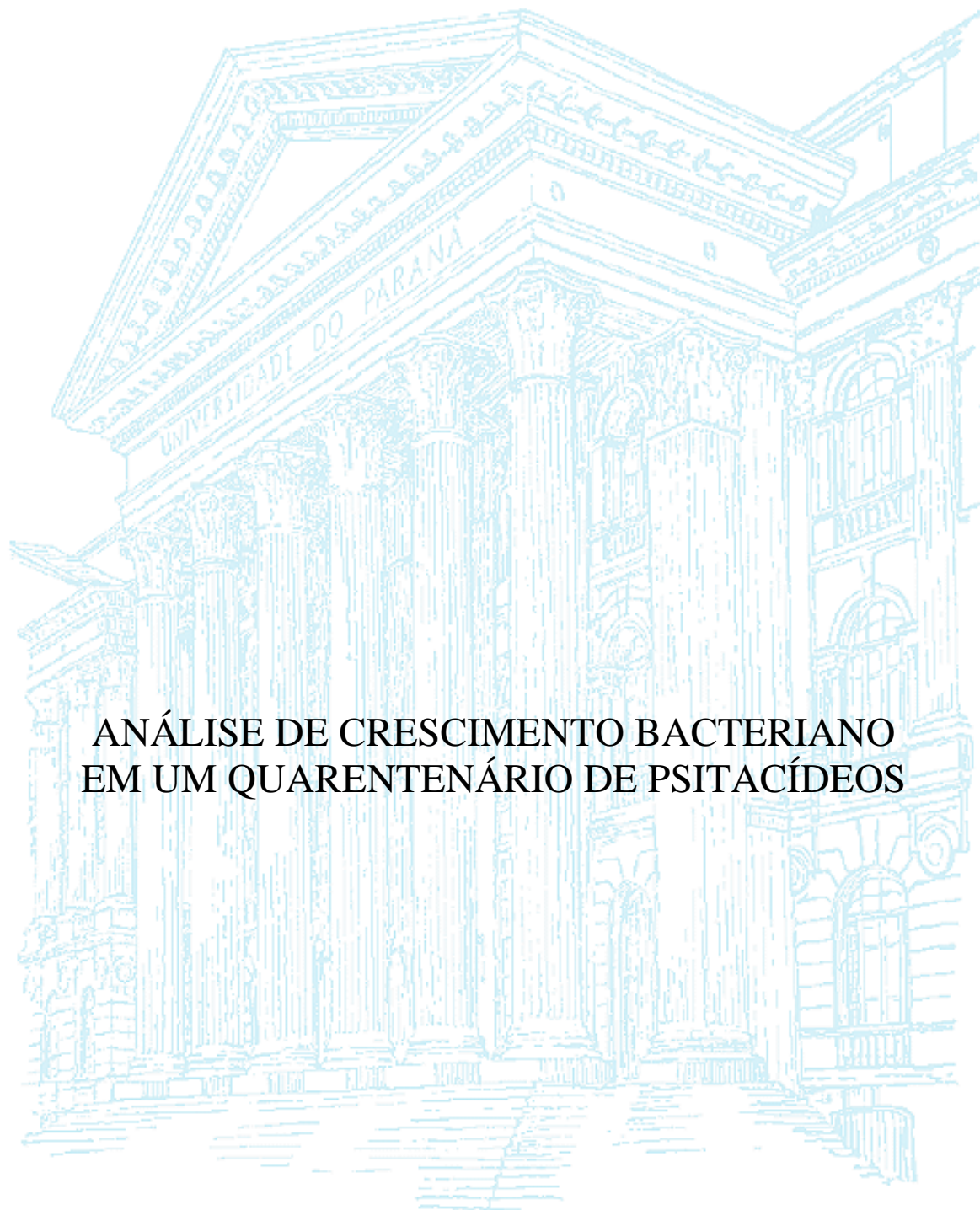


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



**ANÁLISE DE CRESCIMENTO BACTERIANO
EM UM QUARENTENÁRIO DE PSITACÍDEOS**

CURITIBA

2011

WANDERLEI DE MORAES

ANÁLISE DE CRESCIMENTO BACTERIANO EM UM QUARENTENÁRIO DE
PSITACÍDEOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Patologia Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.
Orientador: Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho

CURITIBA

2011

M827 Moraes, Wanderlei de
Análise de crescimento bacteriano em um quarentenário de
psitacídeos / Wanderlei de Moraes. – Curitiba, 2011.
55f. : il. (color.) ; 23 cm

Orientador: Ivan Roque de Barros Filho
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias.

1. Quarentena veterinária. 2. Doenças transmissíveis em
animais. 3. Microbiologia veterinária. 4. Psitacídeo – Doenças.
I. Barros Filho, Ivan Roque de. II. Universidade Federal do
Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU 619.6:598.718.2



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS


PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "ANÁLISE DE CRESCIMENTO BACTERIANO EM UM QUARENTENÁRIO DE PSITACÍDEOS" apresentada pelo Mestrando **WANDERLEI DE MORAES** declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09-CEPE/UFPR, considerou o candidato **APROVADO** para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 31 de agosto de 2011


Professor Dr. Ivan Roque de Barros Filho
Presidente/Orientador


Professor Dr. Fabiano Montiani Ferreira
Membro


Professor Dr. Walfrido Kühl Svoboda
Membro


Professor Dr. Rüdiger Daniel Ollhoff
Membro

Se desejas ver os vales, sobe ao topo das montanhas.

Se desejas ver o topo das montanhas, sobe a uma nuvem.

Mas se quiseres compreender a nuvem, fecha os olhos e pensa.

Aos meus pais, Edward e Nair, aos meus avós Alfredo e Amália e aos meus irmãos Wagner e Valmir, por compartilharem esta jornada comigo.

A minha esposa Inah e aos meus filhos Carolina e Luiz Filipe, pela paciência, amor e compreensão em todos estes anos de amor e convivência.

AGRADECIMENTOS

Primeiro ao meu orientador Ivan, por ter confiado em me orientar, mesmo quando tudo estava aparentemente em estado caótico. Nestes dois anos de mestrado me acolheu, me incentivou e me ajudou a focar em meu trabalho. Com sua orientação e seu otimismo pude completar mais esta etapa importante de minha vida.

Um agradecimento muito especial a Leonilda Correia dos Santos, incansável amiga e batalhadora, grande incentivadora que participou de todas as etapas deste trabalho, ajudando no planejamento, buscando soluções técnicas, processando amostras, mas principalmente me acompanhando de perto nos momentos mais difíceis e marcantes. Saiba que sempre vai existir um lugarzinho no meu coração para esta “irmã” que marcou muito a minha vida pessoal e profissional.

Aos meus colegas do mestrado e aos professores com quem convivi durante as aulas e durante as diversas atividades que realizamos juntos, inclusive algumas festas e jantares importantes, que ajudaram a estreitar nossos relacionamentos e que permitirão compartilharmos lembranças para toda a vida.

Ao pessoal da Coordenação da Pós-graduação, em especial a Maria José pela ajuda inestimável em momentos difíceis.

Aos integrantes do meu Comitê de Orientação, Prof. Molento e Prof. Ricardo Villani, pelo apoio e incentivo durante o mestrado.

Aos meus companheiros da Itaipu: João Cordoni, Edson Zanlorenzi, Marcos José de Oliveira, Rosana Pinto de Almeida e Zalmir S. Cubas, pela ajuda inestimável, amizade, paciência e oportunidade de estarmos juntos trabalhando para um mundo melhor. Também ao companheiros do Laboratório Ambiental Luís Antônio Alvarenga Cortes, D. Oli e Renê Diomar Fernandes, pelo apoio e carinho durante minha “fase de laboratório”.

Aos meus alunos de graduação em Biologia da Faculdade Anglo-Americano de Foz do Iguaçu que também me auxiliaram na “fase de laboratório” em especial a Rosane, ao André, a Camila, ao Wendy, a Andressa e também às estagiárias do Laboratório Ambiental, Vivian e Cleisiane, que foram incansáveis, me auxiliando sempre no meio de tantos frascos, placas e amostras.

À professora Ana Tereza Bittencourt Guimarães pela colaboração na redação e na análise estatística da parte descrita no segundo capítulo do presente trabalho.

Aos tratadores e técnicos da empresa Trecho, alguns com mais de vinte anos de participação em um trabalho conjunto que nos permite manter e reproduzir, sempre que possível, animais silvestres em cativeiro, meu muito obrigado.

A Professora Patrícia Garcia da Silva Carvalho e ao Professor Joaquim Jorge Silveira Buchaim da Faculdade Anglo-Americano, minha segunda casa de trabalho, pelo apoio sem reservas durante meu Mestrado.

A minha família, que sempre me apoiou em toda a minha vida e em especial durante o mestrado.

À minha esposa, que com seu carinho e companhia, que acompanhou de perto minhas alegrias e minhas dificuldades, sempre me ajudando e me apoiando com muito amor.

Aos meus filhos pelos longos momentos roubados do convívio diário, para que eu pudesse desenvolver e terminar este trabalho.

Aos animais que involuntariamente colaboraram com este estudo, dedico todo o meu carinho e respeito. Saibam que fiz isso tudo para melhorar nossos padrões de saúde e nossa qualidade de vida, para que juntos possamos cumprir nossas missões nesta terra com o mínimo de dor e esforço.

A todos por existirem e serem únicos e tão especiais.

A Deus por nos permitir mais esta jornada em busca da Unidade.

RESUMO

A quarentena representa importante sistema de controle para evitar a introdução de agentes potencialmente danosos para o ambiente, para a saúde dos seres humanos e para a saúde animal; traz vantagens econômicas, tanto na manutenção dos rebanhos produtivos como na manutenção da saúde de animais de estimação e de seres humanos. Permite maior segurança no manejo de populações de animais ameaçadas de extinção. Como pedra angular de um programa de biossegurança a quarentena deve ser praticada com critérios e protocolos bem estabelecidos. O presente trabalho apresenta os resultados do monitoramento bacteriológico para os pontos críticos da quarentena para psitacídeos do Hospital Veterinário da ITAIPU Binacional. Com os resultados obtidos concluímos que o uso do Cloro a 1% como desinfetante apresentou um desempenho ligeiramente maior em relação ao uso de Álcool a 70%, de Monopersulfato e de lavagem com água e detergente. De quatorze pontos críticos analisados inicialmente foram selecionados cinco para serem utilizados na implantação de um programa de controle de qualidade para quarentenas. Os pontos: *container* de ração úmida, *container* de uniforme, luva do tratador e a bota destacaram-se na positividade de turvação do meio BHI, na positividade de isolamento de microrganismos e na contagem de bactérias heterotróficas. O ponto crítico fundo de gaiola destacou-se na contagem de bactérias heterotróficas em função dos objetos da quarentena, independente do tipo de tratamento. Foram utilizados três métodos de controle: turvação do meio Brain Heart Infusion – BHI, positividade da amostra para espécies de bactérias patogênicas e contagem de bactérias heterotróficas. O melhor método de controle, levando-se em consideração o tempo de execução, o número de etapas para a conclusão do processo e a facilidade de execução, foi a contagem de heterotróficas.

Palavras-chave: animais selvagens; biossegurança; programas de reintrodução; saúde pública; zoológico; controle microbiológico.

ABSTRACT

The quarantine is an important control system to prevent the introduction of potentially harmful agents into the environment, the health of humans and animals; brings economic advantages, both in the maintenance of productive herd in maintaining the health of pets and humans. Enables greater security in managing populations of endangered animals. As the cornerstone of a biosecurity program to quarantine should be practiced with well-established criteria and protocols. This paper presents the results of bacteriological monitoring the critical points of the quarantine of parrots to the Veterinary Hospital of ITAIPU Binacional. With these results we conclude that the use of 1% as chlorine disinfectant performance was slightly higher compared to the use of alcohol to 70% of monopersulfate and washing with water and detergent. Fourteen spots were analyzed initially selected five to be used to implement a program of quality control for quarantines. Points: feed moist container, container of uniform, gloves and boots attendant stood out in the turbidity of the positivity of BHI, the positive isolation of microorganisms and heterotrophic bacteria count. The critical bottom cage stood out on the count of heterotrophic bacteria in relation to the objects in the quarantine, regardless of the type of treatment. We used three control methods: turbidity of the medium Brain Heart Infusion - BHI, positive sample for species of pathogenic bacteria and heterotrophic bacterial count. The best method of control, taking into account the execution time, the number of steps to complete the process and ease of execution, was the count of heterotrophic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Recinto e gaiola de quarentena para psitacídeos no hospital veterinário da ITAIPU Binacional, Foz do Iguaçu, 2010.	29
Figura 2 – Coleta de amostras realizadas na quarentena para psitacídeos no Hospital Veterinário da ITAIPU Binacional, Foz do Iguaçu, 2010.	30
Figura 3 – Contagem de bactérias heterotróficas realizada em amostras coletadas da quarentena para psitacídeos no Hospital Veterinário da ITAIPU Binacional, Foz do Iguaçu, 2010.	32
Figura 4 – Médias \pm intervalos de confianças dos controles de quarentena	36
Figura 5 – Médias \pm intervalos de confianças das semanas de quarentena	37
Figura 6 – Médias \pm intervalos de confianças dos tratamentos em relação aos controles de quarentena	38
Figura 7 – Médias \pm intervalos de confianças das formações de bactérias heterotróficas no controle de método em função dos tipos de tratamentos e objetos da quarentena	39
Figura 8 – Médias \pm intervalos de confianças das formações de bactérias heterotróficas em função dos tipos de tratamentos e objetos da quarentena	40
Figura 9 – Médias \pm intervalos de confianças das formações de bactérias heterotróficas em função dos objetos da quarentena, independente do tipo de tratamento.	41
Figura 10 – Média \pm desvio padrão das formações de bactérias heterotróficas nos objetos de quarentena de maior contaminação	41
Figura 11 – Médias \pm intervalos de confianças da positividade de bactérias BHI, Isolamento de Microorganismos e positividade de isolamento de heterotróficas em função dos objetos da quarentena.	42
Figura 12 – Dendrograma da análise de agrupamento para os tratamentos	43
Figura 13 – Diagrama de ordenação de duas funções de correspondência – tratamentos e bactérias isoladas e leveduras.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais doenças infecciosas em psitacídeos	25
Tabela 2 – Processo de higienização e desinfecção utilizado para entrada e saída na Quarentena	26
Tabela 3 - Desinfetantes utilizados, princípios ativos, indicações de uso, data de fabricação e prazo de validade dos produtos utilizados na quarentena do Hospital Veterinário da ITAIPU Binacional em Foz do Iguaçu, Paraná no período de março de 2010 a março de 2011.	28
Tabela 4 – Porcentagem de amostras positivas no teste de presença e ausência de bactérias heterotróficas nos tratamentos com água, álcool, monopersulfato e cloro.	35
Tabela 5 – Porcentagem de amostras positivas encontradas no teste de presença e ausência de crescimento no meio de cultura BHI, nos tratamentos realizados com água, álcool, monopersulfato e cloro.	35
Tabela 5 – Porcentagem de amostras positivas no teste de positividade de isolamento de bactérias nos tratamentos com água, álcool, monopersulfato e cloro.	35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Objetivo Geral	13
1.2. Objetivos Específicos	13
2. IMPORTÂNCIA DO SISTEMA DE QUARENTENA PARA ANIMAIS SILVESTRES	14
2.1. Resumo	14
2.2. Abstract	15
2.3. Introdução	16
2.4. Desenvolvimento	16
2.5. Conclusões e Recomendações	19
2.6. Referências	20
3. USO DE CONTROLE DE QUALIDADE BACTERIOLÓGICO EM PONTOS CRÍTICOS DO SISTEMA DE QUARENTENA PARA PSITACÍDEOS DO HOSPITAL VETERINÁRIO DA ITAIPU BINACIONAL, FOZ DO IGUAÇU, PARANÁ – BRASIL	22
3.1. Resumo	22
3.2. Abstract	23
3.3. Introdução	24
3.4. Material e Métodos	26
3.4.1. Coleta e transporte de amostras	30
3.4.2. Tipos de Análises	31
3.4.3. Procedimento para a Quantificação de Bactérias Heterotróficas pela técnica de <i>Pour Plate</i>	31
3.4.4. Procedimento para o teste de presença ou ausência de crescimento microbiano (bactérias e/ou leveduras)	33
3.4.5. Procedimento para o teste de presença ou ausência e identificação de Bactérias Aeróbicas	33
3.4.6. Procedimento para validação do processo de autoclavagem de materiais	33
3.4.7. Análise Estatística	34
3.5. Resultados e Discussão	34
3.6. Conclusões	44
3.7. Agradecimentos	45
3.8. Referências	46
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
5. ANEXOS	50
5.1. Aprovação do Comitê de Ética	50
5.2. Imagem aérea do Refúgio Biológico Bela Vista	51
5.3. Fluxo de Processos em programas de quarentena	52
6. VITA	53

1. INTRODUÇÃO

A preocupação com doenças transmissíveis provenientes de outras regiões, sempre colocou a humanidade em estado de alerta, principalmente os responsáveis pela saúde de uma determinada comunidade.

A importância de se estabelecer maior controle entre o trânsito de pessoas e animais de áreas naturais para o ambiente urbano ou rural cresceu em todo o mundo, como também a importância de doenças emergentes e reemergentes.

O estabelecimento de normas visando a redução ou impedimento da entrada de doenças incluiu a montagem de locais de quarentena e o isolamento de pessoas e animais doentes, visando proteger as populações de seres humanos e de animais da entrada de agentes patogênicos.

A quarentena não deve ser vista como o emprego de um "setor destinado a quarentena dos animais", ou como apenas a construção de um prédio e sim como um programa amplo de medidas profiláticas, visando a preservação da saúde dos animais, dos funcionários e dos visitantes de cada instituição.

Vários protocolos gerais para o estabelecimento de quarentenas foram desenvolvidos em diversas épocas e por diversos países. Para animais silvestres os protocolos são mais recentes, apesar da importância decorrente do fato de muitos deles virem para o cativeiro diretamente de áreas naturais com doenças infecciosas endêmicas.

Devido às características de cada espécie ou classe de animais silvestres normalmente os protocolos de quarentena são específicos para cada grupo. Durante a quarentena é necessário buscar ativamente doenças específicas ou potencialmente danosas ao homem e ao sistema produtivo de animais e plantas. Existem protocolos específicos para primatas, ungulados, psitacídeos, aves em geral, roedores e carnívoros. Nos casos inespecíficos o órgão regulador e fiscalizador devem determinar qual o melhor protocolo de quarentena e os exames em busca de diagnóstico, que devem ser seguidos.

Como etapa prévia a esta dissertação foram criados e estabelecidos protocolos de isolamento, manejo sanitário e nutricional, protocolos de entrada e saída de pessoal e insumos, protocolos de higienização e desinfecção de instalações e materiais. A partir dos protocolos foram mapeados os fluxos de trabalho, de insumos e de dejetos. Foram estabelecidos os principais pontos críticos de controle e quais controles bacteriológicos seriam utilizados para a verificação da eficácia do isolamento e dos procedimentos de higienização e desinfecção aplicando-se o Sistema Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC

Relata-se, nesta dissertação, um trabalho de pesquisa comparando a eficácia de três desinfetantes nos pontos críticos de controle existentes dentro de um Programa de Quarentena para Psitacídeos da Itaipu Binacional, em Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. O embasamento teórico foi realizado através de revisão bibliográfica em forma de capítulos, com dois trabalhos distintos. O primeiro compreende uma revisão sobre a quarentena de animais silvestres e o segundo trabalho discorre sobre a análise de crescimento bacteriano em um quarentenário de psitacídeos da Itaipu Binacional. Foi descrita a metodologia e os resultados do controle bacteriológico e da coleta nos diferentes pontos amostrais.

1.1. OBJETIVO GERAL

Comparar a eficácia de três desinfetantes em pontos críticos em Programa de Quarentena para Psitacídeos da Itaipu Binacional, por controle bacteriológico.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estabelecer, por meio da contagem de bactérias heterotróficas, contagem de culturas em BHI positivas e contagem de positividade para isolamento de bactérias, qual o melhor desinfetante utilizado no Sistema de Quarentena e detectar possíveis diferenças entre eles.

Comparar a eficácia do uso dos desinfetantes cloro ativo, álcool a 70% e monopersulfato de potássio a 1% com o uso de água e detergente e detectar possíveis diferenças entre eles.

Determinar quais são os melhores pontos críticos para monitoramento bacteriológico no sistema de quarentena estudado.

2. IMPORTÂNCIA DOS PROGRAMAS DE QUARENTENA PARA ANIMAIS SILVESTRES

2.1. RESUMO

Por se tratar da pedra angular de um programa de biossegurança, a quarentena deve ser praticada com critérios e protocolos bem estabelecidos. A quarentena representa importante sistema de controle para evitar a introdução de agentes potencialmente danosos para o ambiente, para a saúde dos seres humanos e para a saúde animal; traz vantagens econômicas, tanto na manutenção dos rebanhos produtivos como na manutenção da saúde de animais de estimação e seres humanos, permitindo uma maior segurança no manejo de populações de animais ameaçadas de extinção. Recomenda-se a implantação de protocolos de controle de qualidade dentro de uma quarentena tornando o processo mais seguro e confiável. O estabelecimento de mecanismos de monitoramento visando a redução de riscos e o estabelecimento de pontos críticos de controle são os mais importantes aspectos a serem abordados para verificar se os protocolos adotados são eficientes e são aplicados com eficácia, permitindo a correção de eventuais falhas.

Palavras-chave: animais selvagens; biossegurança; programas de reintrodução; saúde pública; zoológico.

2.2. ABSTRACT

Because it is the cornerstone of a biosecurity program, the quarantine must be practiced with well-established criteria and protocols. The quarantine is an important control system to prevent the introduction of potentially harmful agents into the environment, the health of humans and animals; brings economic advantages, both in the maintenance of productive herd in maintaining the health of pets and humans, allowing a greater safety in the management of populations of endangered animals. It is recommended the implementation of protocols for quality control within a quarantine making the process more secure and reliable. The establishment of monitoring mechanisms aimed at reducing risks and the establishment of critical control points are the most important aspects to be approached to see if the protocols used are effective and are applied effectively, allowing the correction of any flaws.

Key words: biosafety; biosecurity; public health; reintroduction programs; wild animals; zoo animals.

2.1. INTRODUÇÃO

Uma das estratégias de controle de transmissão de doenças é a utilização de Programas de Quarentena, um conjunto de medidas profiláticas e preventivas que visa a preservação da saúde de animais e seres humanos (SPZ, 2009) (SILVA E CORREIA, 2007).

A Organização Mundial de Sanidade Animal - OIE preconiza que a Estação de Quarentena é um local controlado pela Autoridade Veterinária e que mantém os animais isolados, sem nenhum contato direto ou indireto com outros animais para evitar a transmissão de agentes patogênicos de importância epidemiológica, enquanto os animais são submetidos à observação durante um período de tempo determinado e, se for preciso, a provas de diagnóstico e tratamento (OIE, 2008).

O conceito da necessidade de fazer a quarentena de animais silvestres que transitam entre instituições mantenedoras como Zoológicos e Criadouros vem sendo regulamentado em todo o mundo, mas foi somente em 1989 que a Associação Americana dos Zoológicos e Aquários, reconhecendo a importância da quarentena fez um esboço escrito de um protocolo que foi adotado em 1994 (MILLER, 1999).

A Associação Americana de Zoológicos e Aquários, por meio de seu Guia para Acreditação de Parques Zoológicos e Aquários dos Estados Unidos – AZA recomenda instalação separada para quarentena nas instituições com a finalidade de acomodar mamíferos, pássaros, répteis, anfíbios, e peixes. Os animais recentemente adquiridos devem ser isolados da coleção de animais já estabelecida, prevenindo a transmissão de doenças. Tal separação deve ser obrigatória para primatas, mamíferos de pequeno porte, pássaros, e répteis, e na medida do possível ser usada também para os mamíferos de grande porte tais como grandes ungulados, carnívoros, mamíferos marinhos, e cetáceos. Os procedimentos para quarentena devem incluir: estrutura física do quarentenário, período de quarentena, profissionais envolvidos e protocolos de procedimentos que incluem os exames a serem realizados para cada espécie animal e tratamentos preventivos como vacinações. Durante a quarentena existe a possibilidade de adequar o animal recebido ao manejo da instituição incluindo a adaptação a dietas e marcação/identificação (AZA, 2007).

2.2. DESENVOLVIMENTO

A legislação para Zoológicos e Criadouros no Brasil, estabelece a necessidade de executar a quarentena de animais silvestres, porém não existe protocolo específico para esta finalidade (BRASIL, 2002).

A Sociedade Paulista de Zoológicos, reconhecendo o grande problema de não existir legislação que especifique a quarentena exigida no item III do art. 1º da Instrução Normativa 04, de 04 de março de 2002, enviou ao IBAMA/SP e ao IBAMA/Brasília uma sugestão de um Programa de Quarentena mínimo a ser executado pelos zoológicos, destacando que a quarentena não deve ser vista como o emprego de um "setor destinado a quarentena dos animais" ou como a construção de um prédio e sim como um Programa de Quarentena, visando a preservação da saúde dos animais, funcionários e visitantes de cada instituição. (SPZ, 2009).

Por outro lado existe a possibilidade de ingresso de doenças potencialmente danosas aos sistemas produtivos de animais domésticos e sua consequente implicação socioeconômica nos locais onde isso ocorrer. Por este motivo a Organização Mundial de Sanidade Animal - OIE, mantém estreita vigilância e estabelece diretriz e protocolos para o controle do trânsito animal e sua vigilância epidemiológica em todo o mundo, incluindo neste caso também o trânsito de animais silvestres. (OIE, 2008)

No Brasil o ingresso de animais no país está a cargo do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, que observa as exigências para controlar o processo de quarentena. Cabe ao IBAMA/ICMbio a verificação da legalidade da importação de espécies silvestres, levando-se em consideração que o Brasil é signatário da Convenção Internacional para o Transporte de Espécies Silvestres, que estabelece critérios para o trânsito de animais silvestres com enfoque nas espécies ameaçadas de extinção.

Dentre as Instruções Normativas editadas pelo MAPA destaca-se a que trata da Importação de Aves Ornamentais de Gaiola, onde no anexo III especifica que nos requisitos a serem cumpridos na quarentena de destino, durante o vazio sanitário deverão ser realizados procedimentos de limpeza e desinfecção das instalações, incluindo plaqueamento para controle microbiológico do ambiente. A desinfecção das instalações deve ser realizada com produtos aprovados por este ministério (BRASIL, 2003).

Programas de quarentena, que estabelecem critérios, protocolos, instalações necessárias e exames necessários, podem ser realizados para receber ou enviar animais ao exterior ou dentro do próprio país, quando for necessário o trânsito de animais entre regiões ou instituições mantenedoras e tem como principal enfoque o impedimento da transmissão de patógenos e a proteção da saúde das populações residentes.

Atualmente os programas de quarentena para animais enviados ao exterior solicitam que estes sejam mantidos isolados e que sejam realizados exames tanto no país de origem como no país que recebe os animais. Os protocolos estabelecidos nos programas de quarentena são formulados de acordo com a espécie para a qual será realizada a quarentena. (AZA, 2007)

Observa-se que a preocupação principal durante a quarentena é a comprovação de que os animais não estejam afetados pelas principais doenças que ocorrem em cada espécie, que podem ser transmitidas entre as diferentes espécies ou que tenham importância como zoonose. Não existem, porém, critérios para determinar o grau de isolamento dos animais mantidos em quarentena durante o aguardo para a liberação ou para a condenação da entrada do animal no país ou no estabelecimento a que se destina.

Vilani (2007) descreve um Programa de Quarentena enfocando os fatores que interferem no estabelecimento de critérios para a quarentena, como informações limitadas sobre o mecanismo de transmissão de doenças infecciosas de animais selvagens para outros animais e existência de um número muito grande de espécies nativas e exóticas, o que dificulta o estabelecimento de protocolos gerais padronizados. Para minimizar a transmissão de agentes infecciosos ou parasitários o isolamento dos animais recém-chegados e um protocolo sanitário adequado deve ser seguido. Recomenda que os protocolos de quarentena devam ser estabelecidos para cada Zoológico, de acordo com sua realidade sanitária, enfermidades endêmicas da região e a origem dos animais recebidos para o período de quarentena. Deve-se levar em consideração que um animal em quarentena é um doente potencial e que os principais esforços devem ser direcionados para o diagnóstico de potenciais doenças. Nos animais que morrem durante o período de quarentena, realizar

necropsia minuciosa, incluindo a realização de exames laboratoriais visando uma determinação precisa de uma possível causa-*mortis*.

Silva e Correia (2007) ao descreverem a importância da medicina veterinária preventiva nos parques zoológicos enfatizam que o ambiente de um zoológico continua sendo propício à disseminação de doenças, muitas delas de potencial zoonótico e que a quarentena é imprescindível para impedir a disseminação de agentes patógenos e de doenças em coleções de espécies selvagens raras e muitas vezes importantes em programas de reprodução. A quarentena deve ser entendida como programa e não se limitar ao espaço físico do quarentenário, estabelecendo-se que apenas animais sadios sejam incorporados ao acervo. A estimativa do período de quarentena deve levar em consideração os períodos pré-patente no caso de parasitas, o de incubação no caso das doenças infecciosas e as práticas de biossegurança. Para o estabelecimento do programa de quarentena os itens de maior importância são: identificação do animal, definição do tempo de quarentena para a espécie, protocolos de exames clínicos, protocolo de exames laboratoriais, protocolos de vermifugações e imunizações, destinação dos resíduos sólidos e efluentes e protocolos de medidas sanitárias como vazão sanitário, desinfecção de fômites e equipamentos, escolha dos desinfetantes, controle de pragas e de animais sinantrópicos, e criação de barreiras estruturais de desinfecção. Como requisitos importantes para implantação de um programa de quarentena têm: a conscientização dos profissionais envolvidos, o estabelecimento de responsabilidades, o estabelecimento de áreas adequadas de isolamento e a utilização de protocolos de recebimento. Neste trabalho também é enfatizado que nem todos os zoológicos e criadouros possuem local específico para realizar a quarentena ou a quarentena é mantida em local inadequado. Estes fatos são apontados como pontos críticos no processo de isolamento dos animais.

Cubas (2008) descreve que o risco de doenças para a saúde de seres humanos e dos animais é muito ampliado, quando não se adotam programas de biossegurança e constata que a ausência de instalações para quarentena é uma realidade em muitos zoológicos no Brasil. Concorda que planos e procedimentos de segurança e saúde animal devem ser elaborados conforme particularidades regionais e que a implantação e manutenção desses planos requer organização e disciplina administrativa, pois existe sempre a tendência de afrouxar a aplicação dos protocolos. A introdução de doenças na criação deve ser uma preocupação constante do médico veterinário que trabalha em zoológicos, principalmente em época em que as doenças emergentes e enfermidades infecciosas de elevado risco para o agronegócio nacional, tais como a doença de Newcastle, Influenza aviária e Febre aftosa estão na agenda do governo. Desta forma não se justifica o recebimento de animais selvagens sem que estes passem por um período de quarentena dentro do quarentenário, com a realização de exames laboratoriais de admissão.

Como um fator complicador, temos a questão da reintrodução de animais em seu ambiente natural. Programas de reintrodução, de animais silvestres na natureza, visando reduzir a perda do patrimônio genético, implica algum nível de risco de transmissão de doenças (SEAL e ARMSTRONG, 2000). Para estes programas de reintrodução a Organização Mundial de Sanidade Animal – OIE apresentou em 2000, detalhado protocolo de quarentena e vigilância sanitária a ser adotado previamente à soltura de animais selvagens (WOODFORD, 2000). Nesta questão Catão-Dias (2008), destaca a importância da redução da perda de biodiversidade, que entre outros fatores pode ocorrer por epizootias devastadoras que são transmitidas entre animais domésticos e silvestres.

Levando-se em consideração a necessidade de trânsito entre as populações de animais cativas e de vida livre, Corn e Nettles (2001) desenvolveram um protocolo para redução do risco de agentes parasitários e infecciosos, dividido em cinco etapas: (1) avaliação do estado sanitário da população de origem, (2) quarentena, (3) exame físico e testes diagnósticos, (4) estabelecimento de restrições na translocação de animais de certas áreas geográficas ou populações e (5) tratamento profilático.

Silva e Correia (2007) comentam sobre dois trabalhos pioneiros de análises de fatores de risco e pontos críticos nas coleções de animais selvagens em cativeiro. O primeiro uma tese de doutorado de Silva (2001) relata sobre os fatores de risco que poderiam estar associados à ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em felídeos selvagens em cativeiro e o segundo sobre fluxograma de veiculação de patógenos e pontos de maior risco de contaminação no Zoológico de São Bernardo do Campo - SP, incluindo os agravos à saúde e avaliação do manejo empregado (GOMES, 2002). Silva (2001) recomenda mudanças no manejo da alimentação e a aquisição de equipamentos para congelamento de carnes, visando reduzir o risco de contaminação com *Toxoplasma gondii* em felídeos selvagens. Gomes (2002) conclui que é necessário o monitoramento regular da cozinha e implantou medidas preventivas que levaram a uma redução dos custos de gastos com tratamento veterinário de doenças causadas por contaminação durante o processo de manipulação de alimentos para os animais silvestres do zoológico.

2.3. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Apesar da quarentena de animais silvestres não caracterizar-se como processo produtivo ou econômico ela representa importante sistema de controle para evitar a introdução de agentes potencialmente danosos para o ambiente, para a saúde de seres humanos e animais, e para o sistema de produção de alimentos de origem animal. Nas últimas décadas, as diversas instituições e profissionais envolvidos com medicina veterinária Preventiva têm reunido esforços para propor, implantar e monitorar programas de quarentena que atendam aos mais modernos requisitos de biossegurança. Contudo os protocolos de biossegurança recomendados, incluindo o isolamento dos animais, medidas de higienização e controle de processos ainda não contemplam ações específicas para o controle de qualidade em programas de quarentena.

A confecção de fluxogramas de processos e de protocolos de controle de qualidade dentro de um protocolo de quarentena é altamente recomendável. Para a montagem destes processos e protocolos pode-se utilizar como modelos sistemas adotados em zoológicos, centros hospitalares, biotérios e empresas de processamento de alimentos de origem animal, buscando as melhores práticas utilizadas em cada um desses estabelecimentos. A partir destes modelos, protocolos específicos de controle de qualidade para protocolos de quarentena podem ser formulados, tornando o processo mais seguro e confiável. De todas estas recomendações, o estabelecimento de mecanismos de monitoramento visando a redução de riscos e o levantamento de pontos críticos são os mais importantes, pois permitem verificar se os protocolos adotados são eficientes e são aplicados com eficácia, possibilitando rapidamente a correção de eventuais falhas encontradas.

2.4. REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF ZOOS & AQUARIUMS - AZA, Recommended Quarantine Procedures, In: 2007 **Guide to Accreditation of Zoological Parks and Aquariums**, p. 16-22. 2007. Disponível em: <http://www.aza.org/Accreditation/Accred_Cert_Info/>. Acesso em: 21 abr. 2009.

BALIAN, S.C.; TELLES, E.O.; GOMES, M.S.; AZEVEDO, V.L.; SANCHEZ, S.A.; SOUZA, O.D.; GRESPAN, A.; FERREIRA, A.J.P.; PINHEIRO, S.R. Boas práticas de preparação de alimentos em um zoológico do Estado de São Paulo: Planejamento, Implementação e levantamento de custos. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v.13, n.2, p. 208-218, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 17, DE 03 DE AGOSTO DE 2010**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 15 ago. 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Instrução Normativa Nº 04, de 04 de março de 2002**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/fauna/legislacao/in_04_02.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Controle de Infecção Hospitalar. **Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde**. 2. ed. Brasília, 1994. 50 p.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde – FNS. **Curso Básico de Vigilância Epidemiológica**. 1 ed. Brasília: 2001.

CATÃO-DIAS, J.L. Biossegurança na Manipulação de Animais Silvestres: Biossegurança na reintrodução de animais silvestres na natureza. **Ciência Veterinária Tropical**, Recife, v. 11. Suplemento1, p.178-181, abr. 2008.

CORN, J.L.; NETTLES, V.F. Health protocol for translocation of free-ranging elk. **Journal of Wildlife Diseases**, v.37, n.3, p.413-426, 2001.

CUBAS, Z.S. Biossegurança na Manipulação de Animais Silvestres: Biossegurança em Zoológicos. **Ciência Veterinária Tropical**, Recife, v. 11. Suplemento1, p.174-177, abr. 2008.

GOMES, M.S. **Implantação de Medidas Profiláticas no Zoológico do Município de São Bernardo do Campo: uma análise de custo-benefício**. São Paulo, 2002. 97f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada as Zoonoses), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

MILLER, R.E. Quarantine: a necessity for Zoo and Aquarium Animals. In FOWLER, M.E.; MILLER, R.E. **Zoo & Wild Animal Medicine. Current Therapy**. 4. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999. Cap. 4, p. 13-17.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SANIDADE ANIMAL – OIE. **Puestos fronterizos y estaciones de cuarentena en el país importador**. Cap. 5.6. Código Sanitario para los Animales Terrestres. 2008. Disponível em: <http://www.oie.int/esp/normes/mcode/es_glossaire.htm#terme_station_de_quarantaine>. Acesso em: 21 abr. 2009.

RODRIGUES, A. C. A. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1948-1953, out. 2008.

SEAL, U.S; ARMISTRONG, D. Comments on the Executive Summary and recommendations. **Report of the Disease Risk Workshop**, Omaha, Nebraska, USA. Edited by International Union for Conservation of Nature/Conservation Breeding Specialist Group. p. 9-11, 2000.

SILVA, J.C.R. **Soro prevalência e Fatores de Risco Associados a Presença de Anticorpos Anti-Toxoplasma gondii em Felinos Neotrópicos do Brasil Mantidos em Cativeiro**. São Paulo, 2001. 61f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada as Zoonoses), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

SILVA, J.C.R.; CORREA, S.H.R. Manejo Sanitário e Biosseguridade. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens**: Medicina Veterinária. São Paulo: Roca, 2007. Cap. 72, p. 1226-1244.

SOCIEDADE PAULISTA DE ZOOLOGICOS - SPZ: **Programa de quarentena**. 2009 Disponível em: <<http://www.spzoo.org.br/quarentena.htm>>. Acesso em: 21 abr. 2009.

VILANI, R. G. D. C., Estrutura Hospitalar, Quarentenário e Centros de Triagem. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens**: Medicina Veterinária. São Paulo: Roca, 2007. Cap. 5, p. 33-42.

WOODFORD, M.H. **Special Survival Commission's Veterinary Specialist Group**. Office International des Epizooties – OIE, France. dec. 2000, 87p.

3. USO DE CONTROLE DE QUALIDADE BACTERIOLÓGICO EM PONTOS CRÍTICOS DO SISTEMA DE QUARENTENA PARA PSITACÍDEOS DO HOSPITAL VETERINÁRIO DA ITAIPU BINACIONAL, FOZ DO IGUAÇU, PARANÁ - BRASIL.

3.1. RESUMO

A quarentena de animais silvestres tem papel fundamental para evitar a entrada de agentes potencialmente patogênicos em coleções zoológicas, áreas naturais ou áreas de produção animal, além de representar importante agravo à saúde do ser humano no caso das zoonoses. A manutenção de uma quarentena deve levar em consideração a necessidade de controle de qualidade do processo de isolamento dos animais em quarentena procurando garantir que nenhum agente patogênico atravesse as barreiras de isolamento. O presente trabalho apresenta os resultados do monitoramento bacteriológico para os pontos críticos da quarentena para psitacídeos do Hospital Veterinário da Itaipu Binacional. Com os resultados obtidos concluímos que o uso de cloro a 1% como desinfetante apresentou desempenho ligeiramente superior em relação ao uso de álcool a 70%, monopersulfato e lavagem com água e detergente. Dos quatorze pontos críticos analisados inicialmente foram selecionados cinco para serem utilizados na implantação de um programa de controle de qualidade em programas de quarentena. Os pontos *container* de ração úmida, *container* de uniforme, luva do tratador e a bota destacaram-se na maior positividade de turvação do meio BHI, na positividade de isolamento de microrganismos e na positividade de isolamento de heterotróficas, levando-se em consideração o tipo de tratamento. O ponto crítico fundo de gaiola destacou-se na contagem de bactérias heterotróficas em função dos objetos da quarentena, independente do tipo de tratamento. Foram utilizados três métodos de controle: turvação do meio Brain Heart Infusion – BHI, positividade para bactérias patogênicas e contagem de bactérias heterotróficas. Levando-se em consideração o número de etapas para a conclusão do processo, a facilidade de execução, a economia de tempo, material de consumo e recursos humanos, o melhor método de controle foi a contagem de bactérias heterotróficas.

Palavras chaves: controle microbiológico, animais silvestres, animais selvagens, zoológico.

3.2. ABSTRACT

The quarantine of wild animals has a fundamental role to prevent the entry of potentially pathogenic agents in zoological collections, natural areas or areas of animal production, besides representing an important health problem in the case of human zoonosis. Maintaining quarantine must take into account the need for quality control of the process of isolation of animals in quarantine while ensuring that no pathogens cross the barriers of isolation. This paper presents the results of bacteriological monitoring the critical points of the quarantine to parrot the Veterinary Hospital of ITAIPU Binacional. With these results we conclude that the use of chlorine as a disinfectant to 1% a performance slightly higher than the alcohol to 70%, monopersulfate and washing with water and detergent. Of the fourteen critical points analyzed were initially selected five to be used to implement a program of quality control programs quarantine. Points container of feed wet container in uniform, gloves and boots attendant stood out the most positive turbidity of the BHI, the positive isolation of microorganisms and the positive isolation of heterotrophic, taking into consideration the type of treatment. The critical bottom cage stood out on the count of heterotrophic bacteria in relation to the objects in the quarantine, regardless of the type of treatment. We used three control methods: turbidity of the medium Brain Heart Infusion - BHI, positive for pathogenic bacteria and heterotrophic bacterial count. Taking into account the number of steps to complete the process, ease of implementation, the time savings, supplies and human resources, the best method of control was the count of heterotrophic bacteria.

Key words: microbiological control, wild animals, wildlife, zoo.

3.3. INTRODUÇÃO

Animais selvagens recebidos em instituições como Zoológicos e Criadouros devem passar por um período de quarentena com a realização de exames admissionais (CUBAS, 2008). Segundo Catão-Dias (2008) a propagação (reprodução) em cativeiro representa um componente muitas vezes imprescindível para a sobrevivência de determinada espécie animal, citando como exemplo a ararinha-azul (*Cyanopsitta spixii*) e mutum-das-Alagoas (*Mitu mitu*), que tem o cativeiro como última fronteira antes da completa extinção.

Programas de criação em cativeiro e programas de reintrodução trazem como consequência o constante movimento de animais silvestres dentro e fora do país e entre as instituições mantenedoras na manutenção de um programa de reprodução que visa maior diversidade genética possível entre as populações manejadas. Este trabalho exige a observação de protocolos de quarentena que são utilizados principalmente para impedir a entrada de agentes patogênicos em um plantel estabelecido em cativeiro ou a introdução de doenças em regiões naturais, agrícolas ou urbanas comprometendo a saúde de animais domésticos e de pessoas, além de comprometer a produção animal e a economia da região envolvida (CATÃO-DIAS, 2008) (CUBAS, 2008) (SILVA e CORREA, 2007).

Em 2007, antes da reativação do quarentenário de Cananéia, a pedido do IBAMA, o hospital veterinário da Itaipu Binacional executou a quarentena de um exemplar de ararinha-azul (*Cyanopsitta spixii*) proveniente da Alemanha que ingressaria no país para participar do programa de reprodução em cativeiro. Este programa procura evitar a extinção da espécie. O protocolo de quarentena estabelecido para este animal constou dos seguintes passos: isolamento externo da área de quarentena, inativação dos rejeitos sólidos por autoclavagem, tratamento do esgoto gerado pelo sistema, coleta de material biológico para diagnóstico de *Mycoplasma* sp. e *Salmonella* sp., exames parasitológicos, protocolo de entrada e saída de pessoal e de alimento, higienização e desinfecção de materiais e superfícies durante o período de quarentena.

Após a realização da quarentena desta ave levantou-se a necessidade de estabelecer um protocolo de verificação da qualidade do isolamento em sistemas de quarentena, já que na época pouca atenção foi dada ao controle de qualidade do processo e do isolamento utilizados no Programa de Quarentena para Psitacídeos do Hospital Veterinário da ITAIPU Binacional.

Os protocolos de quarentena são procedimentos utilizados com dois objetivos principais: manter o isolamento de animais durante um período suficiente para permitir a manifestação de possíveis doenças infecciosas que se encontram no período de incubação e coletar amostras para detecção de prováveis agentes patogênicos. Os animais devem permanecer em quarentena até que os resultados sejam divulgados. Nos casos negativos os animais são liberados e nos casos positivos, dependendo da doença, os animais podem ser tratados, repatriados ou até mesmo eliminados, caso a doença seja potencialmente virulenta e agressiva.

O Ministério de Agricultura e Produção Animal - MAPA estabelece protocolos para o funcionamento de um quarentenário, determinando o zoneamento da unidade operacional, o uso de uma quarentena específica para aves; com protocolos de entrada e saída de pessoal; protocolos de limpeza; desinfecção de superfícies; esterilização de dejetos; tratamento de efluentes; uso de equipamento de proteção individual (EPI), por parte dos tratadores e veterinários; exames a serem efetuados; períodos a serem cumpridos; alimentação e atendimento aos animais em quarentena. Este sistema é utilizado para aves e em especial para psitacídeos que ingressam no país. (BRASIL, 2010)

As principais doenças infecciosas que ocorrem em psitacídeos, sumarizada na TABELA 1, de acordo com Godoi (2007), tem origem viral, bacteriana, micótica e parasitária. Silva e Correia (2007) recomendam a pesquisa de *Salmonella* spp. para psitacídeos como parte do programa de quarentena. Vilani (2007) recomenda além da pesquisa de *Salmonella* spp. também a pesquisa de *Clamidia psitaci*.

TABELA 1: Principais doenças infecciosas em psitacídeos

<i>Doenças Virais</i>	<i>Doenças Bacterianas</i>	<i>Doenças Micóticas</i>	<i>Doenças Parasitárias</i>
Doença de Pacheco	Colibacilose	Aspergilose	Capilariose
Traqueite Infecciosa	Salmonelose	Candidíase	Ascaridiose
Poliomaviose	<i>Klebsiela</i> spp.	Megabactéria	Cestódeos
Papilomaviose	<i>Bordetela</i> spp.		Coccidiose
Circoviose	<i>Citrobacter freundii</i>		Sarcosporidiose
Paramixoviose	<i>Pseudomonas</i> spp.		Criptosporidiose
Adenoviose	Tuberculose aviária		Giardíase
Poxviose	Psitacose		Tricomoníase
Síndrome da dilatação do proventrículo	Estafilococose		
	Estreptococose		
	Enterococose		

FONTE: Sumarizado de Godoi (2007).

Foram criados e estabelecidos protocolos de isolamento, manejo sanitário e nutricional, protocolos de entrada e saída de pessoal e insumos, protocolos de higienização e desinfecção de instalações e materiais. A partir dos protocolos foram mapeados os fluxos de trabalho, de insumos e de dejetos. Foram estabelecidos os principais pontos críticos de controle e quais controles bacteriológicos seriam utilizados para a verificação da eficácia do isolamento e dos procedimentos de higienização e desinfecção aplicando-se o Sistema Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC de acordo com o Guia de elaboração do Plano APPCC (SENAC, 2001).

A desinfecção prévia, realizada com água, sabão e ação mecânica, potencializa as ações dos desinfetantes por permitir por si só, uma redução considerável dos microrganismos presentes, além de eliminar completamente a matéria orgânica presente no material contaminado (SOUZA, 1998); sendo este o motivo da utilização da água com sabão como um dos descontaminantes neste trabalho. O álcool etílico a 70% é o mais empregado no Brasil, como desinfetante e também na descontaminação de superfície de bancada, de fluxo laminar, equipamentos de grande e médio porte, para antisepsia das mãos e de muitos equipamentos de uso hospitalar (BRASIL, 1994; HIRATA e FILHO, 2008). Os compostos liberadores de cloro ativo têm uma ampla aplicação em diversas áreas. São apropriados para desinfecção em geral de objetos e superfícies inanimadas, inclusive as contaminadas com matéria orgânica, são ainda recomendados para uma variedade de finalidades, entre elas desinfecção de água

para o consumo humano e para processos industriais, águas de piscinas, alimentos e superfícies relacionadas (HIRATA e FILHO, 2008). O Monopersulfato de Potássio (MPSK) tem ação rápida, matando 99,999% dos microorganismos mesmo na presença de matéria orgânica (B. BRAUN, 2010).

O objetivo desse estudo é apresentar os resultados do monitoramento bacteriológico desenvolvido para os pontos críticos estabelecidos para o Sistema de Quarentena para psitacídeos do Hospital Veterinário da Itaipu Binacional realizado no período de março de 2010 a março de 2011.

Não foi objetivo deste trabalho a realização de diagnóstico de doenças infecciosas nos psitacídeos utilizados no processo de quarentena. Tendo como base a tabela 1 convém ressaltar que não foi realizada pesquisa de agentes infecciosos virais e parasitários. A pesquisa de bactérias patogênicas nas amostras ambientais e no *swab* de cloaca e orofaringe excluiu *Clamidia* sp., *Bordetela* spp. e *Micoplasma* spp. Das doenças infecciosas micóticas somente a presença de leveduras foi relatada a partir da leitura de amostras coradas com a coloração de Gram.

3.4. MATERIAL E MÉTODOS

Os animais utilizados para esta pesquisa foram quatro exemplares de ararinha-maracanã (*Propyrrhura macacana*) e um exemplar de papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*), recebidos de apreensões ou provenientes de outras instituições e que necessitavam passar pelo processo de quarentena para ingressar na Itaipu Binacional e foram alojados no Hospital Veterinário localizado no Refúgio Biológico Bela Vista (RBV), situado dentro da área da Usina Hidrelétrica Itaipu Binacional, localizada em Foz do Iguaçu, estado do Paraná, na região sul do Brasil (25°32'45"S, 54°35'07"W). As estruturas utilizadas foram: sala de internação especial (com box de internação e corredor de manejo que funcionou como sala de quarentena), vestiário, setor de nutrição do Hospital Veterinário, setor de lavagem de materiais e inativação de patógenos e setor de esterilização de materiais.

Os animais foram isolados individualmente em gaiola metálica com medidas de 1,2 x 0,5 x 0,7 metros, contendo poleiros de madeira, comedouros de aço inox, sendo um para alimentos secos e um para frutas e verduras e um bebedouro plástico de tamanho suficiente para a dessedentação e eventual banho. Para reduzir o uso de novos animais optou-se por sistema de revezamento, estendendo-se a permanência dos animais no Hospital Veterinário até o término do experimento. Os animais entraram no Sistema de Quarentena e participaram no mínimo em duas repetições e no máximo em três repetições realizadas com intervalo mínimo de dois meses entre repetições, onde permaneciam isolados em quarentena por cinco dias em cada uma. A sala principal, onde foi colocada a gaiola, possui sistema de exaustão de ar, abastecimento com água tratada, sistema de esgoto, drenagem de efluentes e sistema de coleta seletiva de lixo hospitalar.

A alimentação dos animais foi dividida em duas frações: como ração seca utilizou-se Ração para Papagaios e Araras - Psita Sticks (1); a ração úmida foi preparada no setor de nutrição do Hospital Veterinário, fracionando-se laranja, mamão, banana, cenoura, beterraba e girassol. A alimentação dos animais não foi alterada durante o experimento.

Considerou-se como equipamentos e insumos utilizados na área interna da quarentena: balde de aço inox, esponja de nylon, pano, vasilha para detergente líquido de plástico, vasilha para desinfetante de plástico, esfregão, gaiola, tanque de lavagem de

(1) Alcon Eco Club, pacote de 700 gramas

materiais de aço inox, mangueira de água de plástico, mesa de apoio de aço inox, vasilha de ração seca de plástico, vasilha para esponja de plástico, papel toalha.

Considerou-se como equipamentos e insumos que entraram e saíram diariamente da quarentena: vasilha de alimentos úmidos de plástico, *container* para uniformes e toalha de banho de plástico, uniforme tratador, toalha de banho.

O processo de higienização e desinfecção utilizado para entrada e saída na Quarentena esta sumarizado na TABELA 2.

TABELA 2: Processo de higienização e desinfecção utilizados para entrada e saída da quarentena para psitacídeos realizada no Hospital Veterinário da ITAIPU Binacional, durante o período de março de 2009 a março de 2010.

Período	Preparo da Quarentena	Tratador (diário)	Alimentos (diário)	Uniforme e toalha de banho (diário)	Resíduos Sólidos (diário)
Entrada	Lavagem, higienização e desinfecção dos insumos e instalações, quando for o caso	Retirada da roupa na entrada do vestiário, Banho, vestir uniforme e luvas de procedimento	Processado no Setor de Nutrição e transportado em vasilha higienização e desinfecção quando for o caso	Lavados e esterilizados em autoclave e transportados em <i>container</i> higienização e desinfecção quando for o caso	
Saída	Lavagem, higienização e desinfecção dos insumos e instalações, quando for o caso	Retirar e higienizar e desinfetar botas, Descartar luvas de procedimento, retirar uniforme, Banho, colocar roupa na saída do vestiário	Sobras recolhidas e saco para autoclavagem e vasilha higienização e desinfecção quando for o caso	transportados em <i>container</i> higienização e desinfecção quando for o caso Encaminhados para lavagem e esterilização.	recolhidos em saco para autoclavagem

FONTE: O autor (2011)

Dos equipamentos e insumos utilizados na área interna e dos que saíram e entraram diariamente da quarentena, foram escolhidos como pontos críticos a serem monitorados os seguintes materiais: vasilha para água, vasilha para alimento, grade lateral da gaiola, fundo da gaiola, *container* ração seca, balde para lavagem, pano, esponja, bico da vasilha de detergente, esfregão, *container* da ração úmida, container do uniforme do tratador, luva de procedimentos do tratador, bota do tratador, num total de 14 itens.

Foram executados dois controles dentro do escopo do presente trabalho: controle de método e controle do tratamento. Entende-se como controle de método o controle das possíveis fontes de contaminação do processo de quarentena a partir da pesquisa microbiológica executadas nos seguintes pontos: a mão do tratador (após a retirada da luva na saída do tratador da quarentena, conforme relatado na tabela 2), a ração seca e a ração úmida, representando a contaminação externa; *swab* de orofaringe e cloaca representando a contaminação interna, proveniente do animal em quarentena. Entende-se como controle do tratamento a coleta de amostras antes do processo de higienização e desinfecção para

verificar se ocorreu a redução da contaminação. O controle de tratamento foi executado nos seguintes pontos: grade lateral da gaiola e fundo da gaiola.

No presente trabalho foram utilizados como tratamentos, dentro do processo de desinfecção, água e detergente, álcool a 70%, monopersulfato de potássio e cloro ativo a 1%, de um mesmo lote, conforme especificações da TABELA 3. Utilizou-se o tempo mínimo recomendado de contato para desinfetantes de uso geral de 10 minutos conforme recomendado pela ANVISA (BRASIL, 2007), antes de coletar as amostras.

TABELA 3: Desinfetantes utilizados, princípios ativos, indicações de uso, data de fabricação e prazo de validade dos produtos utilizados na quarentena do Hospital Veterinário da ITAIPU Binacional em Foz do Iguaçu, Paraná no período de março de 2010 a março de 2011.

Produto	Princípios Ativos	Princípio Ativo no Produto	Indicações	Concentração do Princípio Ativo no Teste %	Data de Fabricação	Data de Validade	Lote
1	Álcool Etfílico	92,8°	Diluição recomendada para antissepsia de mãos e desinfecção de superfícies.	70% Álcool Etfílico	Junho/2009	Junho/2012	02/06/9
2	Cloro Ativo	2 – 2,5 p/v	Limpeza e desinfecção doméstica e hospitalar.	1% Cloro Ativo	Julho/2010	Janeiro/2011	010
3	MPSK	49,4 %	Desinfecção de superfícies fixas.	1% MPSK	Junho/2008	Junho/2011	08060127

FONTE: O autor (2011)

Todo os processos de manipulação dos animais em quarentena, higienização e desinfecção de superfícies, autoclavagem de dejetos e coleta de amostras foram realizados pelo autor do presente trabalho, visando reduzir possíveis variáveis nos tratamentos realizados (FIGURA 1)



FIGURA 1 – RECINTO E GAIOLA DE QUARENTENA PARA PSITACÍDEOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA ITAIPU BINACIONAL, FOZ DO IGUAÇU, 2010.
A: HIGIENIZAÇÃO DO FUNDO DA GAIOLA. B: HIGIENIZAÇÃO DA GRADE DA GAIOLA

FONTE: Marchetti (2010)

O clima predominante em Foz do Iguaçu é subtropical úmido, podendo atingir no verão temperatura superior a 40°C e no inverno chegar a uma temperatura abaixo dos 5°C. Neste trabalho não foram controladas as alterações de temperatura e umidade ao longo das estações do ano.

O Hospital Veterinário está incluído em um Programa de Controle de Pragas e Vetores realizado pela Itaipu binacional em suas instalações. Medidas para evitar a entrada de insetos e roedores na área de quarentena fazem parte do Programa.

3.4.1. COLETA E TRANSPORTE DE AMOSTRAS

Observou-se os procedimentos convencionais recomendados pela ANVISA (BRASIL, 2004) para a obtenção das amostras e para a realização de exames bacteriológicos, assim sendo utilizou-se equipamentos de proteção individual - EPIs (luvas de procedimento e jalecos) para evitar a contaminação por agentes biológicos. Nos animais realizou-se a contenção física com a ajuda de luvas de couro para a coleta de amostras de sangue e *swabs* de orofaringe e cloaca. A ração seca semanalmente foi transferida da embalagem original para um container de ração seca, que ficava disponível na quarentena para a retirada diária da porção a ser oferecida ao psitacídeo, amostras desta ração foram coletadas em frasco estéril e encaminhada ao Laboratório Ambiental para processamento. A coleta de amostras ambientais superficiais como luva, bico do detergente, balde, etc., foi realizada com swab seco passado na superfície do material a ser analisado (FIGURA 2). A coleta de amostras foi distribuída em 16 semanas aleatórias, entre março de 2010 e março de 2011. Realizou-se as análises no Laboratório Ambiental-Itaipu Binacional, Foz do Iguaçu-Paraná – Brasil. Manipulou-se as amostras em cabine de fluxo laminar, marca TROX TECHNIK, CURITIBA, BR, tipo vertical, classe II (A), série FLV-M-biológica. Realizou-se um estudo piloto para a padronização de técnicas e procedimentos.

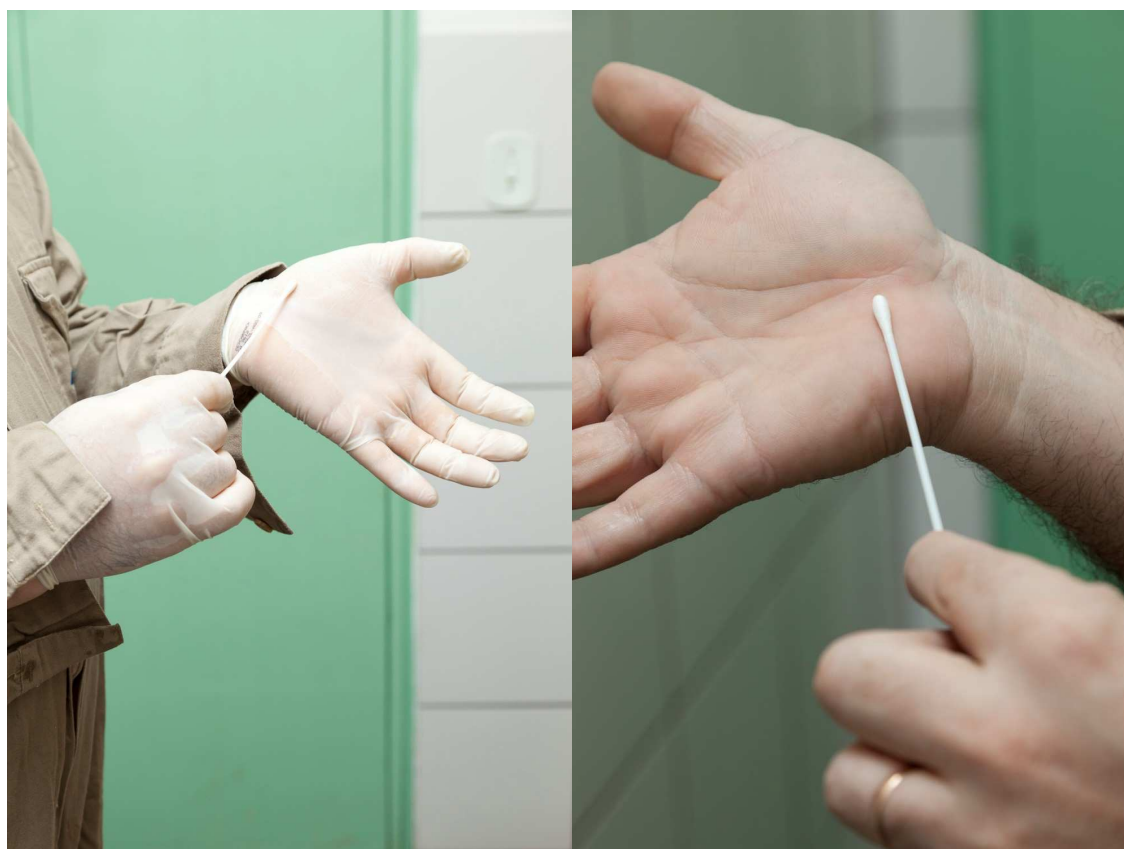


FIGURA 2 – COLETA DE AMOSTRAS REALIZADAS NA QUARENTENA PARA PSITACÍDEOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA ITAIPU BINACIONAL, FOZ DO IGUAÇU, 2010.
A: LUVA DO TRATADOR. B: MÃO DO TRATADOR

FONTE: Marchetti (2010)

3.4.2 TIPOS DE ANÁLISES

Realizou-se para cada amostra as seguintes análises: teste de presença/ ausência e quantificação de bactérias heterotróficas, teste de presença ou ausência de crescimento microbiano (bactérias e/ou leveduras). Utilizou-se a média aritmética das amostras em triplicata para o tratamento estatístico. Para o teste de presença ou ausência e identificação de Bactérias Aeróbicas, utilizou-se as amostras positivas do teste de presença ou ausência de crescimento microbiano (SANTOS,1999).

3.4.3 PROCEDIMENTOS PARA A QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS PELA TÉCNICA DE *POUR PLATE*

Para as amostras líquidas utilizou-se 100 µL para semeadura. Para as amostra sólidas de superfície pesou-se os *swabs* antes e após a coleta para verificar o peso, colocando-se o *swab* em 5 ml de água deionizada estéril. Para as amostras sólidas (ração seca), pesou-se um valor próximo a um grama e adicionou-se 20 ml de água deionizada estéril. Após a diluição das amostras na água aguardou-se no mínimo 1 hora em repouso. Homogeneizou-se e retirou-se uma alíquota de 50 µL e 100 µL da amostra respectivamente para realização da análise. Semeou-se as alíquotas em Plate Count Agar, marca OXOID, HAMPSHIRE, UK, validade dez. 2012 (FIGURA 3A). Incubou-se em aerobiose em estufa bacteriológica a $35 \pm 0,5^\circ \text{C}$, por 48 horas. As placas foram inicialmente classificadas como presença/ ausência de bactérias heterotróficas. Contou-se as colônias de bactérias heterotróficas das placas positivas em um contador de colônias tipo Quebec (FIGURA 3B). O resultado para amostras líquidas foi expresso em unidades formadoras de colônias de bactérias heterotróficas por mililitro (UFC/ml) e para amostras sólidas em unidades formadoras de colônias de bactérias heterotróficas por grama (UFC/g) (CETESB,1993), (CETESB, 1997), (SANTOS,1999).

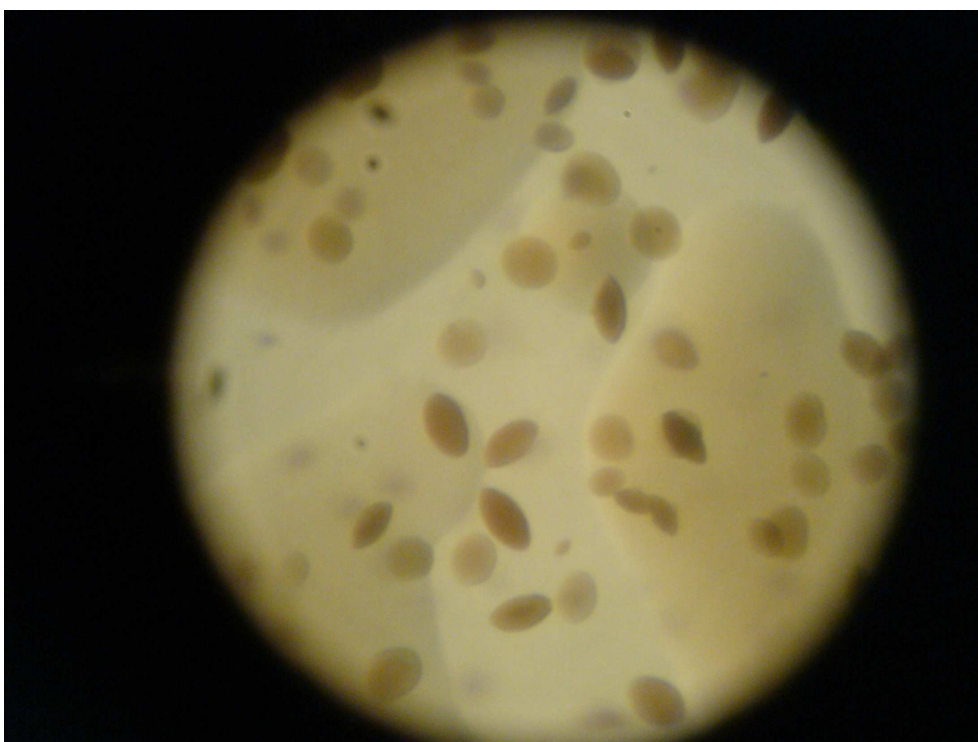
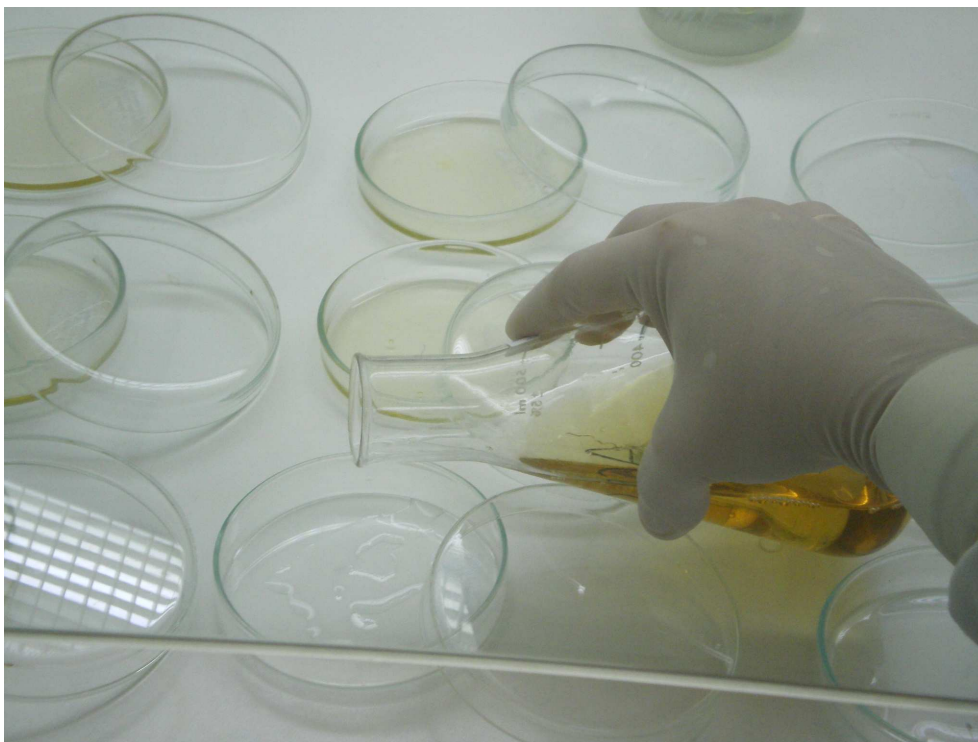


FIGURA 3 – CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS REALIZADA EM AMOSTRAS COLETADAS DA QUARENTENA PARA PSITACÍDEOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA ITAIPU BINACIONAL, FOZ DO IGUAÇU , 2010.

A: PLAQUEAMENTO DA AMOSTRA EM MEIO ACP. B: VISUALIZAÇÃO DE COLONIAS DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS EM CONTADOR DE COLONIAS TIPO QUEBEC - AUMENTO DE 100 X.

FONTE: Marchetti (2010)

3.4.4 PROCEDIMENTO PARA O TESTE DE PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE CRESCIMENTO MICROBIANO (BACTÉRIAS E LEVEDURAS)

Utilizou-se 100 µL da amostra líquida ou da amostra sólida diluída e 50µL da amostra sólida superficial diluída. Semeou-se no meio Brain Heart Infusion - BHI, marca DIFCO, LAURENCE, USA, validade jan. 2012. Incubou-se em aerobiose em estufa bacteriológica a $35 \pm 0,5^\circ \text{C}$, por 24 – 48 horas. Os tubos que apresentaram turvação do meio, comparadas visualmente com um tubo de meio não inoculado, foram classificados como positivos para a presença de crescimento microbiano. Os tubos que não apresentaram turvação do meio foram considerados negativos (SANTOS, 1999).

3.4.5 PROCEDIMENTO PARA O TESTE DE PRESENÇA OU AUSÊNCIA E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS AERÓBICAS

Utilizou-se as amostras positivas do teste anterior procedendo-se a identificação para bactérias Gram negativas e Gram positivas, pela coloração de Gram (SANTOS, 1999). Na bacteriologia empregou-se os seguintes meios de cultura: Agar Mac Conkey marca DIFCO, LAURENCE, USA, validade nov. 2011; Agar Pseudomonas marca OXOID, HAMPSHIRE, UK, validade set. 2011; Agar SS – Salmonella e Shigella marca BD, FRANKLIN LAKES, USA, validade dez. 2011; Agar Manitol - Mannitol salt agar, marca BBL, MARYLAND, USA, validade nov. 2011. Na identificação de bactérias Gram negativas fermentadoras utilizou-se as provas bioquímicas contidas no meio de Rugai com Lisina, marca NEWPROV, PINHAIS, BR, validade maio 2011 *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th ed. (21) Santos 1999, e na identificação de cocos Gram positivos empregou-se as provas de Manitol, Catalase e Sorotipagem para *S. aureus* marca LABORCLIN, PINHAIS, BR, validade abril. 2011 (SANTOS, 1999).

3.4.6 PROCEDIMENTO PARA A VALIDAÇÃO DO PROCESSO DE AUTOCLAVAGEM DE MATERIAIS

As toalhas de banho e uniformes foram autoclavados, após lavagem, assim como os resíduos sólidos provenientes do processo de higienização da Quarentena. Foram colocados junto ao material autoclavado envelopes contendo esporos de *Bacillus stearo-thermophilus*, que após o procedimento foram incubados em caldo de BHI por 7 dias em banho-maria a 57°C (SANTOS, 1999).

Como controle positivo utilizou-se as amostras de cloaca e orofaringe dos animais em quarentena; ração seca e ração úmida; grade da gaiola e fundo da gaiola antes dos procedimentos de higienização e desinfecção. Como controle negativo em todos os procedimentos de análise incubou-se junto com as amostras, um tubo contendo BHI e água deionizada estéril.

3.4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes às bactérias heterotróficas foram transformados por meio da função $f(x) = 1 + \log$ (heterotróficas) para obtenção da distribuição normal dos dados.

Os valores referentes às bactérias heterotróficas obtidos no controle de qualidade da quarentena (Controles de Método, Controle de Tratamento e Tratamentos) foram comparados por meio do teste ANOVA-fator único.

Os dados referentes às semanas de quarentena (1^a, 2^a, 3^a e 4^a) foram também comparados por meio do teste ANOVA-fator único.

O cruzamento dos dados de formações de heterotróficas em relação ao tipo de tratamento (desinfetantes) e o controle de qualidade da quarentena foi realizado por meio do teste ANOVA-fator duplo.

Cada tipo de controle de qualidade da quarentena foi comparado quanto às formações de bactérias heterotróficas e os objetos avaliados na quarentena. Esta comparação foi realizada por meio do teste ANOVA-fator único.

O número de formações de bactérias heterotróficas entre os objetos da quarentena foi comparado por meio do teste ANOVA-fator único, independente do tipo de tratamento realizado.

Os dados referentes às bactérias e leveduras isoladas nos tratamentos (água, álcool, monopersulfato e cloro) foram avaliados por meio da análise de cluster aglomerativa hierárquica, utilizando dissimilaridade por meio da Distância Euclidiana e método Ward para aglomeração em dendrogramas. A interpretação dos dendrogramas indica que quanto mais próximo a zero o valor de dissimilaridade, maior a similaridade entre as amostras.

Além disso, foram realizadas as correspondências das espécies de bactérias e leveduras isoladas em relação aos tratamentos por meio da análise multivariada de correspondência, realizando o teste de independência por meio do teste de Qui-quadrado.

Em todos os testes foi utilizado o nível de significância de 0,05.

3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Processou-se 568 amostras relativas aos tratamentos de desinfecção, 48 amostras de controle de tratamento e 126 amostras de controle de método, totalizando 742 amostras. Estas amostras foram manipuladas em triplicata, totalizando 2226 amostras. Foram executados os teste de presença/ ausência e quantificação de bactérias heterotróficas, teste de presença ou ausência de crescimento microbiano (bactérias e/ou leveduras), totalizando para estes dois tipos de exames 4452 análises.

Os resultados encontrados no teste de presença/ ausência de bactérias heterotróficas, no teste de presença/ ausência de crescimento no meio de cultura BHI e no teste de positividade de isolamento de bactérias estão representados respectivamente nas Tabelas 3, 4 e 5.

TABELA 4 – Porcentagem de amostras positivas para o teste de presença e ausência de bactérias heterotróficas nos tratamentos com água, álcool, monopersulfato e cloro, realizados na quarentena do Hospital Veterinário da ITAIPU Binacional de março de 2010 a março de 2011.

	ÁGUA	ÁLCOOL	MONOPERSULFATO	CLORO
Total de Amostras	140	140	144	144
Amostras positivas	62	83	64	48
Porcentagem de amostras positivas	44,29%	59,29%	44,44%	33,33%

FONTE: O autor (2011)

TABELA 5 – Porcentagem de amostras positivas encontradas no teste de presença e ausência de crescimento no meio de cultura BHI, nos tratamentos realizados com água, álcool, monopersulfato e cloro, realizados na quarentena do Hospital Veterinário da ITAIPU Binacional de março de 2010 a março de 2011.

	ÁGUA	ÁLCOOL	MONOPERSULFATO	CLORO
Total de Amostras	140	140	144	144
Amostras positivas	60	65	56	34
Porcentagem de amostras positivas	42,86%	45,71%	38,89%	23,61%

FONTE: O autor (2011)

TABELA 6 – PORCENTAGEM DE AMOSTRAS POSITIVAS NO TESTE DE POSITIVIDADE DE ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS NOS TRATAMENTOS COM ÁGUA, ÁLCOOL, MONOPERSULFATO E CLORO REALIZADO NA QUARENTENA DO HOSPITAL VETERINÁRIO DA ITAIPU BINACIONAL DE MARÇO DE 2010 A MARÇO DE 2011

	ÁGUA	ÁLCOOL	MONOPERSULFATO	CLORO
Total de Amostras	140	140	144	144
Amostras positivas	56	55	52	30
Porcentagem de amostras positivas	40,00%	38,19%	36,11%	20,83%

FONTE: O autor (2011)

Verificou-se que em todos os resultados representados nas Tabelas 1, 2 e 3, o tratamento com cloro foi o que obteve a menor porcentagem de amostras positivas, o que é

desejável, mostrando que este produto promove uma redução da carga bacteriana maior do que a dos outros tratamentos.

Todas as análises dos materiais autoclavados tiveram resultados negativos. Considerou-se que a autoclavagem atingiu o objetivo de descontaminação dos objetos analisados.

Foi possível verificar que houve diferenças estatísticas significativas entre os controles de quarentena ($F_{2,737}=60,371$; $p=0,00$), sendo que todas as amostras foram consideradas estatisticamente diferentes entre si. A maior média foi obtida no controle de tratamento ($6,63 \pm 2,67$ intervalos de confiança), seguida do controle de método ($5,38 \pm 2,82$ intervalos de confiança) e por fim, os menores valores obtidos nos tratamentos ($3,26 \pm 2,62$ intervalos de confiança) (Fig. 4). Este dado está de acordo com a proposta de que os tratamentos reduzissem a carga bacteriana dos materiais higienizados e desinfetados.

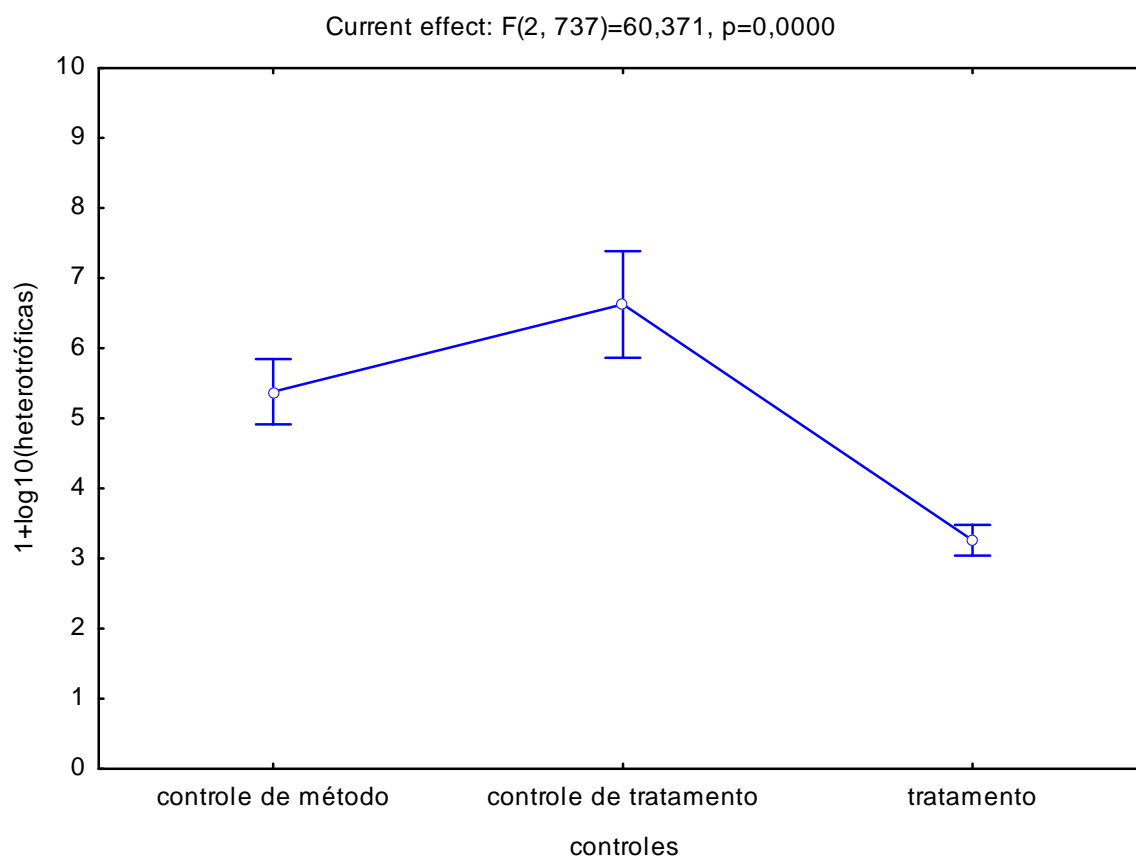


Figura 4 – Médias \pm intervalos de confiança dos controles de quarentena

Ao comparar as médias do crescimento de bactérias heterotróficas ao longo das semanas de quarentena, também foi possível verificar a existência de diferenças estatísticas significativas ($F_{3, 736}=7,4896$; $p=0,00006$). Na primeira semana de quarentena foram observados os maiores valores de heterotróficas ($4,51 \pm 2,89$ intervalos de confiança), sendo esta média equivalente à segunda semana ($4,04 \pm 3,01$ intervalos de confiança) ($p<0,05$). Na terceira semana de quarentena, observa-se a queda significativa da média das formações de bactérias ($3,15 \pm 2,70$ intervalos de confiança) em relação à primeira semana ($p<0,05$). A quarta semana apresentou uma média ($3,72 \pm 2,69$ intervalos de confiança) estatisticamente equivalente à segunda e à terceira semana ($p>0,05$) (Fig. 5). Não foram encontradas

justificativas para esta diferença, podendo ser admitidas a hipótese de influência climática, que permaneceu inconclusiva em função de não ter sido testada no presente trabalho.

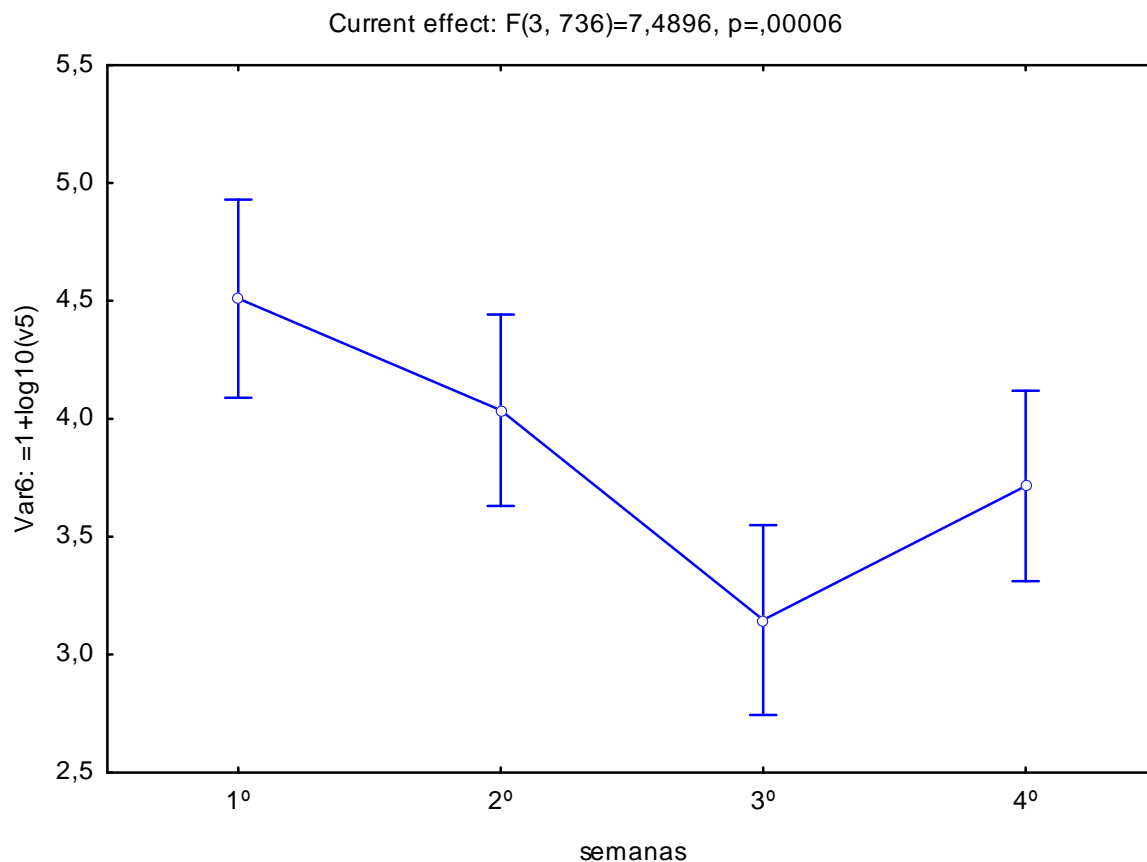


Figura 5 – Médias \pm intervalo de confiança das semanas de quarentena.

Houve diferenças estatísticas significativas entre os controles de quarentena em cada um dos diferentes tratamentos. Contudo, vale ressaltar que o conjunto dos cruzamentos apresentou comportamento semelhante ($F_{3, 736}=7,4896; p=0,00006$).

Ao avaliar o tratamento com água, verificou-se que as médias dos tratamentos \pm intervalos de confiança são significativamente menores ($3,25 \pm 2,67$) do que os controles de método ($5,32 \pm 2,92$) e controles de tratamento ($6,19 \pm 3,07$) ($p<0,05$). Já estes dois últimos mostraram-se equivalentes entre si ($p>0,05$). Este mesmo comportamento foi observado para o tratamento com álcool e cloro, sendo que a média de tratamento de álcool \pm intervalos de confiança foi de $4,13 \pm 2,77$, o controle de método, $5,70 \pm 2,76$ e controle de tratamento, $7,23 \pm 2,84$; No tratamento com cloro, o valor da média de tratamento foi $2,57 \pm 2,27$, o controle de método $5,31 \pm 2,91$ e controle de tratamento $6,34 \pm 2,33$ (FIG. 3).

No tratamento com monopersulfato, todos os controles de quarentena se mostraram diferentes entre si ($p<0,05$), sendo que a média \pm intervalos de confiança obtida durante o tratamento foi de $3,14 \pm 2,54$, o controle de método $5,19 \pm 2,80$ e controle de tratamento $7,57 \pm 1,34$ (Fig. 6).

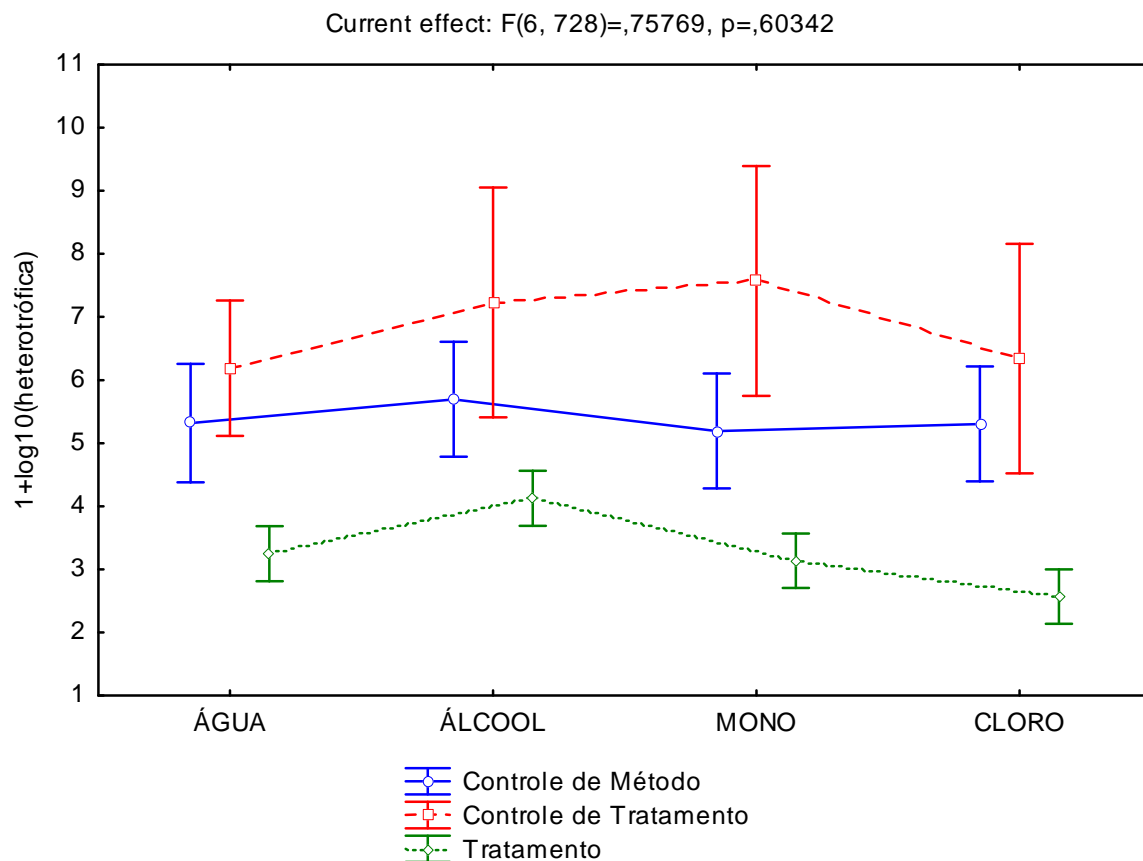


Figura 6 – Médias \pm intervalos de confiança dos tratamentos em relação aos controles de quarentena

Em relação ao controle de método, o número de formações médias de bactérias heterotróficas nos objetos da quarentena seguiu um mesmo padrão quando comparados aos desinfetantes ($F_{6, 114}=0,41712, p=0,86636$). Contudo, entre os objetos foi possível identificar algumas diferenças significativas, sendo possível concluir que a ração úmida apresenta os maiores valores médios \pm intervalos de confiança de bactérias heterotróficas, independente do tipo de desinfecção (água – $8,70 \pm 1,26$; álcool – $8,36 \pm 1,02$; monopersulfato – $8,50 \pm 0,91$; cloro – $8,68 \pm 0,87$) (Fig. 7). Estes dados eram esperados pois a ração úmida foi a que sofreu maior manipulação durante sua elaboração, ampliando a possibilidade de contaminação.

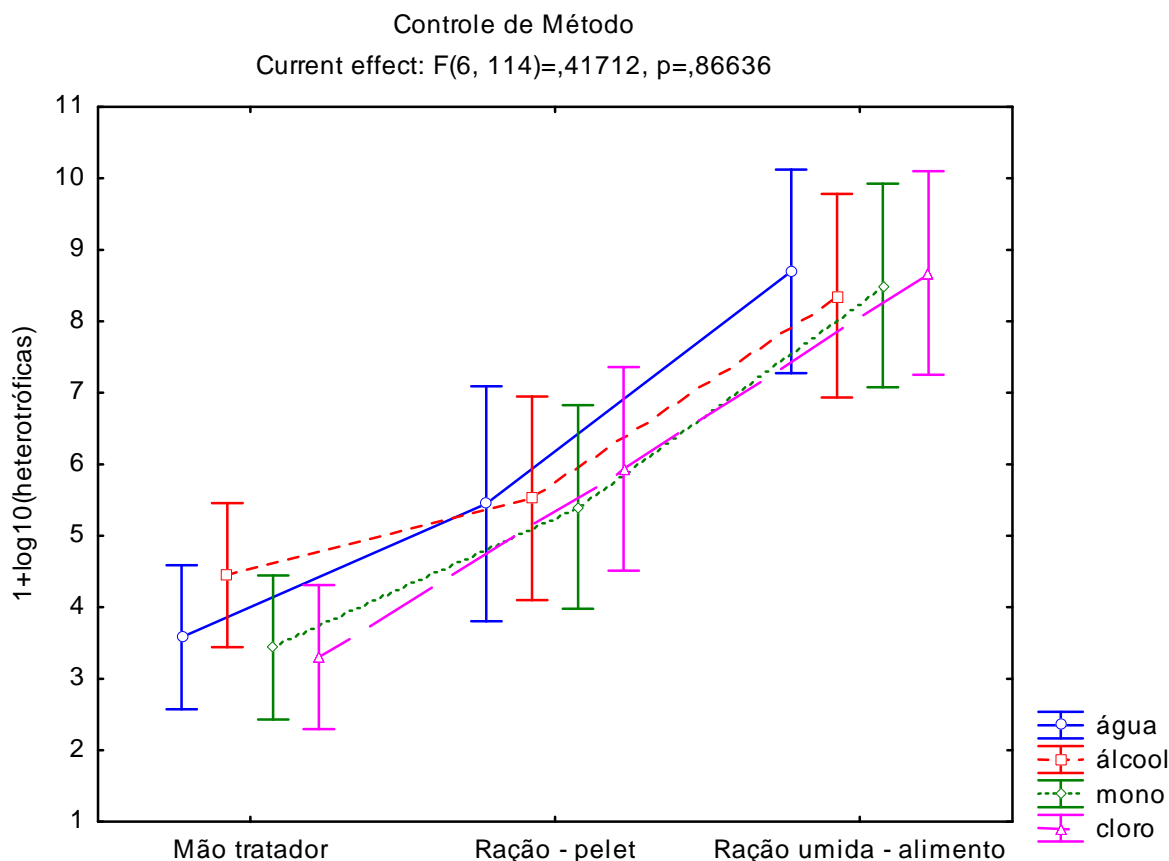


Figura 7 – Médias \pm intervalos de confiança da contagem de bactérias heterotróficas no controle de método em função dos tipos de tratamentos e objetos da quarentena.

Nas comparações das bactérias heterotróficas apenas entre os tratamentos de desinfecção, foi possível verificar que todos os tratamentos seguem o mesmo comportamento entre os objetos aferidos ($F_{39, 511}=0,94967$, $p=0,55979$) (FIG. 8). Contudo, algumas diferenças significativas foram observadas, ao analisar os objetos separadamente. Estas diferenças estão listadas a seguir:

- Fundo de gaiola: diferença significativa entre médias \pm intervalos de confiança do tratamento com álcool ($5,41 \pm 1,85$) e do tratamento com cloro ($2,54 \pm 2,12$);
- Container* ração seca: diferenças significativas entre as médias \pm intervalos de confiança dos tratamentos com álcool ($5,93 \pm 0,79$), água ($2,70 \pm 2,40$) e cloro ($2,98 \pm 2,78$);
- Pano: diferença significativa entre as médias \pm intervalos de confiança do tratamento com água ($4,89 \pm 2,56$) e cloro ($2,52 \pm 2,10$);
- Esfregão: diferença significativa entre o tratamento com álcool ($4,43 \pm 2,90$) e cloro ($1,85 \pm 2,40$);
- Container* ração úmida: diferença significativa entre as médias \pm intervalos de confiança do tratamento com álcool ($4,91 \pm 3,18$) e cloro ($2,62 \pm 2,50$);
- Luva do tratador: diferença significativa entre as médias \pm intervalos de confiança do tratamento com água ($1,86 \pm 1,85$) e álcool ($4,27 \pm 3,22$).

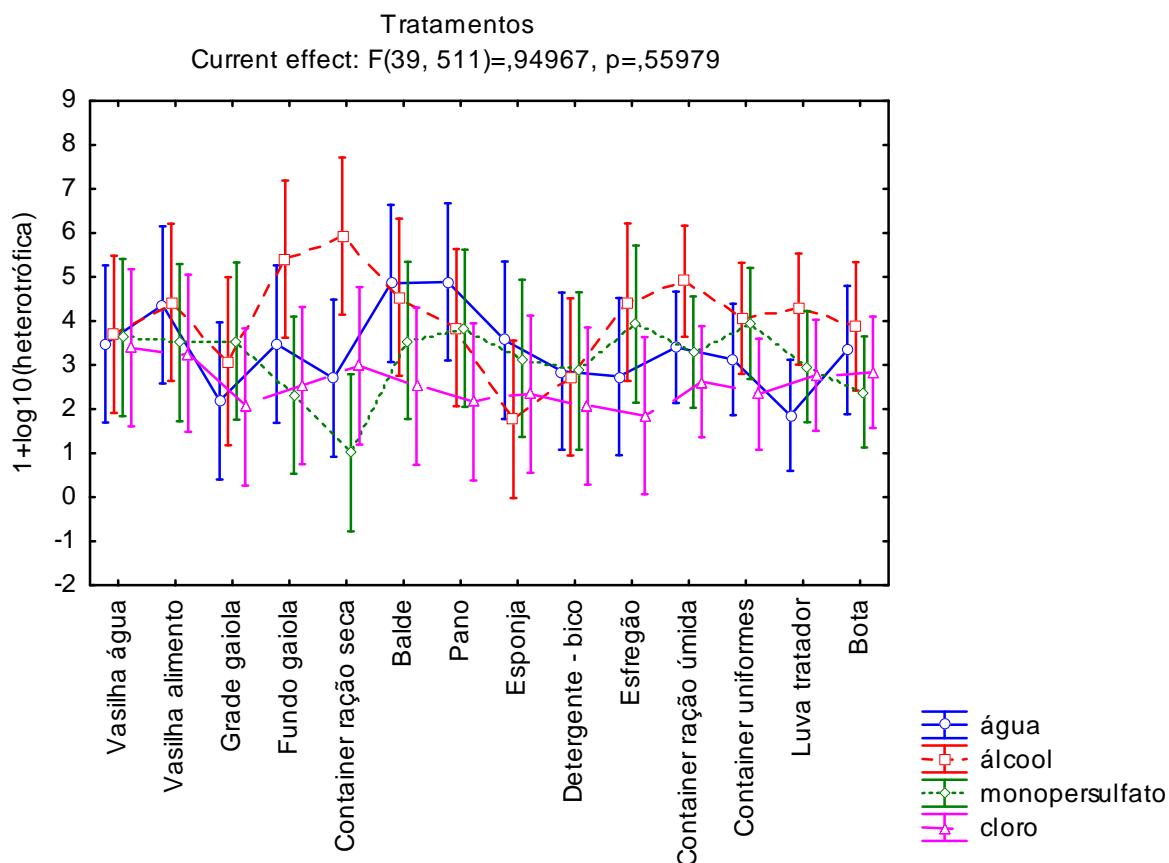


Figura 8 – Médias \pm intervalos de confiança da contagem de bactérias heterotróficas em função dos tipos de tratamentos e objetos da quarentena.

Em relação ao número de formações de bactérias heterotróficas entre os objetos da quarentena foi possível verificar que houve diferenças estatísticas significativas ($F_{19, 720}=1,972; p=0,02091$) (Fig. 9). Foi possível identificar diferenças entre as médias \pm intervalos de confiança nos objetos, sendo que o fundo de gaiola apresentou significativamente maior frequência de bactérias ($4,81 \pm 2,94$) quando comparado aos demais objetos ($p < 0,05$), com exceção dos objetos vasilha de alimento ($3,89 \pm 2,66$), grade da gaiola ($3,99 \pm 2,96$), balde ($3,87 \pm 2,68$) e pano ($3,68 \pm 2,46$) que se mostraram equivalentes ao fundo de gaiola com as maiores frequências ($p > 0,05$). Observamos que estes objetos tiveram maior contato com materiais contaminados como ração úmida, fezes, o animal em quarentena ou foram utilizados para a limpeza de pontos críticos mais contaminados como o balde e o pano.

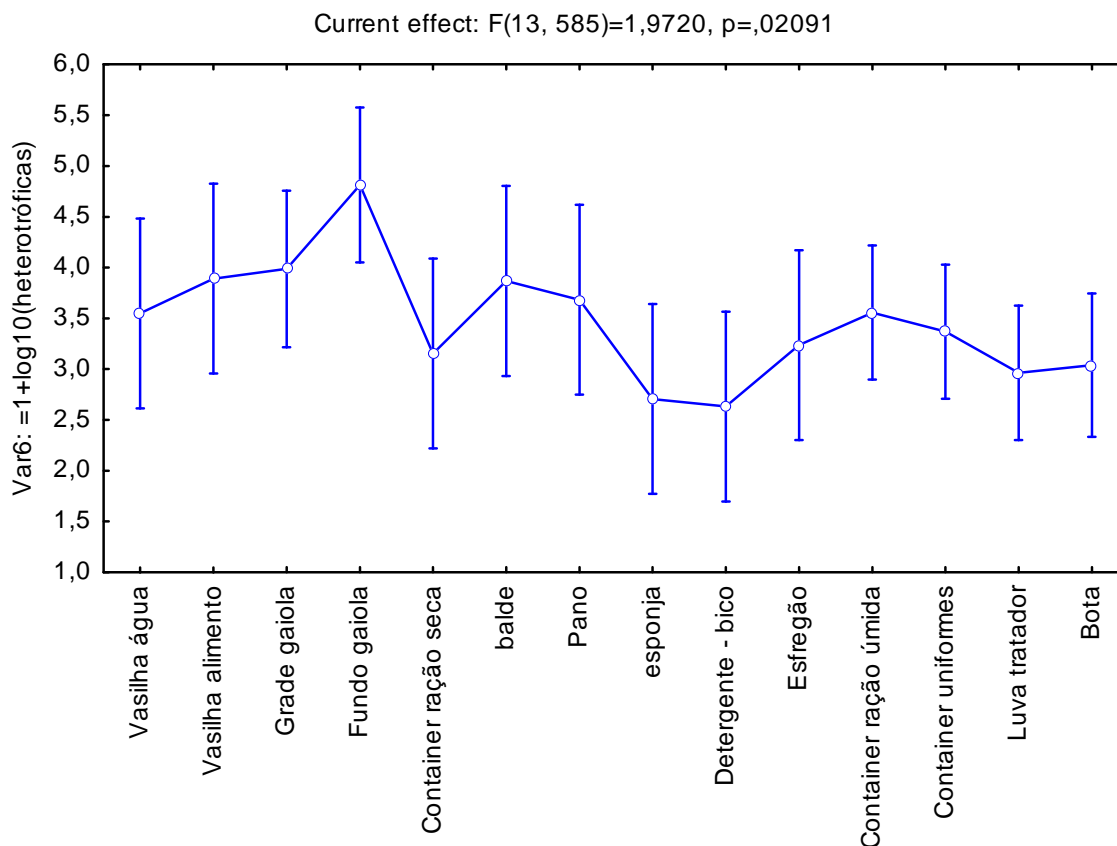


Figura 9 – Médias \pm desvio padrão da contagem de bactérias heterotróficas em função dos objetos da quarentena, independente do tipo de tratamento.

Foi possível verificar que mesmo com os tratamentos com água e detergente, álcool, monopersulfato e cloro, os objetos com maior contaminação foram fundo de gaiola, vasilha de alimento, grade da gaiola, balde e pano (Fig. 10). Estes dados demonstram a maior dificuldade de redução da carga bacteriana em objetos mais contaminados.

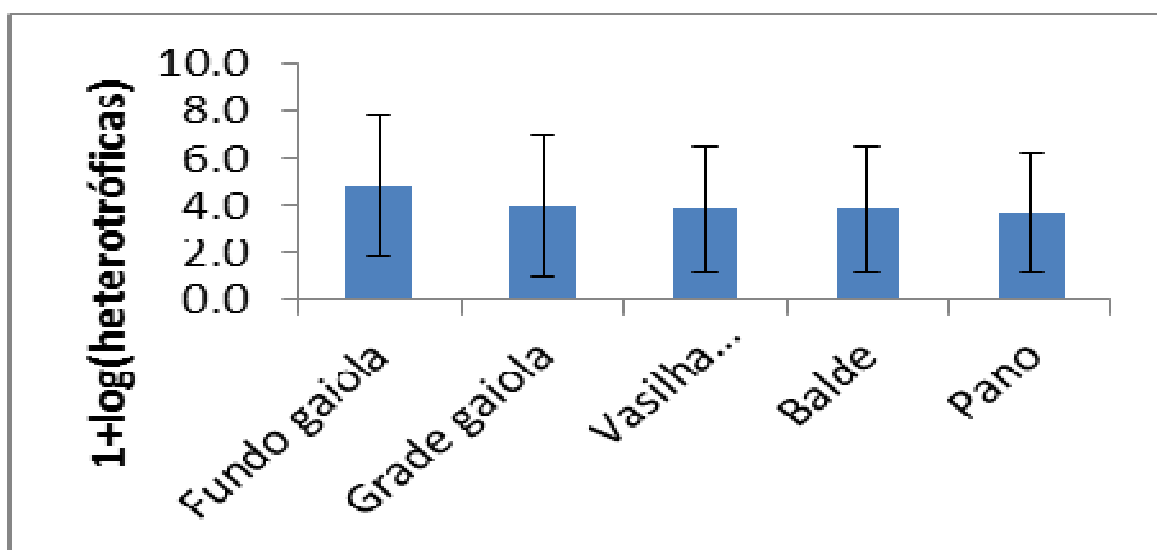


Figura 10 – Média \pm desvio padrão da contagem de bactérias heterotróficas nos objetos de quarentena de maior contaminação.

Em relação à comparação da positividade do isolamento de bactérias do tipo heterotróficas, positividade do isolamento de microrganismos e positividade de turvamento do BHI, foi possível observar que em todos os objetos os comportamentos foram equivalentes ($F_{26, 624}=0,32116$; $p=0,99954$). Mas, este resultado torna-se interessante uma vez que todas as maiores positivities foram encontradas nos mesmos objetos, sendo eles: container de ração úmida, container de uniforme, luva do tratador, bota e fundo de gaiola (Fig. 11). Demonstra-se que independentemente do método de análise utilizado para determinar a contaminação dos objetos estudados os objetos com tendência a maior contaminação são os que tem maior positividade.

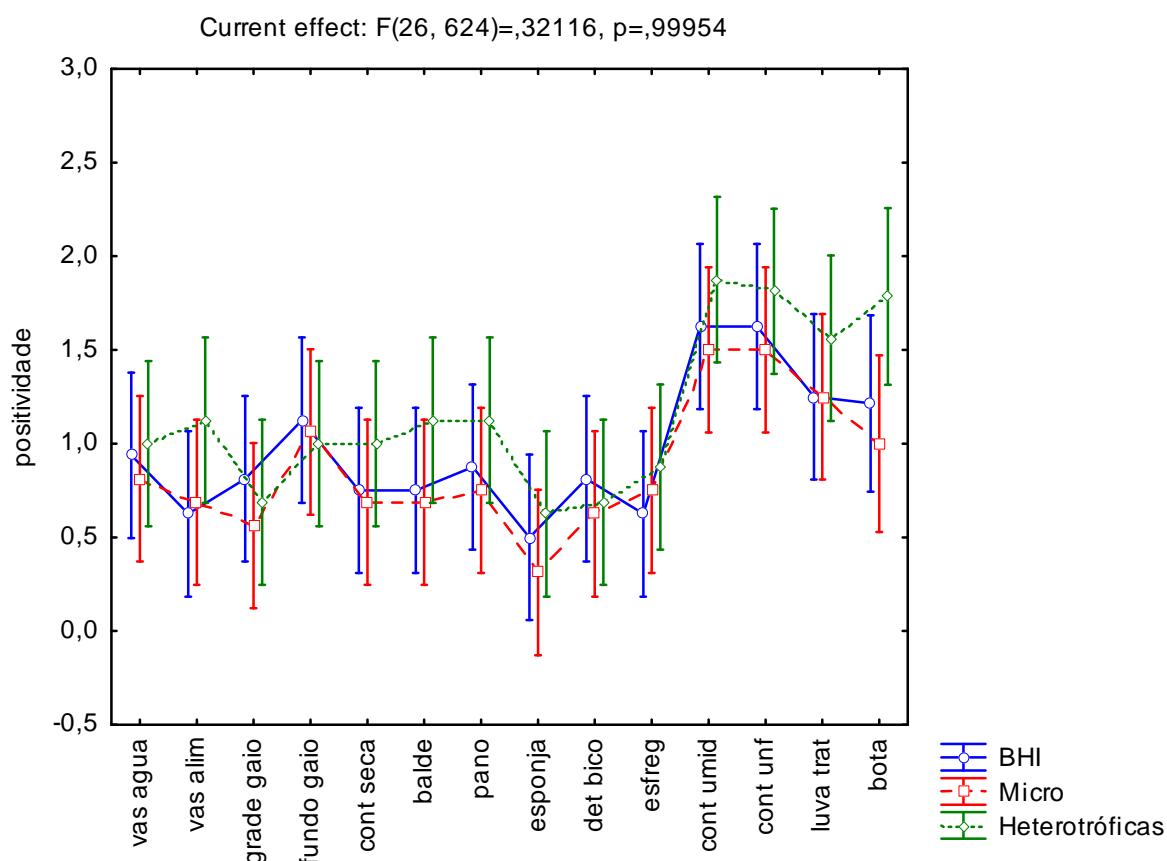


Figura 11 – Médias \pm intervalos de confiança da positividade de bactérias BHI, Isolamento de Microrganismos e positividade de isolamento de heterotróficas em função dos objetos da quarentena.

Em relação ao agrupamento observado para a avaliação dos tratamentos, foi possível verificar a formação de três grupos. O primeiro formado pela água e monopersulfato (dissimilaridade = 119), o segundo pelo álcool (dissimilaridade = 156) e o último pelo cloro (dissimilaridade = 626). Estes valores de dissimilaridade são bastante elevados, demonstrando a elevada diferença entre os tratamentos (Fig. 12).

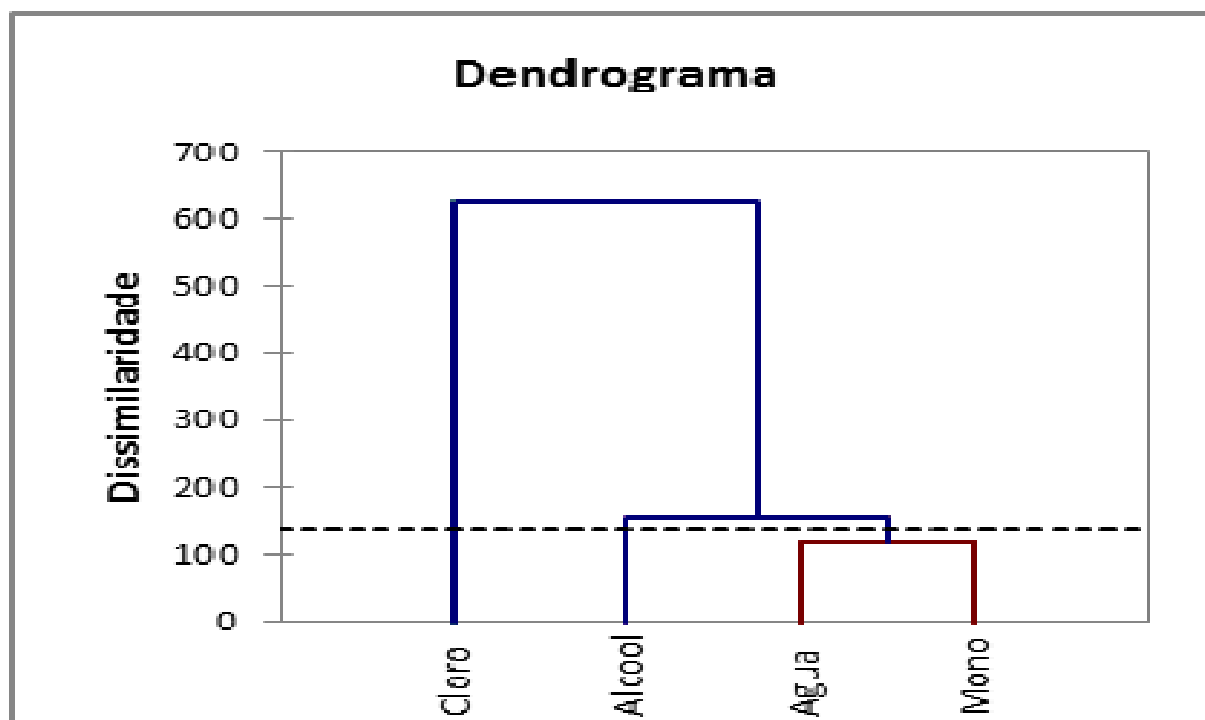


Figura 12 – Dendrograma da análise de agrupamento para os tratamentos.

As diferenças das frequências de ocorrência foram significativas entre os tratamentos ($\alpha^2=75,502$; $gl=36$; $p=0,00$), sendo possível verificar a correspondência do tratamento com água e maiores frequências de ocorrência de *Serratia* sp.; correspondência de *Shigela* sp., *Streptococcus* sp. e leveduras com o tratamento com álcool; *Staphylococcus aureus* com o tratamento com monopersulfato e, por fim, correspondência de *Klebsiella* sp. com o tratamento com cloro. Logo, estas correspondências demonstram as bactérias e/ou leveduras que apresentam os maiores crescimentos nos meios de culturas com os respectivos tratamentos (Fig. 13). Esta análise mostra que os desinfetantes utilizados neste caso podem ter comportamento seletivo, sendo o mais preocupante a presença de *Staphylococcus aureus* no tratamento com monopersulfato.

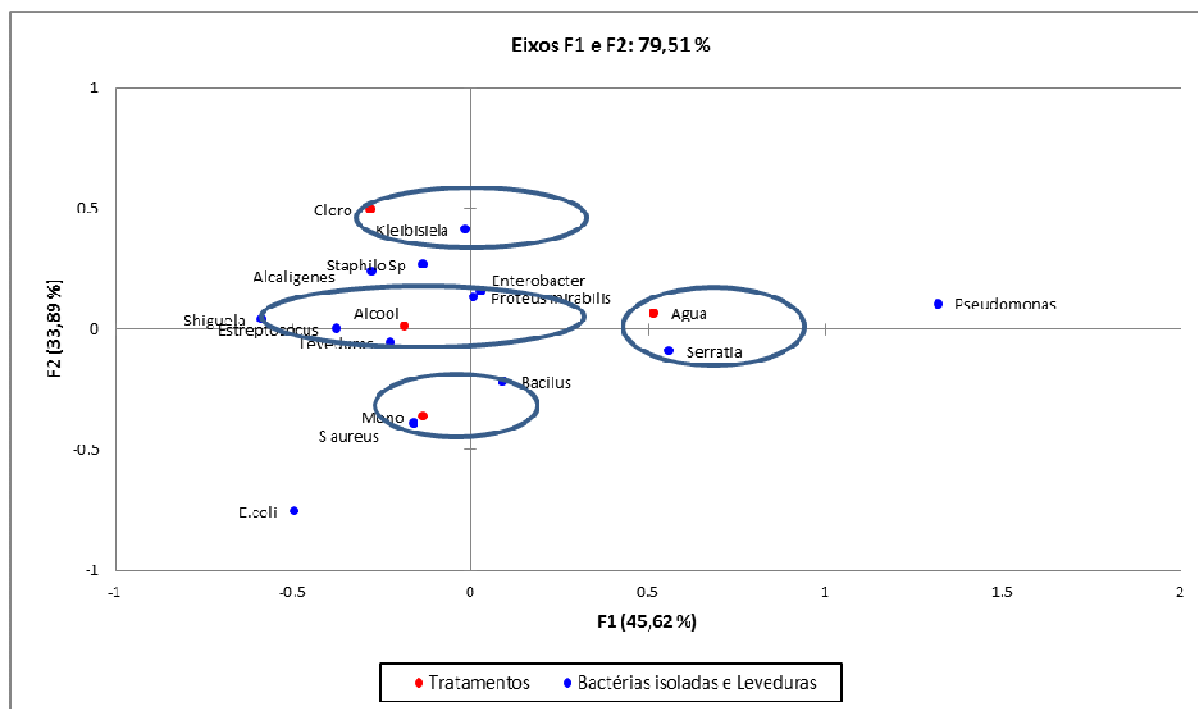


Figura 13 – Diagrama de ordenação das duas funções de correspondência.

A identificação dos tratamentos está destacada em vermelhos e as espécies de bactérias e leveduras em azul .

3.6. CONCLUSÕES

Tendo como premissa que os esforços para diminuir o risco de transmissões de infecções incluem programas nos quais os desinfetantes desempenham papel crucial e que a desinfecção é um dos mais importantes aspectos de prevenção de enfermidade (BRASIL, 2010), com o resultado do presente trabalho foi possível demonstrar que a utilização de procedimentos de higienização e desinfecção em pontos críticos de controle para o Protocolo de Quarentena reduziu o número de bactérias heterotróficas; de bactérias e leveduras isoladas em BHI e de espécies de bactérias encontradas, em relação aos controles utilizados.

Observou-se uma contaminação alta na ração úmida (FIG. 7), demonstrando que os procedimentos de preparo dessa ração devem ser reavaliados visando a redução da carga bacteriana.

Apesar do trabalho não ter sido estatisticamente conclusivo ($p= 0,05$) em relação ao melhor desinfetante para utilização nestes Protocolos de Quarentena, observamos que o cloro a 1% apresentou os melhores índices gerais de desempenho (figura 8).

Foi possível também determinar os melhores pontos críticos para implantação de controle de qualidade em Sistemas de Quarentena (FIG. 09, 10 e 11). Para objetos que transpõe a barreira de isolamento podemos usar como exemplo o *container* de ração úmida e o *container* de uniforme. Para os objetos que são higienizados ou descartados antes da saída da quarentena podemos usar a luva do tratador e a bota. Para os objetos internos ao Sistema de Quarentena podemos usar o fundo de gaiola e eventualmente, a grade da gaiola, o balde e o pano. Estas escolhas reduzem a necessidade de controlar todos os pontos críticos estabelecidos, reduzindo mão-de-obra, custos, tempo e insumos utilizados para este controle de qualidade.

Quanto ao melhor método de controle, ficou estabelecido que não existisse diferenças significativas entre contagem de heterotróficas, contagem de culturas em BHI positivas e isolamento de bactérias. Neste caso sugerimos que a contagem de heterotróficas pode ser considerada como a forma mais rápida e fácil de verificar a eficácia da higienização e desinfecção em Sistemas de Quarentena, obtendo-se a contagem das colônias em aproximadamente 48 horas. A rapidez na obtenção dos resultados aliada a simplicidade do método e seu baixo custo em relação ao isolamento por espécie torna este método elegível como parâmetro para a verificação de possíveis falhas no processo. A obtenção de parâmetros confiáveis permite auxiliar na tomada de decisão e possibilitar possíveis correções de procedimentos de higienização e desinfecção antes que possa ocorrer um comprometimento do processo de isolamento do Sistema de Quarentena.

3.7. AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Itaipu Binacional pela permissão da utilização das suas instalações e pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

3.8. REFERÊNCIAS

ANDRADE, D.C.C; FURLAN, C.M. Avaliação da estabilidade físico-química da solução de hipoclorito de sódio a 0,5% utilizada pela FARMAUSCS e de sua eficácia bactericida sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. São Caetano do Sul, v. 7, n.21, jul./set. 2009. Publicação do Centro de Saúde USCS. Universidade São Caetano do Sul.

B. BRAUN Laboratórios. Sharing Expertise. **Descrição do Monopersulfato de Potássio: desinfetante de superfícies fixas**. São Gonçalo, RJ. Disponível em <http://www.bb Braun.com.br/cps/rde/xchg/bbraun-br/hs.xml/products.html>. Acesso em: 25 nov. 2010.

BRASIL. INMETRO. Programa de Análises de Produtos. **Relatório sobre Análise em desinfetantes de uso Geral**. 2008. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/desinfetante2.pdf>. Acesso em: sete set. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 17, DE 03 DE AGOSTO DE 2010**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 15 ago. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Resolução - RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004**. Dispõe sobre regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços Alimentação. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/bps.htm>. Acesso em: sete out. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Resolução RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007**. Regulamento Técnico Para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana. Disponível em: <http://legis.anvisa.gov.br/leisref>. Acesso em: 14 set. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies**. 1 ed. Brasília, 2010. 116 p. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 26 out. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Controle de Infecção. **Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde**. Brasília, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Coordenação-Geral das Unidades Hospitalares Próprias do Rio de Janeiro. **Orientações Gerais para Central de Esterilização**. Brasília, 2001. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes_p2.pdf. Acesso em: 26 out. 2010.

CUBAS, Z.S. Biossegurança na Manipulação de Animais Silvestres: Biossegurança em Zoológicos. **Ciência Veterinária Tropical**, Recife, v. 11. Suplemento1, p.174-177, abr. 2008

CATÃO-DIAS, J.L. Biossegurança na Manipulação de Animais Silvestres: Biossegurança na reintrodução de animais silvestres na natureza. **Ciência Veterinária Tropical**, Recife, v. 11. Suplemento1, p.178-181, abr. 2008

DIAZ, R.B.; VESSONI PENNA, T.C.; TAKEUTI, C.E.; TAIRA, E.T.; GUIMARÃES, T. Centralização do processo de desinfecção de materiais semicríticos e não críticos no Hospital Santa Cruz: melhoria da qualidade e redução de custos. **Laes & Haes**, v. 128, n.6, p. 68-78, 2000.

GODOY, S. N. Psitacíformes (Arara, Papagaio, Periquito): CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. Cap. 16, p. 222-251.

GUIMARAES, Márcia Aparecida; TIBANA, Anita; NUNES, Marly Paiva; SANTOS, Kátia Regina Netto dos. Análise comparativa da atividade de antibióticos e desinfetantes em amostras hospitalares brasileiras. **Brazilian Journal Microbiology** [online]. v.31, n.3, p. 192-198, 2000. ISSN 1517-8382. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf>. Acesso em: 16 set. 2010.

HIRATA, M. H.; FILHO, J.M. **Manual de Biossegurança**. 1. ed. Barueri: Manole, 2008.

HOFFMAN, F.L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; VINTURIM, T.M. Determinação da atividade antibacteriana de desinfetantes. **Higiene Alimentar**, v.9, n.39, p.29-34, 1995.

INTERJET. Artigos para Laboratórios. **Monopersulfato de Potássio: controle de infecção**. São Paulo, 2009. Disponível em: www.labinterjet.com.br. Acesso em: 25 out. 2010.

KREIG, N.R.; HOLT, J.G. eds. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Williams and Wilkins, 1984.

LEITÃO, M.F.F. Avaliação da atividade germicida e desempenho de desinfetantes usados na indústria de alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n.1, p. 1-16, jan./mar. 1984.

MAZZOLA, Priscila Gava *et al.* Choice of sterilizing/disinfecting agent: determination of the Decimal Reduction Time (D-Value). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** [online], v.45, n.4, p. 701-708, 2009. ISSN 1984-8250. doi: 10.1590/S1984-82502009000400013 Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjps/v45n4/13.pdf>. Acesso em: 16 set. 2010.

MAZZOLA, Priscila Gava; MARTINS, Alzira Maria da Silva; PENNA, Thereza Christina Vessoni. Determination of decimal reduction time (D-value) of chemical agents used in hospital disinfection. **Brazilian Journal Microbiology** [online], v.34, suppl. 1, p. 33-34, 2003. ISSN 1517-8382. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?>. Acesso em: 13 out. 2010.

MENDES, Renata Aparecida *et al.* Contaminação ambiental por *Bacillus cereus* em unidade de alimentação e nutrição. **Revista de Nutrição** [online], v.17, n.2, p. 255-261, 2004. ISSN 1415-5273. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 25 out. 2010.

OPPERMANN, C. M.; PIRES, L. C. **Manual de Biossegurança para Serviços de Saúde**. Porto Alegre: PMPA/SMS/CGVS, 2003. 80p. Disponível em: <http://www.opas.org.br/gentequefazsaude/bvsde/bvsacd/cd49/manualbiosseguranca.pdf>. Acesso em: 25 out. 2010.

PENNA, T.C.V.; MAZOLLA, P.G.; MARTINS, A.M. The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfection programs. **BMC Infectious Diseases**, v.1, n.16, 2001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles>. Acesso em: 13 out. 2010.

PORTELA, Francisco Hurtado. **Ficha Técnica Monopersulfato de Potássio**. Madrid: Antec International Limited. Laz Rojas, 2003. Disponível em: http://www.telefonica.net/web2/fhpweb/decargas/ficha_tecnica_virkon.pdf. Acesso em: 27 set. 2010.

RODRIGUES, A.C.A. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1948-1953, out, 2008.

RUSSEL, A.D. Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, n.52, p.750-763, 2003. Disponível em: <http://www.jac.oxfordjournals.org>
Acesso em: Acesso em: 27 set. 2010.

RUTALA, W A. APIC Guideline for selection and use of disinfectants. **American Journal of Infection Control**, v. 24, n.4, p. 313-342, 1996. Disponível em: http://www.inicc.org/guias/16_gddisinfAJIC-96.pdf. Acesso em: 26 out. 2010.

RUTALA, W.A. (Org) **Disinfection, Sterilization and Antiseptics in Health Care**. New York: Polyscience, 1998. p.133-149.

SANTOS, L.C. **Laboratório ambiental**. 1. ed. Cascavel: EDUNIOESTE, 1999. 341 p. ISBN: 85-86571-29-6.

SENAC. **GUIA de elaboração do Plano APPCC**. Rio de Janeiro: SENAC/DN, 2001. 314 p. Disponível em: http://www.inicc.org/guias/16_gddisinfAJIC-96.pdf. Acesso em: 12 fev. 2010.

SILVA, J.C.R.; CORREA, S.H.R. Manejo Sanitário e Biosseguridade. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. Cap. 72, p. 1226-1244.

SOUZA, A. C. S.; PEREIRA, M. S.; RODRIGUES, M. A. V. Descontaminação prévia de materiais médico cirúrgicos: estudo da eficácia de desinfetantes químicos e água e sabão. **Revista Latino-americana de Enfermagem**, v. 6, n.3, p.95-105, 1998.

VILANI, R. G. D. C., Estrutura Hospitalar, Quarentenário e Centros de Triagem. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. Cap. 5, p. 33-42.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos anos a epidemiologia e a saúde coletiva tornaram-se destaque em função do surgimento de enfermidades emergentes. Desta forma estudos sobre sua influencia na dinâmica das populações e principalmente como importante fator de risco de extinção de espécies animais ameaçadas tem sua importância estabelecida. É possível perceber que está ocorrendo constante melhoria nas propostas de protocolos e processos de quarentena visando aprimorar a detecção de enfermidades e proteger plantéis em cativeiro e populações de vida livre, além de proteger a produção de animais domésticos para consumo humano.

Os resultados desse trabalho demonstram que não é suficiente a elaboração de protocolos de higienização e desinfecção, pois eles não garantem a qualidade do isolamento dos animais em quarentena. A utilização de pontos críticos de controle é uma ferramenta importante para monitorar o desempenho do processo de isolamento.

Com esse trabalho também fica clara a importância do uso de ferramentas de organização de processos e de controle de qualidade, principalmente com o objetivo de corrigir possíveis falhas ainda com o processo em andamento. Observa-se que são necessárias mais pesquisas e discussões para padronizar o controle de qualidade em Sistemas de Quarentena, podendo-se utilizar como “benchmarking” os processos já consagrados em empresas que processam alimentos ou que utilizam processos laboratoriais além de programas de organização de processos como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle- APPCC.

5. ANEXOS

5.1. APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Agrárias
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 006/2011, referente ao projeto “Análise de pontos críticos e controle bacteriológico de sistemas de quarentena para animais silvestres”, sob a responsabilidade de Wanderlei de Moraes, na forma que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 29 de abril de 2011. Este certificado expira em 29 de abril de 2012.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 006/2011, regarding the project “Analysis of critical points and bacteriological control for quarantine systems of wild animals”, in charge of Wanderlei de Moraes, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on April, 2011. This certificate expires on April, 2012.

Curitiba, 29 de abril de 2011.


Geraldo Camilo Alberton
Presidente


Patrick Schmidt
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná.

5.2. IMAGEM AÉREA DO REFÚGIO BIOLÓGICO BELA VISTA

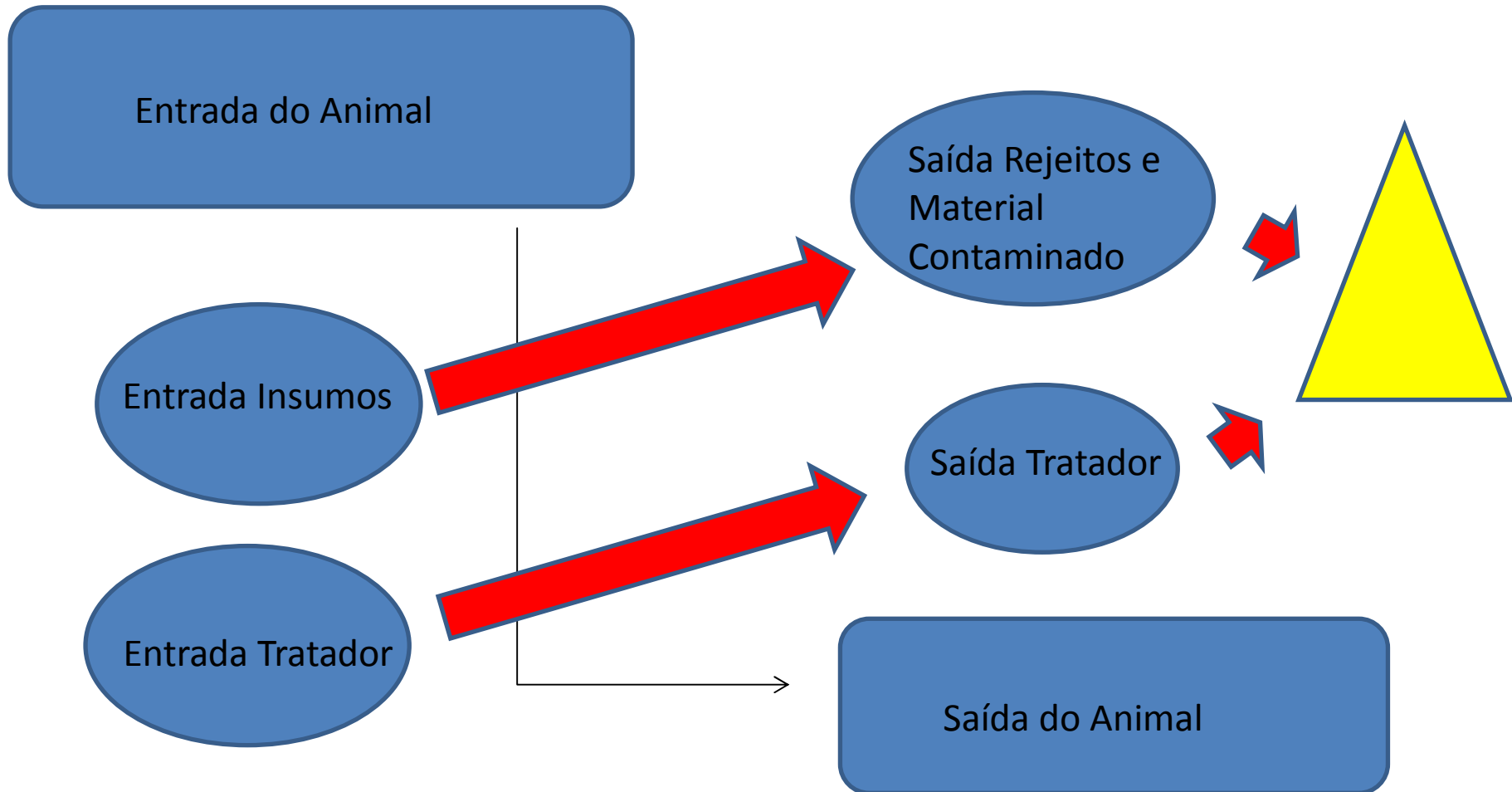


FIGURA 1 – FOTO AÉREA DA ÁREA CONSTRUÍDA DO REFÚGIO BIOLÓGICO BELA VISTA – Município de Foz do Iguaçu – Paraná – BRASIL, 2010.

NOTA: HV: Hospital Veterinário; QN: quarentenário; CASIB: Criadouro de Animais Selvagens da Itaipu Binacional; ZOO: Zoológico Roberto Ribas Lange.

Fonte: Adaptado de Google heart, 2010.

5.3. FLUXO DE PROCESSOS EM PROGRAMAS DE QUARENTENA



6. VITA

Médico Veterinário Formado pela Universidade Federal Fluminense – UFF, em 1985.

Especialista em Primatologia pela Universidade de Brasília – UNB, em 1986.

Professor da disciplina de Medicina Veterinária de Animais Silvestres na Universidade Federal Fluminense – UFF, em 1987/1988.

Responsável técnico pelo Criadouro de Animais Silvestres da ITAIPU Binacional – CASIB e pelo Zoológico “Roberto Ribas Lange”, pertencentes à ITAIPU Binacional onde trabalha desde 1989.

Aperfeiçoamento em Meio Ambiente e Gestão Ambiental pela Universidade Paranaense – UNIPAR em 1999.