

Escola Superior de Ensino do Instituto Butantan
Programa de Pós-graduação *Lato Sensu*
Curso de Especialização em Biotérios

André Silva de Matos

**Técnicas de descontaminação da água ofertada para animais de
laboratório**

São Paulo
2022

André Silva de Matos

Técnicas de descontaminação da água ofertada para animais de laboratório

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Especialização em Biotérios do Programa de Pós-graduação *Lato Sensu* da Escola Superior do Instituto Butantan como requisito básico para a obtenção do título de Especialista em Biotérios.

Orientadora: Regiane Marinho da Silva

São Paulo

2022

**Catlogação na Publicação
Instituto Butantan
Dados inseridos pelo(a) aluno(a)**

De Matos, André Silva

Técnicas de descontaminação da água ofertada para animais de laboratório /
André Silva De Matos ; orientador(a) Regiane Marinha da Silva - São Paulo, 2022.
33 p. : il.

Monografia (Especialização) - Instituto Butantan, Programa de Pós-Graduação Lato
Sensu - Especialização em biotérios.

1. Água potável 2. Animais de laboratório. 3. Esterilização. 4. .Acidificação I. da
Silva, Regiane Marinha. II. Escola Superior do Instituto Butantan. III. Programa de Pós-
Graduação Lato Sensu - Especialização em biotérios. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela equipe da Biblioteca do Instituto Butantan

Esta monografia foi elaborada com base no **Guia prático para elaboração de trabalho acadêmico** desenvolvido pela Biblioteca do Instituto Butantan, de acordo com as normas da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas).

AUTORIZAÇÃO PARA ACESSO E REPRODUÇÃO DE TRABALHO

Eu, André Silva de Mota, aluno(a) do Curso de Especialização em Biotérios, autorizo a divulgação do meu trabalho de conclusão de curso por mídia impressa, eletrônica ou qualquer outra, assim como a reprodução total deste trabalho de conclusão de curso após publicação, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Prazo de liberação da divulgação do trabalho de conclusão de curso após a data da avaliação:

Imediato

06 meses

12 meses

Outro prazo _____ Justifique:

São Paulo, 22 de Março de 2022

André Silva de Mota Completar
aluno(a)

De acordo:
Orientador(a): Regiane Maurício do Lago

Aos meus pais e irmãos por todo apoio ao longo da minha formação pessoal e profissional. A Alexandra por ser uma grande motivadora e inspiração nas conquistas pessoais e profissionais.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Regiane Marinho Silva pela paciência e disponibilidade.

A toda equipe do Biotério Central do Butantan, por ter me recepcionado e acolhido tão bem.

A todos os colegas que fazem parte da primeira turma do Curso de Especialização em Biotério, por dividirem o seu tempo e conhecimento ao longo do curso.

A todo o corpo docente do curso, que brilhantemente ministrou as aulas, proporcionando um mergulho na ciência de animais.

A coordenação do curso por toda organização, apoio para realização das aulas e suporte fora das aulas.

A qualidade da água oferecida aos animais tem os padrões sanitários da água potável para humanos, os tratamentos são importantes para minimizar a circulação de agentes e substâncias nocivas que podem comprometer a fisiologia e qualidade sanitária dos animais.

Couto (2002)

RESUMO

MATOS, André Silva de. **Técnicas de descontaminação da água ofertada para animais de laboratório**. 2022. 33 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Biotérios) – Escola Superior do Instituto Butantan, São Paulo, 2022.

A água potável é fundamental na criação e manutenção de animais de laboratório. Além da importância para as necessidades básicas, a oferta de água é uma importante variável na manutenção da qualidade sanitária de animais de laboratório. O acesso à água potável de qualidade é essencial para a saúde e o bem-estar dos animais de laboratório e é um fator importante para minimizar as variáveis experimentais. Em instalações animal, há diferentes métodos utilizados para remoção de agentes microbianos e químicos presentes na água, tais processos visam garantir a qualidade ofertada aos animais. A presente revisão bibliográfica discorre sobre os processos e equipamentos comumente utilizados em biotérios para garantir água potável e de qualidade, são elas: autoclavagem, acidificação e filtração. Os estudos apontam que, alguns destes métodos podem proporcionar alterações na fisiologia do animal, principalmente na microbiota intestinal. Os estudos avaliados, apontam que alterações na microbiota é um potencial variável experimental e desse ser levada em consideração. Como metodologia, realizou-se uma Revisão Bibliográfica, elaborada mediante análise de livros, dissertações, manuais de criação animal, legislação e principalmente artigos científicos. Realizou-se uma análise e síntese de publicações científicas sobre a descontaminação de água para consumo animal. Nas conclusões, observou-se que os diferentes processos de tratamento da água, apresentam qualidades e desvantagens, sendo fundamental que para a adoção de uma, ou mais de uma técnica, deve-se considerar a eficiência do processo escolhido, a instalação em que os animais estão alojados, o estudo a que os animais serão submetidos, as particulares genéticas da linha, o padrão sanitário dos animais e custo de aplicação do processo.

Palavras-chave: Água potável. Animais de laboratório. Descontaminação. Esterilização. Acidificação.

ABSTRACT

MATOS, André Silva de. **Techniques for decontamination of water offered to laboratory animals.** 2022 33 p. Monograph (Specialist in Animal Laboratory) – Escola Superior do Instituto Butantan, São Paulo, 2022.

Drinking water is critical in the rearing and maintenance of laboratory animals. In addition to the importance for basic needs, the supply of water is an important variable in maintaining the sanitary quality of laboratory animals. Access to quality drinking water is essential for the health and well-being of laboratory animals and is an important factor in minimizing experimental variance. In animal facilities, there are different methods used to remove microbial and chemical agents present in the water, such processes aim to guarantee the quality offered to animals. This bibliographic review discusses the processes and equipment commonly used in animal facilities to guarantee drinking and quality water, they are: autoclaving, acidification and filtration. Studies indicate that some of these methods can provide changes in the animal's physiology, especially in the intestinal microbiota. The studies evaluated indicate that alterations in the microbiota are a potential experimental variable and should be taken into account. As a methodology, a Bibliographic Review was carried out, elaborated through the analysis of books, dissertations, animal husbandry manuals, legislation and mainly scientific articles. An analysis and synthesis of scientific publications on the decontamination of water for animal consumption were carried out. In the conclusions, it was observed that the different processes of water treatment, present qualities and disadvantages, being fundamental that for the adoption of one, or more than one technique, the efficiency of the chosen process must be considered, the installation in which the animals are housed, the study to which the animals will be submitted, the genetic particulars of the line, the sanitary standard of the animals and the cost of applying the process.

Keywords: Potable water. Laboratory animals. decontamination. Sterilization. Acidification.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ilustração equipamento de autoclave, modelo de dupla portas.....	22
Figura 2 – Representação dos diferentes materiais utilizados e diversidade de características na confecção dos filtros para garantir a potabilidade da água.	24
Figura 3 - Ilustração de sistema de filtração de água e os diferentes filtros utilizados.	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade de água para consumo humanos.....	21
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Concea – Conselho Nacional de Controle de Experimentação animal

CEUA – Comissão de Ética na Utilização de Animais

H₂SO₄ – Ácido sulfúrico

HCL – Hipoclorito de sódio

MS – Ministério da Saúde

NOD - Non-obese diabetic

NR – Normativa regulamentadora

ppm – Partícula por milhão

spp – Espécie

T1D – Diabetes tipo 1

LISTA DE SÍMBOLOS

UV – Ultravioleta

pH – Potencial hidrogeniônico

mL – Mililitro

L – Litro

uT – Unidade de turbidez

°C – Graus Celsius

μm – Micra

nm – Nanômetro

μm - Micrómetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Geral	17
2.2	Específicos	17
3	METODOLOGIA	18
4	REVISÃO DE LITERATURA	19
4.1	Água potável	19
4.2	Técnicas de descontaminação da água	21
4.2.1	Autoclavação	21
4.2.2	Filtração	23
4.2.3	Acidificação	25
4.3	O impacto em biomodelos	26
5	CONCLUSÕES	28
	REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

A água potável é fundamental na criação e manutenção de animais de laboratório, é considerada como uma das cinco liberdades dos animais, representada como a liberdade fisiológica, que garante que o animal viva livre de fome e sede (BRASIL. CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CONCEA, 2016). Além da importância para as necessidades básicas, a oferta de água é uma importante variável na manutenção da qualidade sanitária de animais de laboratório. Segundo Kurtz; Feeney, (2020) o acesso à água potável de qualidade é fundamental para a saúde e o bem-estar dos animais de laboratório.

A água ofertada a animais de laboratório pode apresenta um risco na transmissão de doenças infecciosas, quando confirmada a presença de microrganismos contaminantes. Entre os microrganismos de origem aquática preocupantes, incluem o *Cryptosporidium*, coliformes fecais como *Escherichia coli*, *Giardia spp.* e vírus entéricos (CABRAL. 2010).

Os contaminantes químicos frequentemente observados na água potável incluem pesticidas, antibióticos, hormônios, desinfetantes, metais pesados, e radionuclídeos. Muitos desses produtos químicos são conhecidos por exercerem efeitos biológicos que podem ser uma variável experimental (KURTZ; FEENEY, 2020). A água é caracterizada como potável, quando está em conformidade com os parâmetros microbiológicos e químicos, estabelecidos segundo Portaria Nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011/MS.

As instalações de pesquisa animal podem optar por realizar etapas adicionais para uma desinfecção mais completa da água usando métodos físicos e / ou químicos. Os métodos de filtração de água podem remover a maioria, mas não todos os microrganismos. Já os métodos físicos para desinfecção da água mais frequentemente utilizados incluem esterilização a vapor e irradiação ultravioleta (UV), (KURTZ; FEENEY, 2020). Os métodos químicos de desinfecção da água usados em instalações de pesquisa animal incluem cloração e acidificação, são comumente utilizados para limitar ou controlar o crescimento de microrganismos potencialmente patogênicos, como *Pseudomonas aeruginosa*, esse processo ocorre enquanto o produto químico permanecer ativo. (KURTZ; FEENEY, 2020).

Os processos de descontaminação de água podem ocasionar respostas, além daquelas desejadas, como por exemplo, o estudo de Whipple; Agar; Zhao; *et al.*, (2021), apontou que o potencial hidrogeniônico (pH) da água potável e o modo de acidificação da água são os principais fatores ambientais que afetam a microbiota intestinal e o metabolismo de camundongos. Portanto, esses parâmetros de água potável devem ser relatados para cada estudo em camundongos.

Os dados do estudo de Wolf; Kyle; Tanner; *et al.*, (2014), indicam que uma mudança na acidez da água consumida altera dramaticamente a microbiota intestinal e diminui o risco de diabetes em camundongos *Non-obese diabetic* (NOD). Esses dados sugerem que a mudança pode ser um novo mecanismo para atrasar o início do diabetes tipo 1 em indivíduos geneticamente predispostos.

Em outro estudo, esse para a doença de Batten, com camundongos Cln3 - / - (129S6 / SvEv), foram observadas mudanças no comportamento motor, neuropatologia e na microbiota intestinal, esses resultados sugerem que a água potável acidificada retarda a progressão da doença em camundongos Cln3 - / - (Johnson; Langin; Zhao, *et al.*, 2019).

O estudo de Nunamaker; Otto; Artwohl, *et al.*, (2013), apontou que as concentrações de metais na água podem atingir níveis individualmente tóxicos, quantificar as quantidades de metais nos materiais e a quantidade lixiviada na água demonstra ser importante.

Nesse contexto, uma revisão de literatura sobre os métodos utilizados para descontaminação de água, estudos que apontam possíveis variáveis experimentais e alterações na fisiologia dos animais, é importante para que as instalações de criação e manutenção animal analisem qual mais adequada técnica de descontaminação de água deverá ser utilizada para ofertar água potável a animais de laboratórios.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Efetuar uma revisão bibliográfica das técnicas de descontaminação e esterilização de água em instalações de criação e manutenção de animais de laboratório.

2.2 Específicos

- Descrever diferentes técnicas de descontaminação de água utilizados em uma instalação animal;
- Demonstrar que o processo de descontaminação de água escolhido pode ser uma possível variável experimental.

3 METODOLOGIA

O presente estudo trata-se de uma Revisão Bibliográfica, elaborada mediante análise de livros, dissertações, manuais de criação animal, legislação e artigos científicos. Esta pesquisa foi realizada por meio de uma análise e síntese de publicações científicas sobre a descontaminação de água para consumo animal.

Este estudo apresentou como objetivo analisar as técnicas para preparo de água fornecidas para animais de laboratório e avaliar a descontaminação da água. Diante disso, foi realizado levantamento de pesquisas através dos bancos de dados disponíveis eletronicamente na *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO), Google Acadêmico, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), *Web of Science*. Para efetuar as buscas, utilizou-se das seguintes palavras chaves: “Esterilização”; “acidificação”; “filtração”; “água potável”, “qualidade da água”; “descontaminação”; “Biotério”; “animais de laboratório”.

Os critérios de inclusão foram: artigos com texto completo e gratuitos, que abordassem a qualidade da água potável, técnicas de descontaminação e água com uma das variáveis experimentais, seguido de relevância do assunto e publicação com até 20 anos (2002 e 2022). Os artigos que não contemplaram estes critérios foram excluídos.

As publicações que atenderam aos critérios, efetuou-se primeiramente a leitura dos resumos de cada artigo, verificando se existiam ou não afinidade ao objetivo do estudo. Em um segundo momento, as publicações foram analisadas, onde foi realizado: leitura do texto completo, verificando a existência de informações para a pesquisa; leitura exploratória onde se observaram as fontes de dados; leitura seletiva que selecionava os materiais de maior relevância para o estudo e leitura interpretativa que analisava os textos pertinentes para responder ao objetivo.

Os estudos selecionados foram apresentados e agrupados por semelhança de conteúdo, tendo como objetivo estimular a discussão sobre as técnicas de descontaminação de água para animais de laboratório.

4 REVISÃO DE LITERATURA

Em instalações animal, para garantir a qualidade da água ofertada, são realizados métodos de tratamentos para remoção de agentes microbianos e químicos, as técnicas utilizadas são: autoclavação, acidificação, cloração, osmose reversa, ultra filtração, filtração e luz ultravioleta. Entretanto, alguns destes métodos podem proporcionar alterações fisiológicas no biomodelo utilizado (BRASIL. CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CONCEA, 2016).

Segundo Lapchik; Mattaraia; Ko, (2017), no tratamento de água para animais de laboratório, a técnica de autoclavação pode ser realizada em maquinas com ciclos sem a realização vácuo. A acidificação é proposta como um complemento à autoclavação, em pH de 2,5 a 3, proporcionando inibição do crescimento de microrganismos por um longo período de armazenamento da água. A filtração, pode ser utilizando uma combinação de pré-filtro e filtro, são utilizados para atender grandes volumes.

4.1 Água potável

A água é considerada potável quando não oferece risco à saúde e que atenda os padrões de potabilidade, conformidade aos padrões microbiológicos, bacteriológico, turbidez, concentração de cloro residual livre, valores de pH estipulados na PORTARIA GM/MS Nº 888, DE 4 DE MAIO DE 2021, na tabela 1 são mostrados parâmetros de potabilidade.

Segundo Brasil (2011) a água potável dever ser apropriada para consumo humano, sendo utilizada para a preparação e produção de alimentos e à higiene pessoal, independentemente da sua origem. A Resolução Normativa número 33 (BRASIL. CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CONCEA, 2016) dispõem que o padrão mínimo aceitável para água ofertada a animais de lavatório é a água potável, e que a mesma, não pode oferecer risco à saúde dos animais. O acesso a água deve ser livre, exceto quando as restrições façam parte da metodologia do estudo e tenha sido devidamente aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da instituição de pesquisa e ensino. Para garantir água limpa e acesso livre, a RN 33 dispõem sobre a substituição dos

bebedouros, não recomenda completar a água e efetuar a troca na mesma frequência de troca das gaiolas.

A qualidade precisa da água e o tratamento necessário para atingir essa qualidade, são fundamentais para ofertar água livre de contaminantes aos animais, deve-se levar em consideração o status sanitário em que os animais em questão são mantidos. Por exemplo, em uma unidade de criação com barreira, pode ser apropriado filtrar, clorar e irradiar a água com luz UV, já a água fornecida a animais imunocomprometidos alojados em isoladores necessita ser completamente estéril. Técnicas como a acidificação podem ser consideradas, quando usada como meio de controlar a infecção por organismos como *Pseudomonas aeruginosa* (HUBRECHT, 2010).

No controle de qualidade de água para consumo humano, Cunha; Lima; Brito; *et al.*, (2012) apontam a importância do aspecto microbiológico, não só na realização de análises bacteriológicas na água (coliformes totais e *E. coli*), mas também considerando outros parâmetros, por exemplo, fungos e filamentosos, independentemente do resultado negativo da análise bacteriológica.

A avaliação dos parâmetros biológicos é de extrema importância, pois possibilita coletar dados sobre a presença de possíveis patógenos presentes na água. Os coliformes totais e termotolerantes, são os principais parâmetros biológicos utilizados. Mesmo não sendo patógenos, contabilizar os coliformes totais são um eficiente indicativo para uma possível presença de seres patógenos (PEREIRA NETO, 2015).

Outro aspecto avaliado na qualidade da água é o pH tem variação de 0 a 14 e essa escala de grandeza indica a intensidade de acidez pH menor 7,0, apresenta neutralidade quando se apresenta igual a 7,0 ou quando está com pH maior que 7,0 é denominado alcalino. Os parâmetros de pH, são uma das ferramentas mais utilizadas na análise de qualidade da água. Assim como a turbidez, que é um parâmetro visual, que indica a qualidade da água, quanto a presença de materiais orgânicos e inorgânicos que ficam em suspensão. (PARRON; MUNIZ; PEREIRA; 2011).

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade de água para consumo humanos.

PARÂMENTRO	VALOR MÁXIMO PERMITIDO (VMP)
ESCHERICHIA COLI	Ausência em 100mL
COLIFORMES TOTAIS	Ausência em 100mL
TURBIDEZ (POR FILTRAÇÃO RÁPIDA)	0,5 uT
TURBIDEZ (POR FILTRAÇÃO LENTA)	1,0 uT
PH	6,5 – 9,5
ALUMÍNIO	0,2 mg L
AMÔNIO	1,5 mg L
FERRO	0,3 mg L
CLORETO	250 mg L
FLUORETO	1,5 mg L
NITRATO	10 mg L
CHUMBO	0,01 mg L
MERCÚRIO	0,001

Fonte: BRASIL, 2011.

Segundo Couto, (2002) a qualidade da água oferecida aos animais tem os padrões sanitários da água potável para humanos, os tratamentos são importantes para minimizar a circulação de agentes e substâncias nocivas que podem comprometer a fisiologia e qualidade sanitária dos animais.

4.2 Técnicas de descontaminação da água

4.2.1 Autoclavação

As autoclaves são equipamentos que utilizam calor e temperatura para inativação de microrganismos e foram originalmente desenvolvidos para esterilização de equipamentos, materiais cirúrgicos e de laboratório (ZHAO; VOET; HUPPES, *et al.*, 2009).

No Brasil, a Norma Regulamentadora (NR) 13: caldeiras e vasos de pressão, do Ministério do Trabalho, que estabelece os requisitos técnicos relacionados à instalação, operação e manutenção de caldeiras e vasos de pressão (autoclaves) Figura 1.

Existem dois tipos de autoclaves: as gravitacionais, que, por meio da pressão de vapor, o ar da câmara é deslocado através do dreno por meio da gravidade, o que pode tornar a evacuação do ar incompleta, o que pode limitar a entrada de vapor prejudicando o aquecimento. Outro tipo, são as autoclaves pré-vácuo, que podem proporcionar um melhor aquecimento, o seu mecanismo de pulsos de vácuo que

efetua uma remoção do ar na câmara, facilitando a entrada do vapor no equipamento (BEARSS; HONNOLD; PICADO, *et al.*, 2017).

A esterilização a vapor (autoclavagem) é altamente eficaz e destrói os microrganismos (fungos, bactérias, vírus e bactérias esporuladas) principalmente pela penetração e desnaturação de proteínas microbianas, usando vapor para elevar a temperatura a 121°C por no mínimo 20 minutos para esterilização da água (KURTZ; FEENEY, 2020). No estudo realizado por Dias; Reis. Arcucio, *et al.*, (2018) que avaliou quatro tipos de preparo de água potável, e as mudanças na composição bacteriana do intestino, um dos tipos de preparo foi água autoclavada com temperatura de 128°C por 25 minutos.

Figura 1 – Ilustração equipamento de autoclave, modelo de dupla portas.



Fonte: Esterilav, 2022. <https://www.esterilav.com.br/autoclave-hospitalar-horizontal>.

O tempo de esterilização, temperatura, pressão e qualidade do vapor são críticos para a esterilização adequada. O vapor deve apresentar-se entre duas fases de agregação, a líquida e a gasosa, a variação de uma fase para outra fornece energia para a destruição dos microrganismos e a qualidade do vapor afeta o grau de esterilização (RIGHETTI; VIEIRA; PCGV, 2012).

Em estudo realizado por Peveler; Crisler; Hickman, (2015) a água autoclavada em bebedouros, armazenadas em bolsas fechadas, não apresentou caso de contaminação orgânica por até 22 dias, apenas uma ocorrência foi detectada em garrafas armazenadas por até 119 dias. Foram testados bebedouros de água para níveis de pH e para a presença de trifosfato de adenosina como medida de contaminação orgânica durante o armazenamento de curto e longo prazo. O pH da água potável autoclavada geralmente permaneceu estável durante o armazenamento.

Um ponto que deve ser considerado, é que após repetidos ciclos de autoclavagem as rolhas de neoprene (bebedouros) começam a rachar na primeira vez em que foram autoclavadas e, posteriormente, se desintegraram, exigindo sua retirada da circulação após apenas 2 ou 3 ciclos (NUNAMAKER; OTTO; ARTWOHL *et al.*, 2013).

Se os requisitos de barreira exigirem uma autoclave para esterilização, Hubrecht, 2010 aponta as principais considerações que devem ser levadas em consideração, tais como: Garantir que a câmara seja grande o suficiente para levar o maior quantitativo de material a ser esterilização, que o equipamento possibilite realizar diferentes ciclos para todos os tipos de materiais a serem esterilizados. Também é aconselhável planejar como a manutenção, os reparos e a substituição serão realizados sem a necessidade de interromper a operação da instalação.

4.2.2 Filtração

Filtração é um método físico de purificação de água que remove substâncias indesejadas usando meios granulares, resinas e membranas porosas. Os filtros granulares geralmente são compostos de areia ou carbono. Os filtros de areia prendem grandes partículas. Filtros de carbono ou carvão absorvem contaminantes orgânicos, subprodutos da cloração, metais pesados e certos pesticidas (KURTZ; FEENEY, 2020). A outros tipos de filtros, como os de fluxo de degradação cinética,

que são compostos de partículas de cobre e zinco e removem metais pesados (MAJDI; JAAFAR; ABED, 2019). Figura 2 ilustra os diferentes materiais utilizados na confecção de filtros.

Figura 2 – Representação dos diferentes materiais utilizados e diversidade de características na confecção dos filtros para garantir a potabilidade da água.



Fonte: Snatural ambiente, 2022.

Os filtros de membrana são feitos de vários materiais porosos, incluindo fibras tecidas, cerâmicas, materiais poliméricos ou metálicos. Os filtros de membrana são categorizados pela diminuição do tamanho dos poros como micro- ($\geq 0,5 \mu\text{m}$), ultra- ($\geq 0,5 \text{ nm}$), nanofiltração ($\geq 0,7 \text{ nm}$) e osmose reversa ($\geq 0,7 \text{ nm}$) (HOSLETT; MASSARA; MALAMIS, *et al.*, 2018).

Os filtros apresentam vida útil, os poros dos filtros são preenchidos por meio do mecanismo de contenção de partículas, que influencia diretamente no aumento da perda de carga no processo, levando a diminuição do fluxo da água e capacidade de filtração (MAGALHÃES, 2005).

Na publicação de Lapchik; Mattaraia; Ko, (2017), o tratamento de água para atender grandes volumes é realizado por um sistema combinado de pré-filtro onde ocorre a remoção de partículas de até $10 \mu\text{m}$, para a remoção de bactérias a água passa por um segundo filtro com de aproximadamente $0,2 \mu\text{m}$ de diâmetro, entretanto,

não são eficientes na remoção de vírus. Ilustração de sistema de filtração de água, Figura 3.

A escolha das técnicas de desionização e / ou filtração por osmose reversa da água potável, reduz o quantitativo de minerais essenciais presentes na água. Se os animais são alimentados com uma dieta de alta qualidade e bem balanceada, a probabilidade de deficiências de minerais é rara. No entanto, existem alguns fatores relacionados ao uso de água desmineralizada que devem ser observados. A falta de minerais reduz a palatabilidade da água e pode afetar a ingestão de água. Embora a maioria dos animais se adapte à mudança no sabor, a ingestão de água pode ser reduzida durante o período de transição inicial da água mineralizada para a desmineralizada (KURTZ; FEENEY, 2020).

Figura 3 - Ilustração de sistema de filtração de água e os diferentes filtros utilizados.



Fonte: Snatural ambiente, 2022.

4.2.3 Acidificação

A cloração e acidificação são técnicas que limitam ou controlam o crescimento de microrganismos na água ofertada para animais. Cloraminas, hipoclorito de sódio e dióxido de cloro são compostos de cloro comuns usados para desinfecção; no entanto, o hipoclorito de sódio (HCL) é mais comumente utilizado em instalações de pesquisa animal em concentrações recomendadas que variam de 0,5 a 10,0 ppm (KURTZ; FEENEY, 2020).

Uma vez que bactérias patogênicas não podem crescer em água acidificada, a acidificação da água potável a um pH entre 2,5 e 3,0 é amplamente utilizada para prevenir a propagação de doenças bacterianas em colônias de animais. Além do HCl,

o ácido sulfúrico (H₂SO₄) também é usado para acidificar a água potável para colônias de animais. (WHIPPLE; AGAR; ZHAO; *et al.*, 2021).

A acidificação da água potável com ácido clorídrico ou ácido sulfúrico também é usada para tratar a água fornecida a animais de laboratório, com um pH alvo recomendado de 2,5–3,0 (KURTZ; FEENEY, 2020). Nos estudos de Johnson; Langin; Zhao, *et al.*, (2019), a água potável foi preparada por acidificação com HCl, passando de água não acidificada (pH 8,4) para um pH 2,5–2,9 (a média de 2,8) ao término do da acidificação.

Em estudo realizado por Wolf; Daft; Tanner, *et al.*, (2014), a água foi acidificada utilizando a proporção de 1 mL de HCl, por cada 500 mL de água, o que levou a água para um pH 3,2. Com intuito de evitar o crescimento *Pseudomonas spp.*, Couto, (2002), sugere a adição de uma parte de HCl (36,5% a 38%) para três partes de água, no processo de acidificação da água em instalações animais, resultando em o pH 2,5 a 3,2.

As instituições que usam métodos de descontaminação química na água potável de seus animais, devem realizar testes regulares de garantia de qualidade das concentrações de cloro e/ou pH (KURTZ; FEENEY, 2020).

4.3 O impacto em biomodelos

Em estudo realizado por Sofi; Gudi; Karumuthil-Melethil, *et al.*, (2014) observou-se que o pH da água potável pode estar associada na incidência da diabetes (T1D) em camundongos NOD colônia SPF, animais mantidos com água potável acidificada (HCl adicionado; pH 2,8–3,2) desenvolveram T1D rapidamente e apresentaram maior incidência de diabetes, em comparação com aqueles mantidos com água potável de pH neutro autoclavada (pH 7,0-7,4). Esse efeito foi diretamente associado à diferença na composição e diversidade do microbiota intestinal.

Os estudos indicam, que fatores ambientais, como o pH da água potável, podem influenciar a incidência de T1D e a taxa de progressão da doença, principalmente por afetar a composição da microflora intestinal (SOFI; GUDI; KARUMUTHIL-MELETHIL, *et al.*, 2014). O estudo de Wolf; Daft; Tanner, *et al.*, (2014) notou-se que camundongos NOD criados com água acidificada apresentaram uma incidência menor de diabetes.

As mudanças vistas na incidência de diabetes em camundongos NOD induzidas por algo tão simples como o pH da água que bebem claramente fortalece a hipótese de que alterações sutis na microbiota intestinal podem ter um impacto significativo na doença. (WOLF; DAFT; TANNER, *et al.*, 2014)

A troca de água acidificada, por água potável autoclavada com pH neutro, pode ter um papel na regulação imunológica aprimorada em camundongos NOD, proporcionando o aumento na diversidade das comunidades microbianas intestinais, (SOFI; GUDI; KARUMUTHIL-MELETHIL, *et al.*, 2014). Corroborando com as alterações fisiológicas na troca da água, os autores, Whipple; Agar; Zhao, *et al.*, (2021), apontaram que a água potável acidificada com HCl (pH médio: 2,8) disponibilizadas ao desmame (dia pós-natal 21) alterou significativamente a microbiota intestinal de camundongos de tipo selvagem *Cln3* - / - e 129S6 / SvEv.

O estudo de Dias; Reis. Arcucio, *et al.*, (2018) apontou que camundongos que consumiram diferentes tipos de água potável sofreram influência na composição da microbiota do trato intestinal. Demonstrando que a diversidade de comunidades bacterianas foi significativamente afetada pela origem da água.

Outro fator é a lixiviação de metais pesados na água potável, que pode ser problemática devido aos efeitos biológicos individuais desses componentes após a exposição, em estudo realizado por Nunamaker; Otto; Artwohl, *et al.*, (2013) o chumbo foi lixiviado das rolhas de neoprene para a água potável acidificada e os níveis de chumbo atingiram 0,2 ppm, os principais efeitos tóxicos do chumbo são de natureza imunológica e reprodutiva, mas o chumbo também pode afetar outros sistemas do corpo em roedores quando administrado em altas concentrações.

5 CONCLUSÕES

Com o presente estudo, observou-se que os diferentes processos de tratamento da água são eficientes, e que para cada processo, são utilizados diferentes técnicas e equipamentos, que visam garantir água livre de microrganismos patogênicos e resíduos químicos indesejados. É fundamental que para a adoção de uma, ou mais de uma técnica, é importante levar em consideração a eficiência do processo escolhido, a instalação em que os animais estão alojados, o estudo a que os animais serão submetidos, as particularidades genéticas da linha e o padrão sanitário dos animais e custo de aplicação do processo.

Ainda que apresentem limitações quanto ao custo e estrutura física para implementação, além do desgaste dos utensílios utilizadas para oferta de água para animais de laboratório, o uso da autoclave no processo de preparo da água tem grande eficiência na qualidade sanitária, proporcionando água potável aos animais.

Um sistema de filtros atende as necessidades básicas de animais, oferta dentro dos parâmetros estabelecidos de água potável, principalmente quando se trata de ofertar grandes volumes. Como o processo de filtração pode retirar minerais da água, é fundamental manter uma oferta de ração adequada para a manutenção de animais em biotério.

Os efeitos da acidificação da água, tem consequências não intencionais que não devem ser ignoradas. Além de afetar a microbiota dos animais, na montagem da garrafa de água podem se tornar uma variável com a lixiviação de metais contidos nas rolhas, especialmente em estudos imunológicos e de envelhecimento de roedores.

Além disso, os sistemas de distribuição de água para animais precisam ser sempre considerados, tradicionalmente, a oferta de água era realizada de duas formas: sistemas automáticos de água ou bebedouros (garrafas). Já há alguns anos, os fornecedores e pesquisadores vem buscando outra opção de fornecer água, desenvolvido bolsas plásticas semelhantes às bolsas usadas para injeção intravenosa estéril (HUBRECHT, 2010).

Para que mantenha a qualidade sanitária, parâmetro fisiológica e responder aos ensaios experimentais, é de suma importância que instalações de criação e manutenção animal, desenvolvam programas de monitoramento da qualidade da água, incluindo análises periódicas de metais pesados, o nível de pH, além de contaminação microbiológica na água potável ofertada para os animais.

REFERÊNCIAS¹

BEARSS, J. J.; HONNOLD, S. P.; PICADO E. S.; DAVIS, N. M.; LACKEMEYER, J. R. Validation and verification of steam sterilization procedures for the decontamination of biological waste in a Biocontainment Laboratory. **Applied Biosafety Journal – ABSA International**, v. 22, n. 1, p. 33-37, 2017.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CONCEA. Resolução Normativa CONCEA nº 33, de 18.11.2016 – Capítulo “Procedimentos Roedores e Lagomorfos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica. 18 nov. 2016, p. 08.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

_____. NR-13: caldeiras, vasos de pressão, tubulações e tanques metálicos de armazenamento. Disponível em: . Acesso em: 10 jan. 2022.

CABRAL, J.P.S. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. **International journal of environmental research and public health**, v. 7, n. 10, p. 3657-3703, 2010.

COUTO, S.E.R. Instalações e barreiras sanitárias. In: ANDRADE. **Animais de laboratório. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz**, p. 33-44, 2002.

CUNHA, H. F. A., LIMA, D. C. I., BRITO, P. N. D. F., CUNHA, A. C. D., SILVEIRA JUNIOR, A. M. D., & BRITO, D. C. Qualidade físico-química e microbiológica de

¹ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação - referências - elaboração. Rio de Janeiro: ABNT, 2018.

água mineral e padrões da legislação. **Revista Ambiente & Água**, v. 7, p. 155-165, 2012.

DIAS, M. F., REIS, M. P., ACURCIO, L. B., CARMO, A. O., DIAMANTINO, C. F., MOTTA, A. M, *et al.* Changes in mouse gut bacterial community in response to different types of drinking water. **Water research**, v. 132, p. 79-89, 2018.

Esterilav, 2022. <https://www.esterilav.com.br/autoclave-hospitalar-horizontal>. 18/Jan – 2022.

JOHNSON, T.B., LANGIN, L.M., ZHAO, J., WEIMER, J.M., PEARCE, DA E KOVÁCS, A.D. Changes in motor behavior, neuropathology, and gut microbiota of a Batten disease mouse model following administration of acidified drinking water. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-16, 2019.

HOSLETT, J., MASSARA, T. M., MALAMIS, S., AHMAD, D., VAN DEN BOOGAERT, I., *et al.* Surface water filtration using granular media and membranes: A review. **Science of the Total Environment**, v. 639, p. 1268-1282, 2018.

KIRKWOOD, J., HUBRECHT, R.C., **The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals. John Wiley & Sons.** In: Barbara, H., Planning, design and construction of efficient animal facilities. Ed 8º. 2010. p124 -135.

KURTZ, D.M., FEENEY, W.P., The Influence of Feed and Drinking Water on Terrestrial Animal Research and Study Replicability. **ILAR J.** 2020 Oct 19;60(2):175-196. doi: 10.1093/ilar/ilaa012. PMID: 32706372; PMCID: PMC7583730.

LAPCHIK, V.B.V; MATTARAIA, V.G.M; KO, G.M.,orgs. **Cuidados e manejos de animais de laboratório.** 2. ed. Rio de Janeiro: Editora ATHENEU, 2017.

MAGALHÃES, M.A., **Modelo do processo de filtração de água residuária de suinocultura em materiais orgânicos.** 2005. 102 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) –Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

MAJDI, H.S., JAAFAR, M.S., ABED, A.M., USING K.D.F., material to improve the performance of multi-layers filters in the reduction of chemical and biological pollutants in surface water treatment. **South African Journal of Chemical Engineering**, v. 28, p. 39-45, 2019.

SOFI, MH, GUDI, R., KARUMUTHIL-MELETHIL, S., PEREZ, N., JOHNSON, BM, & VASU, C., pH of Drinking Water Influences the Composition of Gut Microbiome and Type 1 Diabetes Incidence. **Diabetes** 1 February 2014; 63 (2): 632–644.
<https://doi.org/10.2337/db13-0981>.

NUNAMAKER, E. A., OTTO, K. J., ARTWOHL, J. E., & FORTMAN, J. D., Leaching of heavy metals from water bottle components into the drinking water of rodents. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 52, n. 1, p. 22-27, 2013.

PARRON, L.M., MUNIZ, H.F., PEREIRA, C.M., Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água. **Embrapa Florestas-Documents (INFOTECA-E)**, 2011.

PEREIRA NETO, S., **Estudo da potabilidade da água da chuva após processos de filtração e desinfecção**. 2015. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015.

PEVELER, J.L.; CRISLER, R., HICKMAN, D., Quality testing of autoclaved rodent drinking water during short-term and long-term storage. **Lab animal**, v. 44, n. 6, p. 211-215, 2015.

Snatural ambiental. <https://www.snatural.com.br/filtracao-agua-potavel-reuso-desinfeccao/#>. Acesso 03/03/2022.

RIGHETTI, C., VIEIRA, P.C.G.V., Autoclave: aspectos de estrutura, funcionamento e validação. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório, São Paulo**, v. 1, n. 2, p. 185-189, 2012.

WHIPPLE, B., AGAR, J., ZHAO, J., *et al.* As mudanças induzidas pela água potável acidificada no comportamento e na microbiota intestinal de camundongos do tipo selvagem dependem do modo de acidificação. **Relatórios científicos** , v. 11, n. 1, pág. 1-15, 2021.

WOLF, K. J., DAFT, J. G., TANNER, S. M., *et al.* Consumption of acidic water alters the gut microbiome and decreases the risk of diabetes in NOD mice. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 62, n. 4, p. 237-250, 2014.

ZHAO, W., VOET, E., HUPPES, G., ZHANG, Y., Comparative life cycle assessments of incineration and non-incineration treatments for medical waste. **Int. J. Life Cycle Assess**, v.14, p. 114-121, 2009.