas áreas de desenvolvimento tecnológico e produção, como também em atividades de pesquisa, as quais terão que introduzir obrigatoriamente normas de Biossegurança, como as descritas neste Manual, para que sejam aceitos seus resultados para publicação, exatamente como já ocorre quanto ao atendimento às normas dos Comitês de Ética.

Consideramos, portanto, que esta publicação servirá como marco pioneiro e importante para os profissionais que trabalham em insetários no nosso país, construindo-se sobre ela ao longo dos anos as revisões e adaptações que sejam necessárias, tendo em vista a multiplicidade dos vetores estudados e a constante evolução dos conhecimentos e técnicas aplicáveis à Biossegurança.

Hermann G. Schatzmayr

Presidente, Comissão Interna de Biossegurança
Instituto Oswaldo Cruz

Resumo

Atenção às normas de biossegurança para manipulação de animais de laboratório tem sido exigência crescente na legislação de diversos países. No Brasil, a CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança) trata destas questões em âmbito nacional. Algumas instituições comprometidas com a saúde no país, como a Fiocruz, têm se esforçado para adequar seus laboratórios às exigências legais.

Procuramos, neste trabalho, adequar as normas de biossegurança vigentes especificamente aos insetários onde são manipulados vetores de importância médico-sanitária, avaliando os requerimentos de colônias de mosquitos, flebotomíneos e barbeiros. Estes insetos, além de hematófagos, possuem uma fase alada, exigindo, portanto, cuidados diferenciados quando comparados a biotérios e infectórios convencionais.

A metodologia consistiu de avaliação da legislação pertinente em vigor e de aplicação das normas de biossegurança definidas pela Comissão Técnica de Biossegurança da Fiocruz, por meio de entrevistas com pesquisadores responsáveis por insetários de vetores, infectados ou não, de diversas instituições de pesquisa do Rio de Janeiro.

De acordo com a legislação vigente, todos os insetos avaliados – e os infectórios a eles associados – foram classificados com o nível de biossegurança 2 (NB-2). Cada item da norma geral de biossegurança, referente à área física, instalação, manipulação, equipamento e descarte de material foi avaliado, tendo recebido comentário relativo a sua aplicação para insetário e para infectório de insetos vetores. Alguns itens foram adicionados, em função de particularidades dos diferentes insetários em estudo.

Esperamos que este manual de recomendações específicas para insetários de vetores (infectados ou não), possa orientar grupos envolvidos com a pesquisa dos principais vetores de doenças tropicais, uma vez que os organismos aqui contemplados refletem também vários insetos-modelo em estudo no país.

Introdução

No Brasil, país de clima majoritariamente tropical e de geografia complexa, os insetos transmitem várias doenças que mais se caracterizam como problemas de Saúde Pública. Alguns exemplos são a malária e o dengue, transmitidos por mosquitos de diferentes espécies, as leishmanioses, veiculadas por insetos conhecidos como mosquitos-palha e a Doença de Chagas, cujos vetores são barbeiros (OMS, 1989). Em todos esses casos, um componente essencial ao combate às doenças (muitas endêmicas ou epidêmicas) é o controle dos insetos vetores.

Os inseticidas químicos, há décadas utilizados no controle de vetores, nem sempre têm sido a melhor estratégia, o que pode ser constatado através da observação da persistência do caráter endêmico de várias doenças no Brasil até hoje. Este é o caso da malária, das leishmanioses, do dengue e mesmo da ameaça de re-emergência de doenças como a febre amarela, já supostamente controlada.

A aquisição de resistência aos inseticidas convencionais e a falta de continuidade dos programas de controle são alguns fatores que contribuem para a manutenção de altos índices de infestação por vetores de várias endemias (Shaw e Lainson, 1987; Collins e Paskewitz, 1995; OMS, 1995; Rangel, 1995; Hemingway e Ranson, 2000). Não menos relevante é a falta de conhecimento básico sobre os insetos em questão, requisito importante para o desenho de estratégias ou para a definição de metodologias específicas. A precariedade de vários ambientes controlados existentes, que deveriam ser adequados à manutenção e ao estudo dos vetores específicos – os insetários – contribui significativamente para essas lacunas no conhecimento (Gerberg e cols., 1994; Beaty e Marquardt, 1996).

A manutenção de colônias de alguns vetores é dificultada em função de peculiaridades de seu comportamento ou de sua biologia de forma geral. Existem casos, porém, em que a não observância aos parâmetros ambientais físicos mais adequados a uma espécie é o fator determinante do fracasso da colonização em cativeiro. Não só as variáveis do clima, como também parâmetros tais como o material utilizado nas construções, a poluição sonora e do ambiente, alimentação e água influenciam o bem estar do animal. O desafio de se conseguir maximização de produção com a melhor relação custo / benefício requer que temperatura, umidade, iluminação e materiais estruturais, em espaços de confinamento, estejam de acordo com os padrões exigidos pelo ser vivo e também pelas normas de biossegurança.

Neste trabalho as normas de biossegurança atualmente vigentes para os laboratórios da Fiocruz (CTBio-Fiocruz, 1998) foram aplicadas a diferentes tipos de insetários, adequados à manutenção e experimentação com modelos infectados ou não. Foram contemplados os principais vetores de importância médico-sanitária manipulados na Instituição.

As particularidades, em termos de biossegurança, que ambientes destinados à criação de insetos requerem, foram confrontadas com a Lei nº 8.974 (Brasil, 1995), que cria a CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança), com as Instruções Normativas números 7/97, 12/98 e 15/98 (Brasil, 1997; 1998 a,b), relativas ao trabalho

de pesquisa e em contenção com organismos geneticamente modificados, já publicadas, com as normas sugeridas pela Fundação Nacional de Saúde (Funasa, 2001) e com as normas definidas pela Comissão Técnica de Biossegurança da Fiocruz para aplicação na Instituição (CTBio-Fiocruz, 1998). Adicionalmente, pesquisadores, da Fiocruz e de outras instituições de pesquisa do Rio de Janeiro, especialistas em diferentes insetos vetores usados como modelos experimentais, foram entrevistados. Como consequência, foi feita leitura crítica das normas de biossegurança, com vistas a adaptá-las à realidade da criação e da manipulação de insetos vetores.

A meta foi pontuar tópicos de biossegurança referentes à construção, ao fluxo de trabalho e à manutenção do espaço físico que irá atender aos diferentes insetários em estudo, levando-se em conta que o inseto é que irá ali ser mantido continuamente, enquanto o homem deverá permanecer apenas durante a realização de procedimentos necessários à manutenção da colônia ou à experimentação.

O conhecimento do ciclo de vida das espécies estudadas – e mantidas em cativeiro – é pré-requisito para o adequado planejamento da área a ser projetada. As peculiaridades do desenvolvimento e da reprodução dos insetos pressupõem instalações com características diferentes dos biotérios convencionais. Como consequência, faz-se necessária a adaptação das normas de biossegurança vigentes (gerais para laboratórios), de forma a atender à necessidade de minimizar os riscos envolvidos com a manipulação destes organismos e garantir a manutenção dos insetos em condições adequadas.

A idéia de elaborar este guia de procedimentos surgiu da experiência pessoal, de atuação permanente ao lado de profissionais voltados para a entomologia que atuam em espaços destinados à criação e manipulação de vetores. Este contato revelou a necessidade de sistematizar recomendações que pudessem conduzir a reforma ou a construção deste tipo de ambiente arquitetônico. Neste sentido, o atendimento às recomendações de biossegurança surgiu como pré-requisito. O presente trabalho pretendeu sistematizar as normas de biossegurança atualmente em vigor no país para laboratórios, aplicando-as especificamente para ambientes envolvidos com a pesquisa em insetos vetores.

A elaboração deste manual teve o apoio decisivo da Diretoria do Instituto Oswaldo Cruz, do Instituto Virtual da Dengue do Estado do Rio de Janeiro (Faperj), da Vice-presidência de Serviços de Referência e Ambiente e do Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz. Gostaríamos de agradecer o empenho e a paciência de vários pesquisadores, especialistas em diferentes vetores, que foram por nós entrevistados várias vezes, revendo cada item da norma geral de biossegurança, de forma a melhor adaptá-la aos insetários e infectórios de vetores. Além das discussões extremamente produtivas, com relação à biossegurança, devemos a estes profissionais muito da descrição dos hábitos de vida dos vetores e da rotina empregada em sua manipulação, detalhadas no capítulo 1. São eles: Dr. Cícero Brasileiro de Mello, da Universidade Federal Fluminense, Dr^a Gloria Regina Cardoso Braz, Dr. Hatisaburo Masuda e Dr. Marcos Henrique Ferreira Sorgine, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Dr. Cleber Galvão, Dr^a Elizabeth Ferreira Rangel, Dr^a Jacenir Reis dos Santos Mallet, Dr^a Nataly Araújo de Souza, Dr^a Tereza Cristina M. Gonçalves e Dr. Ricardo Lourenço de Oliveira, do Instituto Oswaldo Cruz / Fundação Oswaldo

Cruz. Gostaríamos de agradecer também aos Drs. Ricardo Lourenço de Oliveira, Marcos Henrique Ferreira Sorgine, Hermann Schatzmayr, Carlos Muller, Cíntia Borba e à Maria Eveline de Castro Pereira pelas discussões enriquecedoras na Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) do Instituto Oswaldo Cruz. Finalmente, não podemos deixar de mencionar todo o empenho pessoal da Dr^a Clara Yoshida, Dr. Ricardo Lourenço de Oliveira e Maria Eveline de Castro Pereira na fase final de preparação deste trabalho para publicação e também dos revisores do texto, Maria Cecília Malta Valle e Dr. Alexandre Afrânio Peixoto.

Por questões didáticas, este manual está dividido em sete capítulos. Os quatro capítulos iniciais objetivam fornecer subsídios para a definição das normas específicas para insetários, que estão apresentadas nos três últimos capítulos.

O primeiro capítulo contém uma breve descrição dos hábitos e ciclos de vida daqueles insetos vetores que são os principais objetos de estudo na Fiocruz e em outras instituições brasileiras. Grande parte da informação apresentada foi obtida através de questionário, aplicado a vários pesquisadores, para levantamento preliminar de dados relativos aos diferentes tipos de insetos a serem estudados. Nesta oportunidade foram constatadas necessidades distintas para cada insetário, em termos de espaço e conforto ambiental, de acordo com o tipo de inseto a ser mantido.

No segundo capítulo são feitas algumas considerações quanto às peculiaridades dos insetários, de forma geral. Procura-se também ressaltar as características, relevantes para a modelização de insetário (dados importantes para a concepção de um projeto arquitetônico), específicas de cada grupo de vetores estudado.

No capítulo três o conceito geral de biossegurança é apresentado, incluindo a definição de trabalho em regime de contenção, sobre o qual a norma de biossegurança se aplica.

No capítulo quatro apresentamos a conceituação e a classificação dos níveis de risco associados a cada tipo de organismo e dos níveis de biossegurança requeridos, tais como definidos pela legislação.

No capítulo cinco está a classificação, em termos dos níveis de biossegurança, dos insetários contendo cada um dos organismos tratados no presente trabalho, de acordo com as normas vigentes (com base na informação contida no capítulo anterior).

Finalmente, seguem a avaliação e a adaptação, para os insetários (capítulo seis) e infectórios (capítulo sete) em estudo, das normas gerais de biossegurança, definidas no catálogo da Fiocruz (CTBio-Fiocruz, 1998). Cada item da norma referente à área física, instalação, manipulação, equipamento e descarte de material foi discutido com vários especialistas e recebeu comentário relativo a sua aplicação para insetário e para infectório de insetos vetores. Alguns itens foram adicionados, em função de particularidades dos diferentes insetários em estudo. Outras observações, relativas à área física e à instalação, foram incluídas, para possibilitar um melhor planejamento de espaços que venham a ser projetados.

As figuras presentes no anexo visam ilustrar com modelos e exemplos alguns detalhes construtivos, de instalações e equipamentos que podem ser aplicados aos insetários e infectórios de insetos. A grande maioria das fotos foi tirada em instalações da Fundação Oswaldo Cruz, na Fábrica de Vacinas de Bio-Manguinhos ou no Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz.

Vetores em estudo – hábitos e ciclo de vida

1

1.1. Vetores de malária

A malária, cujo agente etiológico é o *Plasmodium*, é transmitida por mosquitos do gênero *Anopheles*, o que faz do controle deste vetor um importante alvo de ação quando do combate a esta doença. O *Plasmodium* tem parte do seu ciclo de vida no interior do mosquito e é transmitido ao homem pela picada. Os *Anopheles* no Brasil compreendem 54 espécies (mosquitos-prego). Embora o principal vetor de malária no Brasil seja *Anopheles darlingi*, responsável por mais de 95% da transmissão no país e encontrado principalmente na Região Amazônica, ainda não existem colônias desta espécie.

De nosso conhecimento, existem no Brasil colônias estáveis de duas espécies de *Anopheles*, vetoras da malária: *Anopheles albitarsis* e *Anopheles aquasalis* (Horosko e cols., 1997; Carvalho e cols., 2002).

A primeira espécie apresenta vasta distribuição geográfica, estendendo-se desde o norte da Guatemala até o norte da Argentina e é incriminada como vetor em algumas regiões do país. A larva pode ser encontrada em diferentes tipos de água doce, temporárias ou permanentes, naturais ou artificiais, com luz ou sombreadas. O adulto de *An. albitarsis* tem por costume picar em qualquer época do ano, embora seja mais abundante na estação chuvosa. Em geral, prefere atacar animais, embora também possa entrar em casas e se alimentar do homem, sempre que sua população é aumentada.

Anopheles aquasalis, por outro lado, é encontrado na região costeira, na maior parte do Brasil, da Região Norte até São Paulo. Esta espécie tem preferência por águas com alguma salinidade, podendo também ser encontrada em algumas regiões do interior do país, onde o solo é rico em cloretos, como em algumas regiões do sertão nordestino (Consoli e Lourenço-de-Oliveira, 1998). Sua larva vive em águas paradas e salobras, de porte pequeno ou médio, transitórias ou semi-permanentes, ensolaradas ou mediamente sombreadas. Quando adulto, tem hábitos crepusculares, ou seja, a procura por sangue para se alimentar e a cópula são realizadas principalmente ao entardecer do dia.

Na natureza, a densidade populacional das duas espécies flutua, sendo aumentada com a presença de chuvas. É também importante mencionar que as larvas alimentam-se de micoplâncton, enquanto os mosquitos adultos

ingerem seiva de plantas, das quais retiram açúcares. As fêmeas se alimentam também de sangue, o que permite o desenvolvimento de seus ovos.

Depois da eclosão dos ovos (que ocorre dois a três dias após a postura), os anofelinos passam por três estágios distintos, de hábitos e comportamentos característicos: larvas, pupas e mosquito adulto. No estágio larvar, inicial, os anofelinos são aquáticos e sua alimentação, por filtração, é baseada, quando confinados, em comidas para peixe pulverizadas. A larva de um anofelino (que passa por quatro estágios) pode filtrar até dois litros de água por dia. Este estágio, no laboratório, dura, em média, de 10 a 12 dias. O estágio de pupa, que se caracteriza como a transição entre a larva e o adulto, dura em média, no laboratório, de 24 a 36 horas. Nesta fase, também aquática, não ocorre alimentação. O mosquito adulto, no laboratório, vive de uma a três semanas, sendo extremamente susceptível às variações de umidade relativa e, principalmente, de temperatura (Adegas, 2001).

1.2. Vetores de dengue

O dengue tem se destacado entre as doenças re-emergentes e é considerada a mais importante das doenças virais transmitidas por artrópodes (OMS, 1997; Rigau-Perez e cols., 1998; OMS, 2002). Várias epidemias de dengue têm sido registradas em todos os cinco continentes. A distribuição geográfica da febre de dengue é mundial, envolvendo países tropicais e subtropicais.

O dengue é uma doença transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*. O principal vetor de dengue no mundo, *Aedes aegypti*, é encontrado principalmente no meio urbano, sendo colonizado em depósitos de estocagem de água e pequenas coleções temporárias. *Aedes albopictus* é um vetor de importância secundária na Ásia e está mais associado à transmissão em meio rural ou semi-urbano. Outros mosquitos do gênero *Aedes* também podem transmitir dengue, mas não têm grande importância epidemiológica. No Brasil, apenas *Ae. aegypti* está incriminado como vetor desta doença, podendo ainda transmitir a febre amarela urbana, atualmente erradicada do país. *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* são espécies exóticas que chegaram ao Continente Americano após desenvolverem, em seus ambientes primários, intensa associação com a espécie humana (Gomes, 1998).

Aedes aegypti encontra-se em todo mundo, em geral entre as latitudes 35° Norte e 35° Sul, as quais correspondem à isoterma de inverno de 10°C. A distribuição desse mosquito também é restrita pela altitude. Embora a espécie não seja normalmente encontrada em zonas acima de 1.000 metros, ela já foi constatada a mais de 2.000 metros de altitude, na Índia e na Colômbia (OPAS, 1995), o que reflete grande capacidade de adaptação às variações climáticas.

Aedes aegypti desenvolve-se principalmente no ambiente doméstico: seus habitats preferidos são os tanques de armazenamento de água e vasilhames

dentro ou fora das casas, além de calhas de telhado, axilas de folhas, bambus cortados e vasilhames temporários, como potes, barris, pneus usados, latas, garrafas e vasos de plantas. Todos estes *habitats* tipicamente contêm água relativamente limpa (Nelson, 1986).

O ciclo de vida deste mosquito é bastante semelhante àquele dos vetores de malária: antes da emergência do adulto, passam por quatro estádios larvares e pelo estágio de pupa, ambos aquáticos. No laboratório, a rotina de criação é semelhante àquela dos anofelinos, embora mosquitos do gênero *Aedes*, em geral, tenham menos exigências em relação a parâmetros físicos e nutricionais. Ou seja, suportam maiores variações de temperatura e umidade relativa, têm menor necessidade de água limpa e aceitam dieta mais variada. Em geral, as larvas são alimentadas com ração para cobaia ou para gato e aos adultos é fornecida solução açucarada, continuamente. Também neste caso, as fêmeas precisam do repasto sangüíneo para a produção de seus ovos. O ciclo de vida (período entre a postura dos ovos e a emergência do adulto) é curto, durando de 10 a 12 dias no laboratório. O tempo de desenvolvimento, de ovo a adulto, varia muito com a temperatura e com a disponibilidade de alimento. Na natureza, o adulto vive, em média, 30 a 35 dias, chegando a sobreviver por meses em laboratório.

Uma particularidade de *Ae. aegypti*, que contribui para o aspecto explosivo das epidemias de dengue, é o fato de que os ovos, uma vez que os embriões tenham se desenvolvido em seu interior, podem ser mantidos secos por períodos que chegam a até um ano. Imersão em água, no laboratório (e contato com a água da chuva, na natureza) estimulam a eclosão das larvas em poucas horas. Além disto, ao contrário dos vetores de doenças causadas por protozoários (como malária, leishmanioses e doença de Chagas), uma fêmea de *Ae. aegypti* pode transmitir a seus ovos o vírus do dengue, o que pode gerar adultos potencialmente infectantes desde a primeira alimentação sangüínea. Vale, contudo, mencionar que não se sabe qual a importância epidemiológica deste tipo de transmissão (conhecida como transmissão vertical).

1.3. Vetores de Leishmanioses

Os flebotomos, ou mosquitos-palha, são considerados insetos de interesse médico por participarem da transmissão ao homem de doenças cujos agentes etiológicos podem ser bactérias, vírus e protozoários, destacando-se as leishmanioses, transmitidas por protozoários do gênero *Leishmania*.

Cerca de 800 espécies de flebotomos estão descritas e destas, 400 ocorrem nas Américas. Entretanto, somente algumas espécies (dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*) estão incriminadas como transmissoras de leishmanioses (Young e Duncan, 1994). Os parasitas se multiplicam no aparelho digestivo do flebotomo e são regurgitados para o hospedeiro vertebrado durante a alimentação sanguínea. No homem, as leishmanioses se manifestam sob as formas visceral e cutânea. Calcula-se que trezentos e cinquenta milhões de

pessoas vivem em áreas de risco para as leishmanioses, que ocorrem em 88 países. Sua distribuição é ampla: América Central, América do Sul, África, Índia, Ásia Oriental e Central e países europeus da Bacia do Mediterrâneo (OMS, 2003).

No Brasil, as leishmanioses merecem destaque no quadro das grandes endemias e, atualmente, apresentam alta incidência, além de vasta distribuição no território nacional. O surgimento paulatino de novos focos epidêmicos evidencia um agravamento da situação em nossos dias.

Os flebótomos possuem pequeno porte (em torno de quatro milímetros) e apresentam uma cutícula extremamente fina, o que os torna muito sensíveis às flutuações de temperatura e umidade. Na natureza, sua atividade é essencialmente noturna, com início no crepúsculo vespertino e podendo alcançar as primeiras horas da manhã.

As larvas são terrestres e criam-se embaixo das camadas de folhas que revestem o solo, em ocos de árvores, em frestas das rochas, em tocas de animais silvestres ou nos espaços entre as raízes tubulares. Enfim, vivem em condições em que haja elevado teor de umidade e abundante matéria orgânica para sua alimentação (Jung, 1956; Forattini, 1973).

O comportamento dos flebótomos, tanto dos adultos quanto das formas imaturas, é denominado criptozoário: são animais que vivem grande parte da vida escondidos em abrigos úmidos, abandonando-os somente quando ocorre mudança das condições ambientais, ou por ocasião de sua alimentação (Scorza e cols., 1968). Machos e fêmeas nutrem-se de fontes de carboidratos e aminoácidos (sucos vegetais, nectares) (Souza e cols., 1995). Apenas as fêmeas adultas se alimentam de sangue, necessário para a produção de ovos.

No laboratório, o ciclo de vida destes insetos é relativamente longo, em média 45 dias da postura à emergência do adulto. Este último sobrevive em torno de dez dias em cativeiro. As larvas são criadas em substrato de gesso ou de terra autoclavada, sendo alimentadas com uma mistura de ração para peixes e pássaros, três vezes por semana. Os adultos, por outro lado, são alimentados continuamente com solução açucarada ou mel. As fêmeas são alimentadas com sangue, para que a produção de ovos possa ocorrer.

1.4. Vetores de Doença de Chagas

Há 137 espécies conhecidas de barbeiros, entre elas o *Panstrongylus megistus*, barbeiro no qual Carlos Chagas encontrou pela primeira vez o *Trypanosoma cruzi*, protozoário microscópico causador da doença de Chagas, assim nomeado em homenagem a Oswaldo Cruz. Hoje, na América Latina, mais de 18 milhões de pessoas padecem da doença, que esses insetos transmitem em todas as fases de sua vida. Até o momento não se conhece a cura para essa doença e o seu controle depende de educação sanitária, de melhoria da moradia do homem do campo e do combate ao inseto transmissor.

Esses insetos são conhecidos popularmente como barbeiros, porque picam, geralmente à noite, o rosto de pessoas adormecidas. Muitos habitantes da zona rural vivem em habitações precárias, de paredes de taipa, cobertas por capim, ou em casas de barro, conhecidas como pau-a-pique, onde existem frestas que podem abrigar o inseto transmissor.

Um barbeiro está livre de *T. cruzi* até que tenha sugado o sangue de um animal (ou do homem) parasitado, quando adquire a infecção. O protozoário se reproduz em seu interior, multiplicando-se no aparelho digestivo e produzindo as formas infectantes que serão expelidas pelas fezes. A infecção do inseto permanece durante toda a sua vida e poderá instalar-se em suas formas jovens (chamadas de ninfas), uma vez que barbeiros se alimentam de sangue em todos os estágios de seu ciclo de vida. Não há, contudo, transmissão de infecção da mãe para os ovos. É por isso que os barbeiros criados em laboratório, com sangue de animais não infectados, podem ser manipulados sem risco de transmitir a doença para o experimentador.

Os barbeiros são insetos de metamorfose incompleta e, portanto, as fases jovens (estágio de ninfa, que apresenta cinco estádios) são semelhantes aos adultos. Diferentemente dos mosquitos, as ninfas de barbeiro, assim como os adultos deste grupo, têm hábitos terrestres e também necessitam de sangue para realizar as mudas para os estádios seguintes. Em geral, apenas uma alimentação é necessária em cada estágio. Assim como as ninfas, adultos de ambos os sexos também se alimentam exclusivamente de sangue, do qual as fêmeas dependem para a produção de ovos. Depois dos cinco estádios ninfais, os barbeiros mudam para o estágio adulto. A maior diferença entre ninfas e adultos é a presença das asas neste último estágio. O ciclo do ovo até adulto dura, em média, seis meses a um ano, dependendo da espécie (Galvão, C. comunicação pessoal).

Algumas considerações sobre insetários

2

Quando se leva em conta a adaptação, ou instalação, de ambiente para criação de insetos, é importante ter em mente algumas particularidades destes organismos, não apenas em termos de suas exigências de espaço físico e conforto ambiental, mas também para que a aplicação das normas de biossegurança possa ser feita com base em suas peculiaridades, de forma a realmente minimizar ou eliminar os riscos inerentes a este tipo de atividade.

Em um contexto geral, deve-se considerar que os insetos, em sua grande maioria, possuem uma fase alada, o que exige precauções que são desnecessárias em biotérios convencionais. Além disto, o tipo de insetário de que trata este guia de procedimentos objetiva a criação de vetores de doenças, o que implica em cuidados adicionais, uma vez que todos os organismos aqui estudados podem se alimentar de sangue humano, pelo menos no estágio adulto.

Também é importante considerar a enorme diversidade dos insetos, com relação à duração ou às características de seu ciclo de vida, aos requerimentos nutricionais e mesmo à tolerância às variações de parâmetros físicos como temperatura, umidade relativa e luminosidade. A experiência de criação de diferentes vetores tem confirmado estas diferenças e aponta para a necessidade de planejamento cuidadoso do espaço que irá abrigar cada um destes vetores.

No capítulo anterior foram abordados vetores de quatro doenças. Alguns, como os barbeiros, vetores da Doença de Chagas, têm os mesmos requerimentos em termos de espaço de criação ao longo de toda a sua vida: são terrestres, podendo ser criados em frascos com papéis de filtro, e se alimentam de sangue desde o primeiro estágio larvar. Além disto, as exigências de temperatura, ou umidade relativa, para as diferentes fases de desenvolvimento deste grupo de insetos parecem ser as mesmas. Já os vetores de leishmaniose, dengue e malária exigem espaço e nutrientes distintos quando são larvas ou adultos. As larvas dos flebótomos são terrestres, devendo ser criadas em substrato sólido, enquanto aquelas dos vetores de malária e de dengue são aquáticas. Mesmo nestes últimos grupos, existem enormes diferenças entre as fases imaturas dos vetores: as larvas dos anofelinos são muito mais restritas em relação à qualidade da água, que deve ser limpa diariamente, que as de *Aedes*, que suportam concentrações relativamente altas de matéria orgânica. Se apenas as larvas de anofelinos forem comparadas, ainda assim podem ser observadas diferenças entre as duas espécies atualmente mantidas em cativeiro: *An. albitalis* se mantém

em água limpa, desclorada, enquanto *An. aquasalis* requer adição de sal, ou água salobra, para criação. Todas estas particularidades envolvem a instalação de infra-estrutura específica para cada inseto – o que implica em cuidados distintos com a biossegurança.

Com relação à alimentação de cada espécie, ou grupo de vetores, se forem considerados apenas aqueles insetos cujos requerimentos nutricionais são distintos durante o desenvolvimento e na fase adulta, muitas diferenças podem ser observadas. Larvas de flebôtomos se alimentam de matéria orgânica (em geral, ração para peixes e pássaros), larvas de *Aedes* podem ser alimentadas com rações de diferentes naturezas (para cobaias, cães, gatos, peixes), enquanto larvas de anofelinos são extremamente restritas, aceitando preferencialmente rações para peixes, em geral com baixo teor de gordura. A forma como a ração é ministrada também difere, podendo ser lançada aos pedaços no caso das larvas de *Aedes* e devendo ser pulverizada no caso dos anofelinos. Isto ocorre porque, enquanto estas últimas se alimentam na superfície, as primeiras se alimentam no fundo. Aos flebôtomos também é administrada ração pulverizada, sobre a superfície do substrato. No caso dos adultos destes vetores, há necessidade de dois tipos de alimentação: água açucarada (ou mel, ou melado) para alimentação de ambos os sexos, e sangue, pré-requisito para que as fêmeas produzam ovos. A fonte de açúcar deve ser fornecida de forma contínua, o que implica em trocas freqüentes, para evitar crescimento de fungos e cuidados especiais para evitar formigas, por exemplo.

A alimentação sangüínea, ponto comum para todos os insetos aqui tratados, pelo menos em uma fase de seu ciclo, também exhibe particularidades, visto que diferentes vetores podem ter preferência por hospedeiros distintos. Além disto, a forma de administração também varia, podendo ser feita diretamente no hospedeiro, anestesiado ou apenas imobilizado, ou por meio de alimentadores artificiais. A criação destes vetores requer, portanto, proximidade com biotério convencional, ou a existência de espaço anexo para a manutenção de cobaias (dependendo da espécie de inseto são usados cobaias, coelhos, camundongos, pombos, galinhas etc.) que servirão como fonte de sangue para os insetos. Alternativamente, pode-se obter sangue de outra instituição ou unidade, para uso em alimentador artificial.

Finalmente, é importante salientar que algumas espécies, como os anofelinos, têm preferência por temperaturas distintas nos vários estágios de seu desenvolvimento. Neste caso, é recomendável dispor de salas separadas, ou estufas, que permitam a manutenção simultânea de ambientes distintos.

Todas estas particularidades revelam a necessidade de se conhecer em detalhe a rotina da criação de cada espécie, não só para o correto planejamento do espaço físico que irá abrigá-las, e do espaço que servirá para os procedimentos de infecção, como também para que uma adaptação das normas de biossegurança possa ser feita, garantindo a minimização ou a eliminação dos riscos para o técnico, o pesquisador e a comunidade.

Biossegurança – Conceito

Biossegurança é definida como o “conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, riscos que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos” (Hirata e Filho, 2002, página 474).

Referências à biossegurança são feitas em relação ao trabalho em regime de contenção que, de acordo com a Instrução Normativa nº 15/98 (Brasil, 1998b), é a “atividade com o animal não geneticamente modificado onde organismos geneticamente modificados – OGMs - são manipulados, que não permita o escape ou liberação para o meio ambiente”. Ainda de acordo com a Instrução Normativa nº 15/98, “Os biotérios e salas de experimentação para o trabalho em regime de contenção com animais não geneticamente modificados onde OGMs são manipulados devem possuir o nível de biossegurança – NB-A igual ou superior ao do OGM a ser manipulado” e “As características físicas e de funcionamento de biotérios e de salas de experimentação a serem utilizados para o trabalho em contenção de manipulação de OGMs em animais não geneticamente modificados serão seguidas conforme as normas descritas na Instrução Normativa nº 12/98” (Brasil, 1998a).

Níveis de risco e de Biossegurança – Conceituação e Classificação

4

As medidas de biossegurança a serem seguidas são classificadas em quatro níveis, que variam de acordo com o risco envolvido na manipulação de diferentes organismos. Paralelamente, os agentes biológicos são classificados em quatro grupos, que variam segundo o risco individual ou risco para a comunidade que podem acarretar, a severidade das doenças que provocam e as medidas de prevenção e tratamento existentes.

Embora a legislação brasileira só contemple a aplicação das normas de biossegurança quando os procedimentos envolvem manipulação de OGM, fora do país as regras são mais abrangentes. Por exemplo, de acordo com o National Institutes of Health (NIH, 2000), *“Os animais usados em experimentos podem algumas vezes ser hospedeiros de organismos infecciosos adquiridos naturalmente e/ou inoculados experimentalmente. Essas infecções podem acarretar um estado de hospedeiro crônico / ou persistir de forma latente não infectante, que pode ser reativada periodicamente ou como resultado de determinado estímulo. Se há possibilidade de um agente ser excretado por um animal durante o curso de um experimento e não pode ser excluído, todos os outros animais devem ser contidos em instalações com níveis de segurança compatíveis com o risco”*.

Ainda, segundo Hirata e Filho (2002, página 361): *“Animais de laboratório podem ser inoculados deliberadamente com alguns dos microorganismos que se encontram em cada um dos quatro grupos de risco ou com materiais viáveis e/ou suspeitos de conter esses microorganismos. Sob tais circunstâncias, o animal deverá ser mantido em alojamento apropriado ao risco que o organismo acarreta, e em todas as situações é de responsabilidade do pesquisador e da Instituição determinar o risco inerente à atividade proposta”*.

Segue a classificação dos grupos (classes) de risco (CTBio-Fiocruz, 1998; NIH, 2000):

I – Baixo risco individual e baixo risco para a comunidade. O agente biológico não causa doença em trabalhadores ou em animais saudáveis.

II – Baixo risco individual e baixo risco para a comunidade. Um agente patogênico que costuma causar doenças em humanos ou em animais. Sob circunstâncias normais, porém, não chega a ser um perigo sério para pessoas que trabalham com animais de laboratório, para a comunidade, para o gado, ou para o meio ambiente em geral. A exposição a esse agente raramente causa infecções que levam a

doenças graves. O tratamento geralmente é eficiente e as medidas preventivas devem ser avaliadas, sendo o risco de disseminação limitado.

III – Risco individual elevado, risco comunitário limitado. Um agente patogênico que costuma causar sérias doenças em humanos ou em animais, ou que pode resultar em conseqüências econômicas graves. Contudo, normalmente não se espalha por contato entre um indivíduo e outro, ou existem medidas de tratamento e prevenção.

IV – Risco individual e comunitário elevado. O agente patogênico representa uma séria ameaça tanto para o ser humano como para os animais, em geral sem possibilidade de tratamento e de medidas preventivas sendo potencialmente perigoso a quem o manipula. Alto grau de transmissão entre indivíduos, ou de um animal para o ser humano ou vice-versa, de forma direta ou indireta, ou mesmo de forma causal.

Segue tabela com o resumo dos critérios para avaliação de grupos de risco por agentes biológicos:

Classe	Risco		Doença grave	Tratamento / prevenção	Risco de disseminação
	Individual	Coletivo			
I	baixo	baixo	não	-	-
II	baixo	baixo	raramente	eficiente	limitado
III	elevado	limitado	sim	existente	limitado
IV	elevado	elevado	sim	não existente	elevado

A Instrução Normativa nº 7/97 também classifica os OGM de acordo com o risco potencial que acarretam:

“Será considerado como OGM do Grupo I aquele que se enquadre no critério de não patogenicidade, resultando de organismo receptor ou parental não patogênico” [classificado como Classe de Risco 1, de acordo com o Apêndice 2 da Instrução Normativa nº 7/97 (Brasil, 1997), além da observância dos demais critérios estabelecidos no Anexo 1 da Lei nº 8.974/95 (Brasil, 1995)].

“Será considerado como OGM do Grupo II qualquer organismo que, dentro do critério de patogenicidade, for resultante de organismo receptor ou parental classificado como patogênico (classificados como classe de risco 2, 3, ou 4) para o homem e animais” [Apêndice 2 da Instrução Normativa nº 7/97 (Brasil, 1997)].

De acordo com a Instrução Normativa nº 7/97 (Brasil, 1997) e o catálogo de biossegurança da Fiocruz (CTBio-Fiocruz, 1998), existem quatro níveis de biossegurança: NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4, crescentes no maior grau de contenção e complexidade do nível de proteção. O nível de biossegurança de um experimento será determinado segundo o organismo de maior classe de risco envolvido no experimento. Quando não se conhece o potencial

patogênico do microorganismo, deverá ser procedida uma análise criteriosa de todas as condições experimentais.

NB-1: O laboratório neste caso, não está separado das demais dependências do edifício. O trabalho é conduzido, em geral, em bancada. Não são exigidos equipamentos de contenção específicos. O pessoal de laboratório deverá ter treinamento específico nos procedimentos realizados no laboratório, sendo supervisionado por cientista com treinamento em Microbiologia ou ciência correlata (Brasil, 1997).

É adequado ao trabalho que envolva agente com o menor grau de risco para o pessoal do laboratório e para o meio ambiente. Requer procedimentos para o trabalho com microorganismos (Classe de Risco 1) que normalmente não causam doenças em seres humanos ou em animais de laboratório (CTBio-Fiocruz, 1998).

NB-2: É semelhante ao NB-1 e é adequado ao trabalho que envolva agentes de risco moderado para as pessoas e para o meio ambiente (Brasil, 1997).

Requer procedimentos para o trabalho com microorganismos (Classe de Risco 2) capazes de causar doenças em seres humanos ou em animais de laboratório, sem apresentar risco grave aos trabalhadores, comunidade ou ambiente. Estes agentes não são transmissíveis pelo ar. Há tratamento efetivo e medidas preventivas disponíveis e o risco de contaminação é pequeno (CTBio-Fiocruz, 1998).

NB-3: É aplicável aos locais onde forem desenvolvidos trabalhos com OGM resultantes de agentes infecciosos Classe 3, que possam causar doenças sérias e potencialmente letais, como resultado de exposição por inalação (Brasil, 1997).

Requer procedimentos para o trabalho com microorganismos (Classe de Risco 3) que geralmente causam doenças em seres humanos ou em animais, e podem representar um risco se disseminados na comunidade, mas usualmente existem medidas de tratamento e prevenção. Existe contenção para impedir a transmissão pelo ar (CTBio-Fiocruz, 1998).

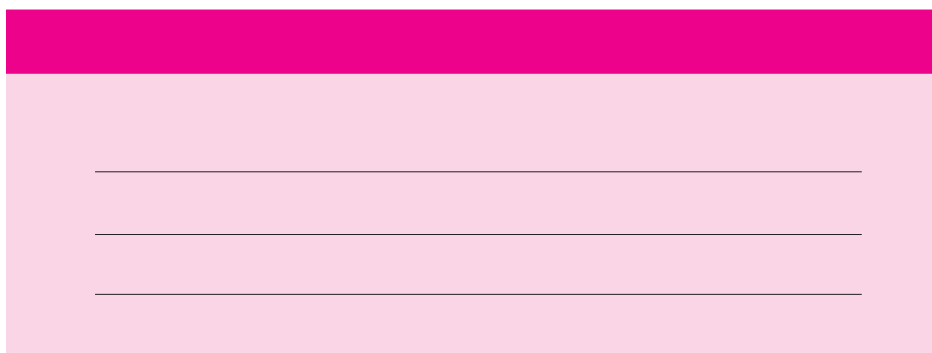
NB-4: Este nível de contenção deve ser usado sempre que o trabalho envolver OGM resultante de organismo receptor ou parental classificado como Classe de Risco 4, ou sempre que envolver organismo receptor, parental ou doador com potencial patogênico desconhecido (Brasil, 1997).

Requer procedimentos para o trabalho com microorganismos (Classe de Risco 4) que causam doenças graves ou letais para seres humanos e animais, com fácil transmissão por contato individual causal. Não existem medidas preventivas e de tratamento para estes agentes (CTBio-Fiocruz, 1998).

Insetários – Classificação quanto ao Nível de Biossegurança

5

Foi realizado levantamento do grupo de risco ao qual pertence cada um dos insetos aqui abordados (levando-se em conta a patogenicidade dos agentes que transmitem) e, conseqüentemente, do nível de biossegurança requerido para cada um dos insetários correspondentes. Esta análise foi feita por consulta ao catálogo de biossegurança da Fiocruz (CTBio-Fiocruz, 1998), quando foi verificado que todos os casos foram classificados no nível de biossegurança 2 (NB-2).



Aplicação das Normas de Biossegurança a Insetários de Vetores – Recomendações (NB-2)

6

A seguir estão discriminadas, em tabelas, as recomendações gerais de biossegurança, referentes à área física, instalação, manipulação, equipamento e descarte de material.

Em cada tabela, a primeira coluna descreve os itens encontrados no catálogo de biossegurança da Fiocruz (CTBio-Fiocruz, 1998), a segunda coluna apresenta a recomendação geral de cada item para laboratórios NB-2 e a terceira coluna, sugestão de recomendação para insetários de não infectados. A última coluna contém um comentário relativo a sua aplicação para este tipo de ambiente. Alguns itens foram adicionados, em função de particularidades dos diferentes insetários em estudo.

As recomendações para insetários sugeridas (listadas na terceira coluna de cada tabela que se segue), foram elaboradas com base nos estudos junto às colônias, aos pesquisadores e à bibliografia existente. Os casos em que as recomendações só são aplicadas a determinados tipos de insetos estão indicados por meio de um índice (ver legenda abaixo) ao lado da recomendação.

As linhas em itálico correspondem a recomendações adicionais, sugeridas neste trabalho. Estas são recomendações específicas para insetários e infectórios, que não constavam das recomendações gerais definidas nas tabelas do catálogo de biossegurança da Fiocruz (CTBio-Fiocruz, 1998).

Legenda:

Tipo de inseto:

M - Mosquitos

F - Flebotomíneos

B - Barbeiros

Indicação:

O = obrigatório

R = recomendável

NR = não recomendável

Recomendações de biossegurança para insetários de vetores

Área física	Lab NB-2	Insetário	Justificativa
Identificação do nível biossegurança e do microorganismo	O	O	Deverão estar localizadas na entrada de do insetário, em locais visíveis.
<i>Áreas separadas para diferentes fases de desenvolvimento</i>		R _M	<i>No caso específico de insetários para vetores de malária, é recomendável que o insetário seja alocado em ambientes separados, visto que os requerimentos de temperatura podem ser distintos para as diferentes fases de desenvolvimento.</i>
Insetário separado de passagem pública	O	O	O insetário deverá estar separado fisicamente de passagens públicas, de preferência por sistema de porta dupla (antecâmara, Figura 1).
<i>Sala própria para insetário</i>		O	<i>O insetário deverá estar separado fisicamente do laboratório. Recomenda-se, neste caso que, dentro do laboratório, o insetário ocupe posição distal em relação à porta de entrada, para minimizar riscos de fuga.</i>
<i>Sala de lavagem</i>	-	R	<i>Esta sala deverá estar localizada próxima ao insetário.</i>
<i>Sala de apoio para manipulação</i>		R	<i>Esta sala deve ser localizada no interior da área contida por sistema de porta dupla, que abriga o insetário.</i>
<i>Acesso único</i>		O	<i>O insetário deverá ter apenas um acesso.</i>
Acesso controlado	O	O	As portas dos insetários deverão permanecer fechadas, por sistema mecânico (Figura 2). Recomenda-se que, na medida da disponibilidade, o fechamento seja feito por sistema de código.
Acesso restrito a pessoas autorizadas	O	O	O acesso aos insetários deverá ser restrito somente às pessoas que fazem a manutenção das colônias e aos pesquisadores envolvidos com o trabalho. Visitas de pessoal externo deverão, obrigatoriamente, ser acompanhadas por pesquisador do laboratório.
Insetário separado por antecâmara, com portas trancáveis, interdependentes, com visores	O	O	Deverá existir uma antecâmara, com fechamento interdependente, automático, separando o insetário do restante do laboratório (Figura 1). O sentido de abertura deverá ser de fora para dentro do insetário e o espaço entre as portas deverá ser suficiente para que uma seja fechada antes que a outra seja aberta. Deverá ser observada a aderência entre a porta e o caixonete para que não existam frestas. As portas deverão ter ressalto, tipo “macho-fêmea”, no caixonete (Figura 3). Visores nas portas são necessários para observação do fluxo de pessoas (Figura 4). Quando o ambiente necessitar de umidade relativa alta, como é o caso de algumas espécies de mosquitos, a antecâmara deverá ser construída em material resistente, apropriado a esta condição.
<i>Visores na parede entre o insetário e o laboratório</i>		R	<i>Para acompanhamento do trabalho e detecção de eventuais acidentes (Figura 5).</i>

Recomendações de biossegurança para insetários de vetores

Área física	Lab NB-2	Insetário	Justificativa
Vidro fixo no local das janelas		O	As janelas deverão ser em vidro fixo para evitar fuga de insetos (Figura 6). As janelas em vidro também servem como saída em caso de incêndio. Colônias de barbeiros, flebotomos e <i>Aedes</i> não necessitam de janela. <i>Anopheles albitarsis</i> e <i>Anopheles aquasalis</i> , por outro lado, se beneficiam do crepúsculo (vespertino e matutino).
Janelas com proteção em tela		O	As telas deverão ser adequadas às espécies em cativeiro: telas com malha inferior a 1 mm para as colônias de mosquitos e flebotomos e telas tipo voal para barbeiros. Dependendo do inseto a ser criado (algumas espécies de mosquitos) as telas deverão ser resistentes à umidade relativa alta.
Paredes, teto e chão lisos, de fácil limpeza, sem juntas	O	R _{M, F} O _B	Superfícies sem juntas facilitam a captura de insetos.
Superfícies claras (de preferência brancas)		O	Teto, chão e paredes devem ser claros, para facilitar captura de insetos que porventura escapem.
Pé direito baixo		O	Este procedimento possibilita a captura de insetos que escapam. O rebaixamento pode ser feito com tela (Figura 7).
Mínimo de móveis e equipamentos no insetário	O	O	Para facilitar a captura de insetos que possam escapar, os insetários deverão ser equipados apenas com prateleiras (preferencialmente vazadas e facilmente deslocáveis, Figura 8). Em alguns casos, armários ou estufas tipo BOD ¹ (Figura 9), banho-maria, com alimentadores artificiais, são necessários.
Posicionamento do mobiliário		O	O mobiliário deverá estar afastado das paredes, com as bases protegidas contra o acesso a formigas e outros insetos.
Móveis e equipamentos de fácil limpeza	O	O	O mobiliário (prateleiras) deverá ser resistente às condições de conforto necessárias para o insetário (ex: aço, alumínio ou fibra). As cores internas dos armários deverão obedecer às necessidades da colônia (ex.: cor escura para flebotomos e cor clara para barbeiros).
Bancadas lisas		R	Deverão ser resistentes à limpeza, e às condições de conforto necessárias para o insetário, com dimensões e altura compatíveis com a rotina de trabalho.
Área na antecâmara para aventais de uso no insetário	O	R _{M, F} O _B	Os aventais devem ser descartados ou mantidos na antecâmara de acesso, após inspeção rigorosa, para evitar esconderijo de insetos que porventura escapem do insetário. Recomenda-se a instalação de cesto ou armário fechado, em cor clara, para descarte ou guarda de jalecos descartáveis ou reutilizáveis.
Áreas separadas para roupas para uso no insetário	R	R _{M, F} O _B	Ver item anterior.

¹ Estufa BOD = “Biological Oxygen Demand”; estufa, com controle de temperatura, utilizada na criação de algumas espécies de artrópodes. Pode também ter controle de umidade relativa e de fotoperíodo.

Recomendações de biossegurança para insetários de vetores

Instalações	Lab NB-2	Insetário	Justificativa
Sistema de emergência para energia elétrica	O	O	Necessário para o sistema de climatização do insetário, incluindo as estufas tipo BOD (Figura 9), e para o controle de fotoperíodo, quando existente.
Dutos de fiação elétrica acessíveis para manutenção	O	R	É importante que a fiação não seja aparente, para evitar a formação de esconderijos. Uma alternativa é que a fiação seja acessível apenas do lado externo ao insetário.
Dutos de fiação elétrica selados (embutidos na parede)	R	R	As instalações devem ser posicionadas de forma a não facilitar esconderijos (Figura 10).
Iluminação de emergência	O	O	Necessária para permitir a saída em caso de falta de luz.
Armadilha luminosa / aspiradores mecânicos ²		R _{M, F}	<i>Recomenda-se, nos insetários destinados aos dípteros, a instalação de armadilhas luminosas (Figura 11) em locais estratégicos, ou a colocação de aspiradores em locais de fácil acesso.</i>
Insetário com ventilação própria		O	<i>Os insetários devem ter sistema de climatização próprio, telado (entrada e saída de ar, Figuras 7A e 12), controlado e adequado ao conforto ambiental das espécies ali mantidas.</i>
Pressão negativa no insetário	R	R _{M, F}	A pressão negativa no insetário pode funcionar como barreira adicional ao eventual escape de mosquitos e flebotomíneos.
Pressão negativa na antecâmara		R _{M, F}	<i>A pressão negativa também é recomendável na antecâmara que dá acesso aos insetários de mosquitos e flebotomíneos.</i>
Cortina de ar (fluxo de ar de cima para baixo)		O _{M, F} R _B	<i>Na antecâmara que dá acesso aos insetários de mosquitos e flebotomíneos deverá ser instalada cortina de ar na parte superior interna de uma das portas (a que faz comunicação com o ambiente externo, Figura 13). A cortina de ar deve ser acionada automaticamente, tão logo a porta seja aberta. Esta instalação é apenas recomendada para insetários de barbeiros.</i>
Filtros HEPA ³ em todas as entradas e saídas de ar	R	-	No caso dos insetários aqui abordados, mais importante que filtros HEPA, são telas, que devem funcionar como barreira para os insetos.
Pia no insetário	O	O	Existe a necessidade de pia, provida de válvula de fechamento, para atender ao fluxo de trabalho com as colônias.
Previsão de água quente na pia		R	<i>Água quente na pia do insetário, ou na sala de apoio, facilita a limpeza de bacias, vidraria e outro material usado diretamente na manutenção das colônias.</i>
Pia para higienização perto da saída do insetário	O	R	Embora produtos químicos não sejam manipulados dentro dos insetários, uma pia perto da saída poderá facilitar a higienização (Figura 14).

² Aspiradores - é obrigatório a presença de aspiradores manuais nos insetários destinados a mosquitos e flebotomíneos.

³ Filtro HEPA= capaz de reter 99% das partículas maiores que 0,3 mm.

Recomendações de biossegurança para insetários de vetores

Instalações	Lab NB-2	Insetário	Justificativa
Pia automática ou com pedais na antecâmara	R	-	Não são manipulados produtos químicos dentro dos insetários.
Lava-olhos no insetário	O	-	Não são manipulados produtos químicos dentro dos insetários.
Ralos no insetário	R	NR	Ralos no insetário podem servir como locais de postura ou fuga para insetos.
Esgoto tratado antes de juntar ao esgoto geral	R	-	Somente no caso de serem feitos descartes de materiais impróprios para o meio ambiente, o que não é verificado em nenhum dos insetários aqui abordados. É importante lembrar que não se recomenda utilizar produtos com odores dentro de insetários.
Tanque para desinfecção emergencial entre esgoto do insetário e esgoto geral	R	-	A manipulação de agentes patogênicos dentro dos insetários estudados é eventual (insetos do campo). Neste caso, outras formas de descarte, em pequena escala, são bastante eficazes (potes com óleo, ou com álcool 70%).
Sistema de prevenção de refluxo de ar ou gases	R	R	Para evitar entrada de odores indesejáveis no insetário.
Canos de água selados (embutidos nas paredes)	R	R	As instalações devem ser posicionadas de forma a não facilitar o surgimento de esconderijos.
Perfurações seladas nas paredes/janelas/tetos/chão	R	O	Deverão ser seladas quaisquer perfurações existentes a fim de serem evitados locais de esconderijo para os insetos.

Recomendações de biossegurança para insetários de vetores

Manipulação	Lab NB-2	Insetário	Justificativa
Treinamento adequado antes do início do trabalho	O	O	É obrigatório o treinamento adequado a cada tipo de rotina e manipulação, de acordo com cada insetário e suas referidas normas de biossegurança.
Manter cópia de procedimentos de trabalho no laboratório	O	O	Para consulta e treinamento. Esta cópia de procedimentos deve ser atualizada periodicamente.
Manter cópia de procedimentos para situações de emergência no insetário	O	O	Para casos de acidentes (picadas, fuga dos insetos, alterações nos parâmetros de conforto ambiental do insetário, entre outros). Recomenda-se a manutenção de anti-histamínico nos laboratórios que têm insetários, principalmente aqueles que manipulam barbeiros.
Considerar todo material biológico como potencialmente prejudicial	O	O	Considerar os insetos coletados no campo, reações alérgicas a picadas, acidentes na manipulação dos recipientes contendo os insetos, entre outros.
Considerar todo material humano como infeccioso	O	-	Não se aplica.
Não trabalhar sozinho	R	R	Recomendação geral para procedimento em laboratório que também deve ser aplicada aos insetários.
Usar luvas	O	R	Luvas não são impedimento para que os insetos piquem, na maioria dos casos.
		O	Para a manipulação de material do campo ou alimentação com sangue.
Usar dois pares de luvas	R	-	Não se aplica.
Antes de descartar as luvas, desinfetar, tomando cuidado para não criar aerossol	O	R	As luvas devem ser higienizadas antes do descarte.
Guardar (somente se inevitável) as luvas molhadas com desinfetante, viradas para dentro; desvirar antes de reutilizar	O	O	Este item só se aplica no caso de falta de luvas descartáveis no laboratório.
Lavar as mãos após tirar as luvas	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório.
Lavar as mãos após sair do insetário	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório.
Usar jaleco no insetário	O	O	O ideal é que sejam usados jalecos descartáveis. <i>Porém, em função das condições físicas (temperatura e umidade relativa elevadas), o profissional poderá substituir sua roupa pelo jaleco.</i>

Recomendações de biossegurança para insetários de vetores

Manipulação	Lab NB-2	Insetário	Justificativa
Nunca sair de jaleco do insetário	O	O	Os jalecos descartáveis devem ser removidos na antecâmara, após inspeção, em recipiente próprio, fechado, contendo saco para autoclavagem. Se jalecos convencionais estiverem sendo usados, ao sair do insetário, guardá-los na antecâmara, em armários fechados destinados a este fim, APÓS INSPEÇÃO RIGOROSA. Nos casos em que o insetário estiver localizado dentro do laboratório, admite-se a manutenção do mesmo jaleco nos dois ambientes, desde que seja feita inspeção do mesmo na antecâmara.
Usar máscara facial	R	R	Obrigatório somente durante a manipulação de barbeiros do campo (possibilidade de contaminação pelas fezes). Nos outros casos, este procedimento é recomendado.
Para quem usar lentes de contato, usar óculos protetor	O	R	Ver item acima.
Usar touca	-	R	Principalmente no caso de manipulação dos barbeiros.
<i>Usar sapatos fechados</i>		R	<i>Considerar que muitos insetos têm preferência pelos membros inferiores para se alimentar. O uso de repelente também é recomendado em alguns casos.</i>
Usar respirador artificial		-	Não se aplica.
Nunca recapear ou dobrar agulhas	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório.
Nunca pipetar com a boca	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório.
Nunca fumar, comer, beber no insetário	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório.
Não estocar comida ou bebida no insetário	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório.
Não estocar objetos privativos no insetário	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório e, além disto, evita o aumento de esconderijos potenciais.
<i>Não estocar materiais no insetário</i>		O	<i>Ver item acima.</i>
Não tocar no rosto com luvas	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório.
Não mastigar lápis/caneta	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório.
Não retirar lápis/caneta do insetário	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório.
Manter material cirúrgico separado do insetário	O	O	O insetário deve conter apenas material em uso. O material cirúrgico deve ser mantido na sala de apoio para manipulação.

Recomendações de biossegurança para insetários de vetores

Manipulação	Lab NB-2	Insetário	Justificativa
Não tocar em maçanetas ou interruptores com luvas	O	O	Recomendação geral para procedimento em laboratório.

Recomendações de biossegurança para insetários de vetores

Equipamentos	Lab NB-2	Insetário	Justificativa
Trabalho apenas na CSB ⁴ Classe II	O	NR	Os insetários devem ser utilizados APENAS para a manutenção dos insetos, não sendo recomendada a realização de experimentos de qualquer natureza em seu interior. Para isto, recomenda-se a existência de sala de apoio, localizada no interior da área de contenção.
<i>Caixa para manipulação de alados</i>		R	<i>Recomenda-se o uso de caixa, totalmente acrílica (transparente), equipada com exaustão telada, para manipulação dos insetos adultos.</i>
Agitações feitas apenas na CSB	R	-	Não se aplica.
Homogeneizações feitas apenas na CSB	R	-	Não se aplica.
“Sonicagens” feitas apenas na CSB	R	-	Não se aplica.
<i>Estufa tipo BOD</i>		R	<i>Para a realização de experimentos ou para a manutenção de insetos em condições diferentes daquelas praticadas no insetário (Figura 9).</i>
Centrifugar em suportes tampados	R	-	Não se aplica.
<i>Visitas para manutenção de equipamentos com acompanhamento</i>		O	<i>Visitas técnicas para manutenção, calibragem ou conserto de equipamentos necessitam, obrigatoriamente, de acompanhamento por pessoa do laboratório.</i>

⁴ CSB = Cabine de segurança biológica

Recomendações de biossegurança para insetários de vetores

Descarte e retirada de material biológico	Lab NB-2	Insetário	Justificativa
Desinfetar superfície externa das embalagens antes de retirá-las do insetário	O	-	Não se aplica.
Descontaminar ou eliminar todo material biológico já usado no insetário	O	O	Vários são os procedimentos usados para descarte dos insetos imaturos ou de seus ovos. Os mais comuns são: congelamento ou imersão em água quente ou em água sanitária. A eliminação dos adultos em geral se faz por autoclavagem, aquecimento em estufas a 70°C ou congelamento a -20°C por 18 horas. Estes procedimentos deverão ser realizados dentro do insetário ou em área próxima (como é o caso dos procedimentos que necessitam de congeladores, estufas ou autoclaves).
Limpar / desinfetar superfícies após término do trabalho	O	R	Dependendo da sensibilidade a odores de cada espécie de inseto manipulada, a utilização de produtos químicos dentro do insetário pode comprometer as colônias. Nestes casos, é recomendável que qualquer procedimento que envolva riscos potenciais de contaminação seja realizado na sala de apoio ao insetário.
Limpar / desinfetar, após uso, equipamentos e material utilizado	O	O	A limpeza dos equipamentos ou materiais deverá ser feita em área próxima aos insetários, de acordo com recomendações específicas para cada espécie.
<i>Limpeza de alimentador artificial</i>	-	O	<i>Eliminar periodicamente a água do banho-maria com circulação e sanitizar os alimentadores (vidro). Autoclavar ou fazer a desinfecção química das membranas utilizadas e descartá-las. Lavar os vidros e descartar as membranas.</i>

Aplicação das Normas de Biossegurança para Infectórios de Insetos Vetores – Recomendações (NB-2)

Recomendações válidas para infectórios que manipulam organismos potencialmente patogênicos ao homem

Legenda:

Tipo de inseto:

M - Mosquitos
F - Flebotomíneos
B - Barbeiros

Indicação:

O = obrigatório
R = recomendável
NR = não recomendável
P = proibido

Recomendações de biossegurança para infectórios de insetos vetores

Área física	Lab NB-2	Infectório	Justificativa
Identificação do nível de biossegurança e do microorganismo	O	O	Deverá estar localizada na entrada do infectório, em local visível.
Áreas separadas para o infectório e o insetário		O	O infectório deve ser alocado em ambiente separado do insetário, visto que os requerimentos de biossegurança são distintos nos dois casos. Requerimentos específicos de temperatura e/ou umidade relativa para as diferentes fases do desenvolvimento poderão ser supridos com estufas tipo BOD (Figura 9).
Infectório separado de passagem pública	O	O	O infectório deverá estar separado fisicamente de passagens públicas, de preferência por sistema de porta dupla (antecâmara, Figura 1).
Sala própria para infectório		O	No laboratório, o infectório deve ocupar posição distal em relação à porta de entrada, para minimizar riscos de fuga. O infectório deve estar próximo ao ambiente de apoio.
Infectório com dimensão adequada à utilização		O	O infectório para insetos deverá ser projetado com dimensões próprias para permitir os procedimentos e conter apenas os equipamentos estritamente necessários, abrigando um número mínimo de pessoas.
Área de apoio ao infectório		R	Deverá ser projetada área de apoio, que servirá para execução dos procedimentos que se fazem necessários antes da infecção, nos casos em que o infectório for fisicamente separado do laboratório.
Acesso único		O	O infectório deve ter somente um acesso.
Acesso controlado	O	O	As portas dos infectórios deverão permanecer fechadas, por sistema mecânico ou automático (Figura 2C).

Recomendações de biossegurança para infectórios de insetos vetores

Área física	Lab NB-2	Infectório	Justificativa
Acesso controlado por senha	R	R	Recomenda-se sistema de código para garantir acesso restrito.
Acesso restrito a pessoas autorizadas	O	O	O acesso aos infectórios deverá ser restrito somente às pessoas que farão as infecções, aos pesquisadores envolvidos com o trabalho e às pessoas autorizadas pelas chefias responsáveis.
Infectório separado por antecâmara, com portas trancáveis, interdependentes, com visores	O	O	Deverá existir uma antecâmara, com fechamento interdependente, automático, construída em material resistente, separando o infectório do restante do laboratório ou da área de apoio e posicionado de forma a não interferir com o fluxo de trabalho (Figura 1). O sentido de abertura deverá ser de fora para dentro do infectório e o espaço entre as portas deverá ser suficiente para que uma seja fechada antes que a outra seja aberta. Deverá ser observada a aderência entre a porta e o caixonete para que não existam frestas. As portas deverão ter ressalto, tipo “macho-fêmea”, com o caixonete (Figura 3). Visores nas portas são necessários para observação do fluxo de pessoas (Figura 4). Quando o ambiente necessitar de umidade relativa alta, como é o caso de algumas espécies de mosquitos, a antecâmara deverá ser construída em material resistente, apropriado a esta condição.
Visores entre o infectório e o laboratório		O	Para acompanhamento do trabalho e detecção de eventuais acidentes (Figura 5).
Janelas		P	Não deverão existir janelas.
Paredes, teto e chão lisos, de fácil limpeza, sem juntas, resistentes a desinfetantes	O	O	As superfícies devem ser lisas, de fácil limpeza e desinfecção e resistentes a produtos químicos.
Superfícies claras (de preferência brancas)		O	Teto, chão e paredes devem ser claros, para facilitar a captura de insetos que porventura escapem.
Pé direito baixo		O	Este procedimento possibilita a captura de insetos que escapem. O rebaixamento pode ser feito com tela, se necessário (Figura 7).
Mínimo de móveis e equipamentos no infectório	O	O	Para facilitar a captura de insetos que possam escapar, os infectórios deverão conter apenas o mobiliário e os equipamentos necessários. Todo o mobiliário deve ser de fácil limpeza.
Posicionamento do mobiliário		O	O mobiliário deverá estar afastado da parede, para evitar acesso de outros insetos (por exemplo, formigas).
Móveis e equipamentos de fácil limpeza	O	O	O mobiliário deverá ser resistente aos produtos usados para limpeza e desinfecção.
Bancadas lisas		O	Deverão ser resistentes à limpeza, e às condições de conforto necessárias para o insetário, com dimensões e altura compatíveis com a rotina de trabalho.

Recomendações de biossegurança para infectórios de insetos vetores

Área física	Lab NB-2	Infectório	Justificativa
Antecâmara	O	O	Deverá ser projetada antecâmara, separando o laboratório do acesso ao infectório. Nos casos em que o infectório estiver em área fisicamente separada do insetário, são necessárias duas antecâmaras, uma entre o infectório e a sala de apoio e outra na saída da sala de apoio (Figura 1).
Área na antecâmara para aventais de uso no infectório	R	O	Os aventais devem ser descartados na antecâmara de acesso, após inspeção rigorosa, para evitar esconderijo de insetos que porventura escapem do insetário. Recomenda-se a instalação de cesto ou armário fechado, em cor clara, para descarte de jalecos descartáveis.
Áreas separadas para roupas para uso no infectório	R	O	Ver item anterior.

Recomendações de biossegurança para infectórios de insetos vetores

Instalações	Lab NB-2	Infectório	Justificativa
Sistema de emergência para energia elétrica	O	O	Necessário para o sistema de climatização do infectório.
Dutos de fiação elétrica acessíveis para manutenção	O	O	É importante que a fiação não seja aparente, para evitar a formação de esconderijos (Figura 10).
Dutos de fiação elétrica selados	R	O	As instalações devem ser posicionadas de forma a não facilitar o surgimento de esconderijos.
Iluminação de emergência	O	O	Necessária para permitir a saída em caso de falta de luz.
Armadilha luminosa / aspiradores mecânicos		O _{M, F}	Armadilhas luminosas (Figura 11) ou aspiradores deverão estar posicionados dentro dos infectórios que abrigam dípteros, em locais estratégicos.
Infectório com ventilação própria		O	Os infectórios devem ter sistema de climatização próprio (entrada e saída de ar com filtros Hepa), de acordo com o tipo de infecção a ser realizado.
Pressão negativa no infectório	R	R _{M, F}	Pressão negativa no infectório pode funcionar como barreira adicional ao eventual escape.
Pressão negativa na antecâmara	R	R _{M, F}	A pressão negativa também é recomendável na antecâmara que dá acesso ao infectório.
Cortina de ar (fluxo de ar de cima para baixo) na antecâmara para entrada na área do infectório		O _{M, F} R _B	Obrigatória no acesso ao infectório. Nos casos em que o infectório estiver localizado em área fisicamente separada do laboratório, uma segunda cortina de ar é necessária no acesso à sala de apoio. Em todos os casos a cortina de ar deverá ser instalada na parte superior interna da porta externa (Figura 13).
Filtros HEPA em todas as entradas e saídas de ar	R	R	Recomendável nos casos em que a manipulação do material infectado possa formar aerossóis, podendo ser substituído por cabines de segurança biológica.
Exaustão de ar independente para CSB	R	R	Para evitar contaminação do ambiente.
Pia no infectório	O	O	Existe a necessidade de pia, pequena, provida de válvula de fechamento, para atender ao fluxo de trabalho. Recomenda-se o acionamento por pedais, para evitar o uso das mãos.
Previsão de água quente na pia do infectório		R	Água quente na pia de trabalho facilita a limpeza.
Pia automática ou com pedais para higienização	O	R	É recomendado que seja localizada na área de apoio ou na antecâmara, e não na área do infectório (Figura 14).
Lava-olhos	O	O	Localizado na área de apoio ou na antecâmara, e não no infectório (Figura 15).
Ralos no infectório	R	NR	Ralos no infectório podem servir como locais de postura ou fuga para insetos.

Recomendações de biossegurança para infectórios de insetos vetores

Instalações	Lab NB-2	Infectório	Justificativa
Esgoto tratado antes de juntar ao esgoto geral	R	R	Somente no caso de serem feitos descartes de materiais impróprios para o meio ambiente.
Tanque para desinfecção emergencial entre esgoto do infectório e esgoto geral	R	R	Alternativamente, devem ser consideradas outras formas de descontaminação, em pequena escala (exemplos: álcool 70%, Extran neutro, formalina 4%, hipoclorito de sódio 1%).
Sistema de prevenção de refluxo de ar ou gases	R	R	Para evitar entrada de odores indesejáveis no insetário.
Canos de água selados (embutidos nas paredes)	R	O	As instalações devem ser posicionadas de forma a não facilitar o surgimento de esconderijos.
Perfurações seladas nas paredes/janelas /tetos/chão	R	O	Deverão ser seladas quaisquer perfurações existentes, a fim de serem evitados locais de esconderijo para os insetos.
Interfone		O	<i>Deve-se garantir a comunicação do infectório com o laboratório, com a sala de apoio ou com a unidade central.</i>

Recomendações de biossegurança para infectórios de insetos vetores

Manipulação	Lab NB-2	Infectório	Justificativa
Treinamento adequado antes do início de trabalho	O	O	É obrigatório o treinamento adequado.
Manter cópia de procedimentos de trabalho próximo ao infectório	O	O	O manual deverá estar o mais próximo possível do infectório, mas não dentro da sala propriamente dita, para evitar locais de esconderijo.
Manter cópia de procedimentos para emergência no infectório	O	O	O infectório deve ter documento contendo instrução condensada sobre os procedimentos de emergência em local de fácil acesso. O manual completo deve estar próximo, mas não dentro do infectório (para evitar esconderijos).
Considerar todo material biológico infeccioso	O	O	Trata-se de infectório.
Considerar todo material humano como infeccioso	O	O	Recomendação geral para laboratórios.
Não trabalhar sozinho	R	R	Recomendação geral para procedimento em laboratório; também deve ser aplicada ao infectório. Em caso de necessidade de trabalho isolado no infectório, recomenda-se comunicação verbal, a outra pessoa do laboratório, do tempo estimado de permanência.
Usar luvas descartáveis	O	O	Recomendação geral para laboratório.
Usar dois pares de luvas	R	R	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
Antes de descartar as luvas, desinfetar, tomando cuidado para não criar aerossol	O	O	A desinfecção e o descarte das luvas deverão ser feitos dentro do infectório. Deve haver recipiente próprio para descarte.
Lavar as mãos após tirar as luvas	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
Lavar as mãos após sair do infectório	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
Usar jaleco no infectório	O	O	Recomenda-se fortemente que os jalecos usados no infectório sejam descartáveis.
Nunca sair de jaleco do infectório	O	O	Jalecos descartáveis devem ser removidos no infectório, em recipiente para descarte apropriado, contendo saco para autoclavação. Se jalecos convencionais estiverem sendo usados, ao sair do infectório, devem ser guardados em armários fechados destinados a este fim, APÓS INSPEÇÃO RIGOROSA.
Usar máscara facial	R	O	Para manipulação de perfuro-cortantes e de organismos patogênicos ao homem.
		R	Para a manipulação de organismos não patogênicos ao homem.

Recomendações de biossegurança para infectórios de insetos vetores

Manipulação	Lab NB-2	Infectório	Justificativa
Para quem usar lentes de contato, usar óculos protetor	O	O	Para manipulação de perfuro-cortantes e de organismos patogênicos ao homem.
		R	Para a manipulação de organismos não patogênicos ao homem.
Usar touca	-	R	Principalmente para cabelos compridos.
<i>Uso de sapatilhas</i>		R	<i>É obrigatório o uso de sapatos fechados, e recomendável o uso de sapatilhas descartáveis.</i>
Usar protetor de sapatos	-	R	De preferência, protetores descartáveis.
Usar respirador artificial	-	-	Não se aplica.
Nunca recapear ou dobrar agulhas	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
Nunca pipetar com a boca	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
Nunca fumar, comer, beber no infectório	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
Não estocar comida, bebida no infectório	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
Não estocar objetos privativos no infectório	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2 e, além disto, evita o aumento de esconderijos potenciais.
Não tocar no rosto com luvas	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
Não mastigar lápis/caneta	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
Não retirar lápis/caneta do infectório	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
Manter material cirúrgico separado do infectório	O	O	O infectório deve conter apenas material em uso. O material cirúrgico deve ser mantido na sala de apoio para manipulação.
Não tocar em maçanetas ou interruptores com luvas	O	O	Recomendação geral para laboratórios NB-2.
<i>Local para manutenção dos insetos infectados vivos</i>		O	<i>Os insetos só poderão sair do infectório depois de mortos e desinfetados. Devem ser mantidos em estufas tipo BOD (Figura 9) no infectório ou, preferencialmente, em área própria para infectados, adjacente ao infectório.</i>

Recomendações de biossegurança para infectórios de insetos vetores

Equipamentos	Lab NB-2	Infectório	Justificativa
Trabalho apenas na CSB Classe II	O	O	Obrigatório no caso de manipulação de organismos patogênicos ao homem.
		R	Recomendável no caso de manipulação de organismos não patogênicos ao homem.
Agitações feitas apenas na CSB	R	O	Obrigatório no caso de manipulação de organismos patogênicos ao homem.
		R	A manipulação de organismos não patogênicos ao homem pode ser feita na sala de apoio.
Homogeneizações feitas apenas na CSB	R	O	Obrigatório no caso de manipulação de organismos patogênicos ao homem (risco de formação de aerossóis).
		R	Recomendável no caso de manipulação de organismos não patogênicos ao homem.
"Sonicagens" feitas apenas na CSB	R	O	Obrigatório no caso de manipulação de organismos patogênicos ao homem.
		R	Em caso de manipulação de organismos não patogênicos ao homem, pode ser feito na sala de apoio.
<i>Estufa tipo BOD</i>		R	<i>Para a manutenção de insetos infectados (Figura 9).</i>
Centrifugar em suportes tampados	R	O	Na sala de apoio, para evitar o acúmulo de equipamentos no infectório.
<i>Autoclave com porta dupla</i>		R	<i>Entre o infectório e a sala de apoio (ou laboratório).</i>
<i>Visitas para manutenção de equipamentos com acompanhamento</i>		O	<i>Visitas técnicas para manutenção, calibragem ou conserto de equipamentos necessitam, obrigatoriamente, de acompanhamento por pessoa do laboratório habilitada para a entrada no infectório.</i>

Recomendações de biossegurança para infectórios de insetos vetores

Descarte e retirada de material biológico	Lab NB-2	Infectório	Justificativa
Desinfetar superfície externa das embalagens antes de retirá-las do infectório	○	○	Todo o material deverá ser limpo antes de ser utilizado no infectório.
Descontaminar (em autoclave ou desinfetante químico) todo material usado antes de retirá-lo do infectório	○	○	Deverão ser submetidos à desinfecção química ou autoclavados no infectório.
Limpar/desinfetar superfícies após término do trabalho	○	○	A limpeza e a desinfecção do infectório deverá ser feita pelo próprio usuário, após o uso (bancadas, equipamentos, chão e demais superfícies potencialmente contaminadas) com desinfetante neutro sem cheiro, apropriado para o tipo de desinfecção necessária.
Limpar/desinfetar equipamentos após uso	○	○	Ver item acima.
Desinfetar material não descartável após o uso	○	○	Vidrarias, plásticos e material de dissecação (pinças, tesouras, agulhas etc) devem ser mergulhados em solução desinfetante. Caso não seja possível (exemplo: gaiolas de papelão), o material deve ser acondicionado e lacrado, em sacos próprios e submetidos à autoclavação. Alternativamente, o material pode ser levado ao forno (180°C).
Matar e descontaminar insetos infectados no infectório	○	○	Os insetos infectados só poderão sair do infectório depois de mortos e descontaminados.
<i>Limpeza de alimentador artificial</i>		○	<i>Eliminar a água do banho-maria com circulação. Autoclavar ou fazer a desinfecção química dos alimentadores (vidro) e das membranas utilizadas (descartá-las).</i>

Bibliografia

- Adegas MG 2001. *Recomendações, Projetuais para Elaboração de Insetário: Modelização de Ambientes para Manutenção e Reprodução de Vetores Brasileiros de Malária*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Beaty BJ, Marquardt WC 1996. *The Biology of Disease Vectors*. University Press of Colorado, Colorado, EUA.
- Brasil 1995. Criação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) Lei nº 8.974, de 05/01/1995, regulamentada pelo Decreto nº 1.752, de 20.12.1995.
- Brasil 1997. Instrução Normativa nº 7/1997, publicada no Diário Oficial da União – DOU – nº 133-E, de 9 de junho de 1997, Seção 3, páginas 11827-11833.
- Brasil 1998a. Instrução Normativa nº 12/98, publicada no Diário Oficial da União – DOU – nº 100-E, de 28 de maio de 1998, Seção 1, páginas 10-12.
- Brasil 1998b. Instrução Normativa nº 15/98, publicada no Diário Oficial da União – DOU – nº 132-E, de 14 de julho de 1998, Seção 1, páginas 14-15.
- Carvalho SCG, Martins-Jr AJ, Lima JBP, Valle D 2002. Temperature influence on embryonic development of *Anopheles albitarsis* and *Anopheles aquasalis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 1117-11120.
- Collins FH, Paskewitz SM 1995. Malaria: current and future prospects for control. *Ann Rev Entomol* 40: 195-219.
- Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R 1998. *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil*. Ed. Fiocruz, Rio de Janeiro.
- CTBio-Fiocruz - CTBio/Comissão Técnica de Biossegurança da Fiocruz 1998. Biossegurança no trabalho com artrópodes vetores de doenças. Em *Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na Fiocruz*, 1ª ed., Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.
- Forattini OP 1973. *Entomologia Médica*, 4º volume, Blücher Ltda., São Paulo, IX+658 pp.
- Funasa - Fundação Nacional de Saúde 2001. Manual de biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia da Fundação Nacional de Saúde (Funasa, 2001/2002), tradução do livro "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" – 4ª ed. – CDC – INH, 1999.
- Gerberg EJ, Barnard DR, Ward RA 1994. Manual for mosquito rearing and experimental techniques. *Amer Mosq Control Assoc, Bulletin* nº 5, revisado.
- Gomes AC 1998. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus*. *IESUS, VII*: 49-57.
- Hemingway J, Ranson H 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Ann Rev Entomol* 45: 371-391.
- Hirata MH, Filho JM 2002. *Manual de Biossegurança*. Manole Ltda; São Paulo, 496 pp.
- Horosko S, Lima JBP, Brandolini MB 1997. Establishment of a free-mating colony of *Anopheles albitarsis* from Brazil. *J Amer Mosq Control Assoc* 13: 95-96.
- Jung HF 1956. Beiträge zur biologie, morphologie und systematik der europäischen Psychodiden (Diptera). *Dt ent Z* 3: 97-257.
- Nelson MJ 1986. *Aedes aegypti: Biología y Ecología*. Organización Panamericana de la Salud, PNSP/ 86-63, Washington DC. 50 pp.
- NIH - National Institutes of Health 2000. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Issuing Office: OACU 496-5424-2000 – Disponível em: <http://www.nih.gov/>.

- OMS - Organização Mundial da Saúde 1989. Geographical distribution of arthropod-borne diseases and their principal vectors. WHO/VBC/89.967.
- OMS - Organização Mundial da Saúde 1995. Vector control for malaria and other mosquito-borne diseases. WHO technical report series, 857.
- OMS - Organização Mundial da Saúde 1997. Dengue hemorrhagic fever, diagnosis, treatment, prevention and control. World Health Organization , Genebra.
- OMS - Organização Mundial da Saúde 2002. Dengue and dengue hemorrhagic fever. Fact sheet nº 117. World Health Organization. Disponível no site: <http://www.who.int/emc/diseases/ebola/denguepublication/index.html>. Visitado no dia 11/04/2003.
- OMS - Organização Mundial da Saúde 2003. Internet <http://www.who.ch/ctd>.
- OPAS - Organização Panamericana de la Salud 1995. Dengue y dengue hemorrágico en las Américas – Guías para su Prevencion y Control – Pub Cient nº 548 – Washington, DC.
- Rangel EF 1995. Epidemiology of American cutaneous leishmaniasis in Brazil. Em *Tropical Diseases, Society and the Environment Technical Report*. p. 103-110.
- Rigau-Perez JG, Clark GG, Gubler DJ, Reiter P, Sanders EJ, Vorndam AV 1998. Dengue and dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 352: 971-977.
- Scorza JV, Gómez I, Mc Lure MY, Ramirez M 1968. Observaciones biológicas sobre alguns flebótomos de Rancho Grande (Venezuela). 2- Microhabitats de *Phlebotomus* spp (Diptera, Psychodidae). *Acta Biol Venez* 6: 1-27.
- Shaw JJ, Lainson R 1987. Ecology and epidemiology: New World. *The Leishmaniasis* 1: 291-353.
- Souza NA, Andrade-Coelho CA, Barbosa AF, Vilela ML, Rangel EF, Deane MP 1995. The influence of sugars and amino acids on the blood – feeding behaviour, oviposition and longevity of laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae, Phlebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90: 751-752.
- Young DG, Duncan NA 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem Am Entomol Inst* 54: 1-881.

Anexo – Figuras



Figura 1: Antecâmara com sistema de portas duplas, apresentando visores. É recomendado, no acesso ao insetário, que o visor da porta interna seja maior que aquele da porta externa.



Figura 2: Sistemas usados para fechamento de portas. (A, B) fechamento com mola. (C) fechamento com botoneira.



Figura 3: Exemplos de vedação de porta com encaixe tipo “macho-fêmea”.



Figura 4: Exemplos de portas com visores para insetários.



Figura 5: Modelos de visores em vidro para insetário, entre ambientes na parede.



Figura 6: Modelos de janelas vedadas. (A) vista externa de uma janela. (B) janela de vidro duplo com venezianas em seu interior, para permitir controle de luminosidade do ambiente.



Figura 7: Exemplo de rebaixamento e de fechamento lateral com tela de aço inox (malha de 0,97 mm). (A) detalhe de rebaixamento com placas teladas, removíveis, para facilitar a manutenção do sistema de ar condicionado, que deve ficar acima do rebaixo. (B) fechamento lateral e rebaixamento em tela (perfis removíveis). A iluminação fica acima do rebaixo.



Figura 8: Modelo de estante com prateleiras aramadas, em aço inox.



Figura 9: Estufa tipo BOD para manutenção ou experimentação de insetos.



Figura 10: Exemplo de tomada com fechamento para evitar esconderijo de insetos.



Figura 11: Armadilha luminosa para captura de insetos adultos. Usada principalmente para mosquitos, apresenta sistema de sucção (exaustor) com reservatório plástico (para contenção) que pode ser substituído.

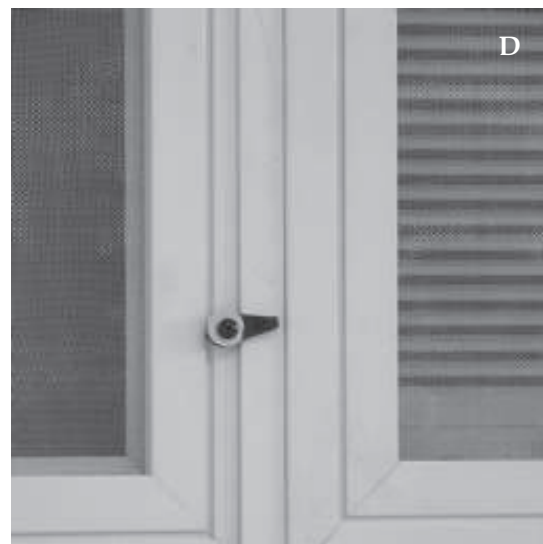
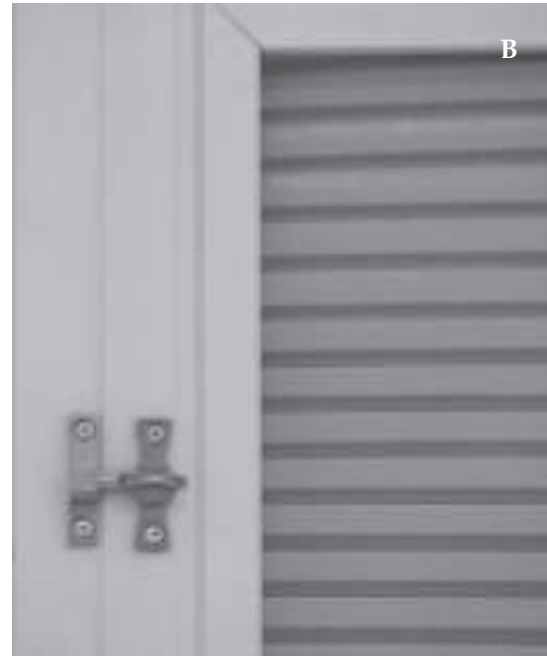


Figura 12: Exemplos de fechamento com tela do sistema de condicionamento de ar para insetário. (A) fechamento com porta. (B) detalhe do trinco da porta mostrada em A. (C) fechamento com perfil de alumínio, telado, removível. (D) detalhe do trinco com perfil mostrado em C.



Figura 13: Modelo de cortina de ar (A) instalada sobre porta de acesso a insetário (B).



Figura 14: Modelo de pia automática para área de apoio ou antecâmara (infectório).



Figura 15: Modelo de lava-olhos para área de apoio ou antecâmara (infectório). O exemplo apresentado possui chuveiro acoplado.

