

Manual de Biossegurança da Embrapa Agrobiologia



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agrobiologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Documentos 297

Manual de Biossegurança da Embrapa Agrobiologia

*Kátia Regina dos Santos Teixeira
Luis Henrique de Barros Soares
Natália Neutzling Camacho*

Embrapa Agrobiologia
Seropédica, RJ
2014

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agrobiologia

BR 465, km 7, CEP 23.891-000, Seropédica, RJ

Caixa Postal 74505

Fone: (21) 3441-1500

Fax: (21) 2682-1230

Home page: www.embrapa.br/agrobiologia

Comitê de Publicações

Presidente: Bruno José Rodrigues Alves

Secretária-Executivo: Carmelita do Espírito Santo

Membros: Ednaldo da Silva Araújo, Janaina Ribeiro Costa Rouws,

Luc Felicianus Marie Rouws, Luís Cláudio Marques de Oliveira,

Luiz Fernando Duarte de Moraes, Marcia Reed Rodrigues Coelho,

Maria Elizabeth Fernandes Correia, Nátia Élen Auras

Supervisora editorial: Maria Elizabeth Fernandes Correia

Normalização bibliográfica: Carmelita do Espírito Santo

Tratamento de ilustrações: Maria Christine Saraiva Barbosa

Editoração eletrônica: Maria Christine Saraiva Barbosa

Ilustração da capa: símbolo universal de Biossegurança

1ª edição

1ª impressão (2014): 50 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Agrobiologia**

T266m TEIXEIRA, Kátia Regina dos Santos.

Manual de Biossegurança da Embrapa Agrobiologia
/ Kátia Regina dos Santos Teixeira, Luis Henrique de
Barros Soares, Natália Neutzling Camacho. Seropédica.
Embrapa Agrobiologia, 2014. 28 p. (Embrapa Agrobiologia.
Documentos, 297).

ISSN: 1517-8498

1. OGMs. 2. Risco biológico. 3. Transporte. 4.
Descarte. 5. Aspectos legais. I. Soares, Luis Henrique Barros.
II. Camacho, Natália Neutzling. III. Título. IV. Embrapa
Agrobiologia. V. Série.

660.6 CDD 23. ed.

© Embrapa 2014

Autores

Kátia Regina dos Santos Teixeira

Luis Henrique de Barros Soares

Pesquisadores da Embrapa Agrobiologia.

BR 465, km 7, Seropédica/RJ, CEP 23.891-000.

E-mails: katia.teixeira@embrapa.br; luis.soares@embrapa.br.

Natália Neutzling Camacho

Analista da Embrapa Agrobiologia. BR 465, km 7,
Seropédica/RJ, CEP 23.891-000. E-mail:

natalia.camacho@embrapa.br.

Apresentação

Os recentes avanços científicos e tecnológicos no campo da Biotecnologia têm permitido que múltiplos atores sociais se beneficiem direta ou indiretamente desses conhecimentos. Novas ferramentas de diagnóstico, produtos e insumos agropecuários são resultado dos esforços de pesquisa realizados no dia-a-dia dos laboratórios e têm surgido em ritmo cada vez mais acelerado.

A Embrapa Agrobiologia apresenta no seu histórico de pesquisa uma longa tradição em descobrir e aperfeiçoar processos biológicos que tragam ganhos reais para os sistemas produtivos e ao meio ambiente. Neste contexto, a Biotecnologia se torna uma ferramenta poderosa para ampliar os benefícios das interações entre organismos para diferentes culturas e ambientes.

No entanto, as rotinas associadas ao desenvolvimento da pesquisa devem garantir total segurança às pessoas envolvidas e ao ambiente. Para isto, a Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) da Embrapa Agrobiologia elaborou o “Manual de Biossegurança da Embrapa Agrobiologia”. O objetivo do documento é esclarecer àqueles que conduzem atividades com Organismos Geneticamente Modificados (OGM), quais os riscos associados à sua manipulação, transporte e armazenagem, bem como quais são os métodos de controle de risco recomendados.

Gustavo Ribeiro Xavier
Chefe Geral da Embrapa Agrobiologia

Sumário

Introdução	9
Objetivos	11
Terminologia	11
Orientações gerais	15
Posturas individuais e de prevenção nas áreas de trabalho com material biológico e OGM	17
Acidente de trabalho com material biológico	19
Limpeza e desinfecção de pisos, superfícies e equipamentos	20
Procedimentos para transporte de ogm	22
Procedimento para descarte de resíduos	25
Considerações finais	25
Referências Bibliográficas	27

Manual de Biossegurança da Embrapa Agrobiologia

Kátia Regina dos Santos Teixeira
Luis Henrique de Barros Soares
Natália Neutzling Camacho

Introdução

Segundo Berg et al. (1974) desde o surgimento da biotecnologia como ferramenta para geração de insumos e produtos, a própria comunidade científica manifestou preocupação, com o potencial de risco biológico proveniente da aplicação de moléculas de DNA recombinante. Esta preocupação resultou na publicação de um artigo visando estabelecer critérios para uma manipulação genética segura (NORMAN, 1976). Desde então, a geração de normas que regulamentem os trabalhos em termos de contenção e de liberação de OGMs é demandada em diversos países. No Brasil, durante a Convenção da Diversidade Biológica da Conferencia do Rio (Eco 92) foram recomendados a implantação de uma política de prévio consentimento para o acesso aos recursos genéticos e, também, para o uso da biodiversidade para o desenvolvimento sustentável, garantindo uma proteção ambiental global. Portanto, as preocupações com os problemas ambientais, a conservação da biodiversidade e a demanda da globalização levaram à implantação de uma política que permitisse regulamentar, em âmbito nacional, a pesquisa, o desenvolvimento e o uso de produtos gerados pela técnica do DNA recombinante, tanto pelas instituições de pesquisa quanto por empresas nacionais e internacionais. Essa regulamentação tem como objetivo garantir a segurança durante a

geração e uso de OGMs de modo que o ambiente e seu benefício público fossem protegidos. Este marco histórico resultou na publicação da Lei de Biossegurança em sua primeira versão no ano de 1995 e, posteriormente, devido a manifestações da comunidade científica e opinião pública em geral, esta Lei foi revogada e substituída pela Lei nº 11.105, de 24 de Março de 2005 (BRASIL, 2005).

O termo “Biossegurança” tem sido aplicado no Brasil, como sinônimo não só de aspectos relacionados à manipulação segura de organismos vivos ou vírus de caráter patogênico, mas também com a manipulação em regime de contenção e liberação de OGMs, que resultem em produtos passíveis inclusive de comercialização. Neste contexto, a Biossegurança tem como papel garantir a segurança à saúde humana e ao meio ambiente em observância à Convenção sobre Diversidade Biológica e à Lei de Biossegurança. Além disso, a biossegurança é considerada um dos marcos regulatórios das políticas de biotecnologia do país, pois deve apoiar o desenvolvimento da biotecnologia e da bioindústria, de forma a facilitar a entrada competitiva de produtos e processos biotecnológicos nos mercados nacional e internacional, conforme o Decreto nº 6041, de 8 de Fevereiro de 2007, Política de Biotecnologia Proteção e desenvolvimento (BRASIL, 2007b).

Este manual de Biossegurança foi preparado de acordo com as especificidades das atividades de pesquisa realizadas na Embrapa Agrobiologia. As normas aqui estabelecidas visam minimizar possíveis riscos biológicos durante a rotina de trabalho relacionada à manipulação, transporte e armazenagem em condições de contenção de OGMs. Como fonte de consulta são apontados na Bibliografia alguns trabalhos realizados em outras Unidades da Embrapa: ESTEVES et al. (2011); HOFFMANN et al. (2009); HIRATA & MANCINI FILHO (2008); OLIVEIRA et al. (2004); VASCONCELOS & LANA (2009).

Todos os profissionais, bolsistas e estagiários lotados nas dependências da Embrapa Agrobiologia, deverão tomar ciência das normas contidas neste Manual, comprometendo-se ao cumprimento das mesmas,

principalmente, nos laboratórios, salas, casas de vegetação e campos experimentais. Portanto, é imperiosa a observância e adoção das medidas de proteção e normas de conduta individual estabelecidas neste MANUAL DE BIOSSEGURANÇA.

Objetivos

Este documento foi elaborado com objetivo de informar e orientar os profissionais, bolsistas e estagiários da Embrapa Agrobiologia sobre procedimentos de biossegurança. Além disso, com bases nas informações apresentadas pretende-se padronizar o conhecimento e estabelecer normas de conduta e aplicação dos procedimentos necessários e obrigatórios em áreas de trabalho com risco biológico, em especial com Organismos Geneticamente Modificado (OGM), em acordo as exigências da Lei de Biossegurança nº 11.105, (BRASIL, 2005).

Terminologia

Assepsia – É o conjunto de métodos empregados para impedir que determinado local, superfície, equipamento e/ou instrumento seja contaminado.

Descontaminação – É o método de eliminação parcial ou total de micro-organismos dos artigos e superfícies.

Desinfecção – Processo físico ou químico que elimina as formas vegetativas de micro-organismos, exceto os esporulados.

Desinfecção de atividade biocida alta – Quando os desinfetantes são eficazes contra todas as formas vegetativas e destroem parcialmente os esporos.

Desinfecção de atividade biocida baixa – Quando os desinfetantes têm somente ação contra as bactérias vegetativas.

Desinfecção de atividade biocida intermediária – Quando os desinfetantes não destroem esporos, tem ação sobre o bacilo da tuberculose, ampla ação sobre vírus e fungos, porém não destroem todos eles.

Esterilização – É o processo de destruição de todas as formas de vida microbianas, inclusive os esporulados, mediante aplicação de agentes físicos e/ou químicos.

Limpeza – É a remoção mecânica e/ou química da sujidade, visando a remoção de resíduos orgânicos, realizada anteriormente à desinfecção e à esterilização.

Monitorização – É o controle periódico de eficiência do processo, garantindo que as especificações validadas para os processos estão dentro do padrão estabelecido.

DNA recombinante – É como se denomina moléculas manipuladas fora das células vivas mediante a modificação de segmentos de DNA/RNA natural ou sintético resultando em um produto da combinação de material genético de dois micro-organismos diferentes, ou mais, através de engenharia genética e que possa multiplicar-se em uma célula viva, ou ainda as moléculas de DNA/RNA resultantes dessa multiplicação.

Engenharia genética – É a atividade de produção e manipulação de moléculas de DNA/RNA recombinante; depende da utilização de enzimas capazes de gerar fragmentos e reunir materiais genéticos “in vitro” ou utilizando-se de quaisquer dos mecanismos de transferência de genes (como conjugação, transformação, transdução, etc).

Organismo – Toda entidade biológica capaz de reproduzir e/ou de transferir material genético, incluindo vírus, prions e outras classes que venham a ser conhecidas.

Organismo geneticamente modificado (OGM) – Organismo cujo material genético tenha sido modificado por técnicas de engenharia genética.

Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) – É uma instância colegiada, multidisciplinar, que conta com a participação de especialistas, representantes ministeriais e de secretarias do governo federal, assim como de representantes da comunidade civil. Seu papel é prestar apoio técnico consultivo e de assessoramento ao Governo Federal na formulação, atualização e implementação da Política Nacional de Biossegurança relativa à OGM, bem como, no estabelecimento de normas técnicas de segurança e publicação de pareceres técnicos conclusivos referentes à proteção da saúde humana, dos organismos vivos e do meio ambiente, para atividades que envolvam a construção, experimentação, cultivo, manipulação, transporte, comercialização, consumo, armazenamento, liberação e descarte de OGM e derivados. Esta comissão também é responsável pela emissão do Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) para o desenvolvimento de atividades com OGM no país.

Certificado de Qualidade de Biossegurança (CQB) – É um credenciamento que a CTNBio concede para instituições de pesquisa, empresas privadas e outras pessoas jurídicas que executem atividades com OGM em condições de contenção, liberação planejada no ambiente ou comercialização.

Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) – É a instância colegiada, sediada na unidade detentora do CQB concedido pela CTNBio. É responsável pelo registro, autorização de trabalhos em contenção que envolva OGM de nível de Biossegurança 1 (NB-1), acompanhamento, auditoria e transferência de informações e consultas entre a CTNBio e as entidades com CQB. A CIBio constituída deve solicitar o CQB antes de iniciar as atividades com OGM.

Classes de risco – Classificação de organismos conforme estabelecido pela Portaria Nº 1.608 de 5 de Julho de 2007 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2007a). No caso da Lei de Biossegurança (BRASIL, 2005), os critérios que levam a classificar o organismo em cada classe incluem não só características do organismo doador, como

também do receptor e do OGM resultante conforme estabelecido pela Resolução Normativa N° 2, de 27 de Novembro de 2006. Portanto, micro-organismos patogênicos e plantas daninhas são classificados em classe de risco 2 ou superior conforme listas disponibilizadas pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2010 - <http://www.saude.gov.br/editora> - Série A. Normas e Manuais Técnicos) e do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. No caso de micro-organismos, um Grupo de Trabalho, instituído no âmbito da Comissão de Biossegurança em Saúde do Ministério da Saúde é responsável pela revisão e atualização da Classificação de Risco dos Agentes Biológicos, conforme Portaria n° 1.608, de 5 de Julho de 2007 (BRASIL, 2007a).

Classe de Risco 1 – Corresponde a classe de organismos que são considerados de baixo risco individual e baixo risco para a coletividade, isto é, quando os organismos envolvidos não são reconhecidos como causadores de efeitos adversos à saúde e ao meio ambiente.

Nível de Biossegurança (NB) – De acordo com a classe de risco dos organismos, são necessários diferentes níveis de contenção e complexidade das medidas de proteção para permitir o trabalho com OGM de forma segura em laboratório, casa de vegetação, telado e em campo experimental. As medidas de prevenção e proteção adotadas para cada NB devem considerar a classe de risco do organismo e permitir que as atividades de manipulação, transporte e estocagem sejam realizadas em condições de risco mínimo para o operador e para o ambiente.

Organismo doador – Organismo doador de DNA ou RNA que será introduzida por engenharia genética no organismo receptor.

Organismo receptor – Organismo original, não transformado geneticamente, a ser utilizado em experimentos de engenharia genética.

Derivado de OGM de origem vegetal – Produto obtido de OGM de origem vegetal e que não possua capacidade autônoma de replicação

ou que não contenha forma viável de OGM. Não se inclui na categoria de derivado de OGM a substância pura, quimicamente definida, obtida por meio de processos biológicos e que não contenha OGM, proteína heteróloga ou DNA recombinante.

Pesquisador principal – Supervisor do trabalho com OGM.

Trabalho em contenção – Atividade com OGM em condições que não permitam o seu escape para o meio ambiente.

Vetor – Agente carreador da sequência (inserto) a ser introduzida no organismo receptor.

Orientações gerais

As Normas aqui descritas deverão ser adotadas, em todas as áreas de trabalho autorizadas para manipulação, uso e armazenamento de OGM que constam em nosso CQB. Nestes casos, estas regras também devem ser aplicadas aos trabalhos com todo material biológico correspondente a Classe de Risco 1 que for manipulado em área com CQB, independente do mesmo ser um OGM ou seu derivado. Para tanto, é essencial o conhecimento dos critérios e normas adequadas para trabalho em NB-1 conforme definido no CQB 010/97, assim como de suas extensões e revisões.

Para trabalhos em contenção em NB-1 é necessário que sejam consideradas as seguintes condições:

- Conhecimento e uso dos formulários e instruções para solicitação de autorização de trabalho com OGM conforme estabelecido no procedimento operacional padrão - Registro de Atividades com OGM e Responsabilidade do TPR (código 023.02.02.00.1.001) disponíveis na intranet da Embrapa Agrobiologia (Comissões > CIBio).
- OGMs serão manipulados em áreas sinalizadas com o símbolo universal de risco biológico, com acesso restrito às equipes técnica e de apoio ou de pessoas autorizadas;

- As equipes técnica e de apoio deverão receber treinamento específico nos procedimentos realizados nas instalações e deverão ser supervisionadas pelo técnico principal;
- As atividades devem ser realizadas com o acompanhamento de outra pessoa, nunca devendo estar sozinho o pesquisador ou técnico principal, assistente, analista e estagiário no setor durante o momento, período ou turno, da realização de qualquer atividade de manipulação de OGM e seus derivados;
- Deve-se utilizar dispositivo mecânico para pipetagem;
- Pias para lavagem das mãos e equipamentos de proteção individual e coletiva devem ser utilizados para minimizar o risco de exposição ao OGM;
- Todas as áreas de trabalho deverão estar providas de sabão líquido, de preferência germicida e com mecanismo dispensador que impeça o refluxo da solução, papel toalha e solução de álcool etílico a 70%;
- As instalações devem ser desenhadas de modo a permitir fácil limpeza e descontaminação;
- As superfícies das bancadas devem ser impermeáveis à água e resistentes a ácidos, álcalis, solventes orgânicos e a calor moderado;
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas uma vez ao dia ou sempre que ocorrer contaminação;
- Os espaços entre as bancadas, cabines e equipamentos devem ser suficientes de modo a permitir fácil limpeza;
- É proibida a varredura seca nas áreas de trabalho com OGM;
- Todo resíduo líquido ou sólido contaminado deve ser descontaminado antes de ser descartado, assim como todo material ou equipamento que tiver entrado em contato com o OGM;
- É proibida a presença de animais que não estejam relacionados ao trabalho em execução nas instalações;
- Materiais contaminados só podem ser retirados das instalações em recipientes rígidos e à prova de vazamentos;
- Deve ser providenciado um programa rotineiro adequado de controle de insetos e roedores. Todas as áreas que permitam ventilação deverão conter barreiras físicas para impedir a passagem de insetos e outros animais;

- Devem ser mantidos registros de cada atividade ou projeto desenvolvidos com OGM e seus derivados;
- Atividades e projetos **com organismos não geneticamente modificados** que ocorram concomitantemente e nas mesmas instalações com manipulação de OGM **devem respeitar a classificação de risco do OGM**;
- Todo material proveniente de OGM e seus derivados deverá ser descartado de forma a impossibilitar seu uso como alimento por animais ou pelo homem, salvo o caso em que este seja o propósito do experimento, ou se especificamente autorizado pela CIBio ou CTNBio.

Além da infraestrutura adequada, as atividades de ensino, pesquisa e de prestação de serviços em laboratório requerem do responsável técnico, analistas, assistente e do estagiário uma série de cuidados, justificada pelo risco à saúde, em função do manuseio de material biológico contaminado, bem como da utilização de vidraria, equipamentos e produtos químicos. Portanto, o conhecimento e adoção de algumas normas são fundamentais para minimizar ou até mesmo eliminar este risco.

Posturas individuais e de prevenção nas áreas de trabalho com material biológico e OGM

- Observância às regras de biossegurança adotadas nos laboratórios, salas e casas de vegetação;
- Intervir, informando e esclarecendo aos colegas a ocorrência de não conformidade que interfiram no cumprimento dessas regras;
- É obrigatório o uso dos EPIs (óculos, máscara, luvas), inclusive o avental (jaleco) e calçados fechados;
- O trabalho deve ser executado num ambiente limpo e organizado, com muita atenção e cuidados;
- Não é permitido fumar, comer e beber, ou aplicar cosméticos, bem como portar ou conservar alimentos no recinto do laboratório;
- Antes de iniciar cada experimento ou serviço de rotina, é necessário ler com atenção a técnica a ser executada;
- Vidraria e equipamentos danificados não devem ser utilizados;

- Extrema precaução deve ser tomada quando forem manuseados agulhas, seringas e vidros quebrados, de modo a evitar a auto-inoculação, assim como a produção de aerossóis durante o uso e o descarte de material com OGM. As agulhas não devem ser entortadas, quebradas, recapeadas ou removidas da seringa após o uso. Agulhas, seringas e vidros quebrados devem ser imediatamente colocados em recipiente resistente a perfurações e autoclavados antes do descarte;
- Em caso de risco para os olhos, devem ser utilizados óculos de proteção, evitando o uso de lentes de contato;
- Na execução de técnicas que exijam o emprego de pressão reduzida (dessecadores a vácuo etc.) ou de metais alcalinos, é obrigatório o uso de vidraria adequada, luvas e óculos. Recipientes de parede fina ou de fundo chato não devem ser submetidos ao vácuo;
- O manuseio de líquidos voláteis ou ácidos fortes que liberam gases venenosos ou irritantes deve ser feito em capela apropriada (com exaustão);
- No caso de manuseio de material com alto grau de risco de contaminação microbiológica, luvas devem ser utilizadas; no entanto, lembrar que devem ser descalçadas e descartadas logo após a execução da técnica específica;
- O material contaminado com produtos químicos ou agentes biológicos deve ser tratado adequadamente e/ou descartado em recipientes apropriados, contendo sinalização específica de risco;
- Ao término das atividades no laboratório, bem como logo após a execução de técnicas específicas, as mãos devem ser exaustivamente lavadas com sabão líquido e enxugadas com toalha de papel;
- Todo material a ser descartado deve ser submetido à esterilização, ficando a cargo do funcionário responsável pela esterilização, supervisão e execução destas medidas;
- As aquisições de novos equipamentos ou procedimentos que se relacionem com a Biossegurança devem ser também avaliadas pela CIBio, que emitirá parecer técnico. As solicitações de pareceres devem ser realizadas por escrito, através de ofício com justificativa.

Acidente de trabalho com material biológico

Todos os acidentes com objetos contaminados com material biológico deverão ser relatados por escrito aos responsáveis na Unidade pela Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) e Comissão Interna de Prevenção de Acidente (CIPA), que deverão manter o registro.

Dentre os acidentes de ocorrência mais comuns em áreas de manipulação de material biológico, inclusive OGM, deve ser dada atenção especial a:

- 1) Perfuração com agulha contaminada;
- 2) Ferida causada por instrumentais contaminados;
- 3) Contaminação de qualquer ferida aberta ou membrana mucosa por saliva, sangue ou qualquer outro fluido que possa transmitir doenças infecciosas.

Além de comunicação as instâncias competentes, alguns procedimentos devem ser adotados nos casos de acidentes envolvendo riscos de contaminação em área de trabalho com material biológico, em especial com OGM:

- 1) Em casos de cortes ou perfuração, a área afetada deve ser limpa imediata e cuidadosamente usando sabão antisséptico e água.
- 2) Em caso de contaminação dos olhos, lavá-los com solução salina (soro fisiológico), que deverá estar disponível nas dependências de cada laboratório ou área de trabalho com material biológico, em especial com OGM.
- 3) Ingestão acidental, geração de respingos e aerossóis também devem ser observados e documentados contendo todas as informações necessárias para rastreabilidade, incluindo-se a ação corretiva adotada.
- 3) No caso do OGM ser um micro-organismo, o técnico responsável ou representante da CIPA deve acompanhar o indivíduo acidentado à Unidade de Saúde mais próxima e notificar/relatar todas as informações necessárias sobre o material biológico envolvido (ex.: espécie do micro-organismo, resistência a antibiótico, classe de risco, condições de cultivo).

Limpeza e desinfecção de pisos, superfícies e equipamentos

Princípios ativos utilizados como desinfetantes

- **Álcool (Etilico e Isopropílico)**

Mecanismo de ação: induz à desnaturação de proteínas e à inibição da produção do metabolismo essencial para a rápida divisão celular;

Espectro de ação: são bactericidas, fungicidas e virulicidas; contudo, não são esporicidas;

Concentração de uso: álcool etílico a 70% em peso;

Indicação de uso: desinfecção de nível intermediário de artigos e superfícies com tempo de exposição de 10 minutos na concentração indicada. Ex.: ampolas de vidros, termômetros, superfícies externas de equipamentos metálicos, bancadas etc.

- **Fenólicos**

Mecanismo de ação: inativação do sistema enzimático e perda de metabólitos essenciais pela parede celular;

Espectro de ação: bactericida, fungicida, virulicida (HIV) e tuberculicida; contudo, não são esporicidas;

Concentração de uso: recomenda-se o uso de soluções em concentrações de 1 a 7%; sendo a de 5% (v/v) a mais utilizada;

Indicação de uso: desinfecção de superfícies e artigos metálicos e de vidro em nível médio, ou intermediário e baixo, com tempo de exposição de 10 minutos para superfícies e de 30 minutos para artigos metálicos e vidros, na concentração indicada pelo fabricante.

Atenção: Não são recomendados para materiais e equipamentos que entram em contato com o trato respiratório, alimentos, nem com objetos de látex, acrílico e borrachas. Pelo efeito residual são ativos na presença de matéria orgânica.

- **Quaternários de Amônia**

Mecanismos de ação: inativação de enzimas produtoras de energia, desnaturação de proteínas celulares e ruptura de membrana celular;

Espectro de ação: fungicida, bactericida, virulicida; contudo, não são esporicidas;

Concentração de uso: recomendada pelo fabricante;

Indicação: desinfecção de baixo nível - tempo de exposição de 30 minutos, na concentração indicada pelo fabricante. São indicados para desinfecção de superfícies e unidades de manuseio de alimentos.

- **Compostos inorgânicos liberadores de cloro ativo (hipoclorito de sódio/cálcio/lítio)**

Mecanismos de ação: inibição de reação enzimática básica da célula, desnaturação de proteína e inativação de ácidos nucleicos;

Espectro de ação: virulicida, bactericida, microbactericida e esporicida para um grande número de esporos;

Concentração de uso: 0,02 a 1% (v/v), dependendo da indicação de uso;

Indicação de uso: na desinfecção de nível médio, desinfecção de depósitos de água, de superfícies de bancadas e piso de laboratórios na concentração de 1% por 10 minutos.

Observação: O uso é limitado pela presença de matéria orgânica, capacidade corrosiva e descolorante, não devendo ser usado em metais e mármore.

- **Solução de Iodo**

Mecanismos de ação: penetra nas partes celulares bacterianas, e ainda que seu mecanismo exterminador seja incerto devido a sua extensa relatividade de alógeno, provavelmente se relaciona ao atraso da síntese da proteína bacteriana, à interrupção de transporte do elétron, à desnaturalização do DNA ou à desestabilização da membrana.

Espectro de ação: bactericida, tuberculicida, fungicida, virulicida, não-esporicida;

Concentração de uso: álcool iodado a 0,5% (v/v) e tempo de contato de 10 minutos;

Indicação de uso: na desinfecção de nível intermediário. Pele com ou sem ferimento, superfícies externas de equipamentos, partes metálicas de incubadora etc.;

Recomendações e observações: Observar possíveis reações alérgicas ou sensibilidade do usuário. No caso de superfícies metálicas, após

o tempo de contato, removê-lo friccionando álcool, para evitar os efeitos corrosivos do iodo. As soluções devem ser acondicionadas em frascos escuros, fechados e guardados em locais frescos. Efeito residual de 2 a 4 horas. Ação neutralizada pela presença de matéria orgânica.

- **Glutaraldeído**

Mecanismos de ação: altera o DNA, RNA e síntese protéica;

Espectro de ação: bactericida, fungicida, microbactericida e esporicida;

Concentração: 2% (v/v) por 30 minutos;

Indicação de uso: na desinfecção de alto nível; usar em artigos não-descartáveis, metálicos ou corrosivos por hipoclorito; e, em instrumental termo-sensível.

Recomendações: Após desinfecção enxaguar com água estéril. Materiais demasiadamente porosos como o látex podem reter o glutaraldeído, caso não haja bom enxágue. Apresenta atividade germicida em presença de matéria orgânica; entretanto, materiais colocados no glutaraldeído sem limpeza prévia apresentam impregnação pela formação de precipitados, dificultando a limpeza e desinfecção. O produto deve ser manipulado em local arejado e com uso de EPI.

Procedimentos para transporte de ogm

A Instrução Normativa CTNBio nº 4, de 19.12.96 (CTNBio, 1996) estabelece que o transporte de OGMs obedecerá às seguintes normas:

- A permissão para transporte depende da classificação do OGM e do destino do mesmo. Para sua emissão, tanto a entidade remetente quanto aquela de destino, localizadas em território nacional, devem possuir o Certificado de Qualidade em Biossegurança - CQB;
- Para caso de transporte de OGMs do Grupo I, o pesquisador principal deverá notificar, anteriormente à remessa do material, as CIBios, tanto de sua instituição, quanto da instituição de destino;
- No caso de OGMs do Grupo II, o pesquisador principal interessado notificará a CIBio de sua instituição, que solicitará o acordo da CIBio da instituição de origem ou de destino e submeterá a solicitação de

autorização para o transporte à CTNBio. A Secretaria Executiva da CTNBio comunicará o parecer final às CIBios envolvidas;

- O pesquisador principal remetente informará a CIBio de sua entidade e àquela da entidade de destino sobre o conteúdo, o volume, o local e as condições de embalagem, para OGMs das classes de risco I e II;
- O pesquisador principal remetente informará à CIBio e ao transportador sobre os cuidados no transporte e sobre os procedimentos de emergência no caso de escape ou acidente durante o mesmo;
- O pesquisador principal remetente deve assegurar que o OGM a ser transportado estará contido em embalagens firmemente fechadas ou vedadas, para prevenir o escape do mesmo. Serão utilizados sempre dois recipientes, ambos claramente identificados: um interno (ex.: tubo de ensaio, placa de Petri, envelope com sementes), o qual conterá o OGM a ser transportado, dentro de um segundo recipiente inquebrável. O recipiente externo deverá ser cuidadosamente embalado para a remessa, em caixa de papelão, madeira ou outro material que ofereça resistência durante o transporte;
- Para o transporte de OGMs do Grupo II, o recipiente interno deverá ser inquebrável, claramente identificado e fechado, de forma a evitar o escape do material. Caso sejam enviados vários recipientes com OGM, a embalagem externa deverá conter material absorvente e protetores de impacto, dispostos entre aqueles que contêm o OGM. A embalagem exterior deve possuir proteção adequada conforme descrito anteriormente;
- Para transporte conjunto de OGMs em vários volumes, cada recipiente deverá ser envolvido com material apropriado para proteção contra impacto, além das considerações referidas nos itens acima;
- Líquidos em volume total até 50 ml: O recipiente interno (tubo de ensaio, frasco) deverá ser cuidadosamente fechado e estar contido dentro de um segundo recipiente, inquebrável e resistente à impactos. Ambos deverão ser adequadamente vedados, de modo a impedir a entrada e/ou a saída de líquidos. Caso necessário, o recipiente interno poderá ser envolvido por mais de um recipiente externo, visando maior segurança. O recipiente externo deverá

conter material para absorção de líquido que possa escapar do recipiente interno. O conjunto deverá ser adequadamente embalado, em caixa de papelão, madeira ou outro material que ofereça resistência durante o transporte;

- Líquidos em volume maior do que 50 ml: Além das exigências descritas anteriormente, deverá ser utilizado material absorvente e protetor de impactos entre os conjuntos. Cada recipiente interno não poderá conter mais do que 1.000 ml de material e o volume total da remessa não poderá ser superior a 4.000 ml;
- Transporte de espécime congelado - gelo seco: O recipiente externo contendo gelo seco deverá permitir escape de gás CO₂;
- Transporte de espécime congelado - nitrogênio líquido: Deverão ser utilizados recipientes ou botijões apropriados para utilização de nitrogênio líquido. Devem ser obedecidas as regras convencionais para o transporte de botijões de nitrogênio líquido;
- Para todos os casos acima, as embalagens devem ser claramente identificadas com o símbolo de biossegurança e de “frágil” com a seguinte mensagem: **“Cuidado: abertura autorizada apenas no interior do laboratório por técnico especializado”**. A embalagem externa deverá conter o nome, endereço completo e telefone, tanto do destinatário quanto do remetente;
- No caso de transporte para fora do país, a CIBio da entidade remetente será responsável pelo cumprimento das exigências destas normas, inclusive encaminhando à CTNBio a solicitação de autorização para o transporte de OGMs da classe de risco II;
- Após a chegada do material, o destinatário deverá notificar o remetente sobre o seu recebimento e sobre as condições do mesmo;
- No caso de importação ou exportação, o pesquisador principal deverá informar à CIBio local sobre a intenção do recebimento ou envio do material, bem como enviar ao remetente ou destinatário as informações relevantes sobre o transporte, contidas nestas normas. A importação de OGMs, tanto da classe de risco I quanto II, deverá obedecer às normas específicas elaboradas para este fim pela CTNBio;

- Casos não previstos nestas normas deverão ser levados à consideração da CTNBio.

Procedimento para descarte de resíduos

Todo material biológico ou derivado de trabalho com material biológico pode representar risco adicional à saúde pública, animal e ambiental. Portanto, considerando as premissas da precaução e prevenção, devemos adotar procedimentos adequados para garantir a segurança individual e coletiva durante o transporte de material biológico e descarte de resíduos.

Como exemplos de material biológico e resíduos devemos considerar:

- 1) Culturas, inóculos, mistura de micro-organismos e meio de cultura inoculado, proveniente de laboratórios, salas e casas de vegetação onde são realizadas as pesquisas;
- 2) Meios de cultivos contaminados ou fora da validade;
- 3) Filtros de sistemas de refrigeração e de fluxos laminares alocados em áreas de trabalho com micro-organismos;
- 4) Qualquer material derivado de organismos, tais como restos celulares, sobrenadantes de cultivos, extratos derivados de OGM;
- 5) Frascos e ponteiras descartáveis, vidrarias (Erlenmeyer, placas, alças de Drigalsky etc.), pipetas automáticas e/ou equipamentos utilizado durante manipulação, incubação e estocagem de OGM.

Os procedimentos relativos a descarte de resíduos estão descritos no Procedimento Operacional Padrão - Recomendações para Descarte de Materiais ou Resíduos na Sala de Lavagem e Esterilização (código 023.03.02.12.1.001) disponível na intranet da Embrapa Agrobiologia.

Considerações finais

A Comissão Interna de Biossegurança da Embrapa Agrobiologia preparou este manual para que ele seja adotado principalmente nas áreas onde atividades com OGMs são realizadas. Nele também

estão apresentados os POPs e outros documentos que deverão ser considerados pelos técnicos principais e sua equipe durante a preparação do pedido de autorização e acompanhamento de atividades com OGM.

Referências Bibliográficas

BERG, P.; BALTIMORE, D.; BOYER, H.W.; COHEN, S. N.; DAVIS, R.W.; HOGNES, D. S.; NATHANS, D.; ROBLIN, R.; WATSON, J. D.; WEISSMAN, S.; ZINDER, N. D. Potential biohazards of recombinant DNA molecules. **Science**, New York, v.185, p.303, 1974.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de **Diário Oficial da União**, Brasília, 28 mar. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.608 de 5 de julho de 2007. Aprova a Classificação de Risco dos Agentes Biológicos elaborada em 2006, pela Comissão de Biossegurança em Saúde (CBS) do Ministério da Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, 6 jul. 2007a. Seção 1, p. 61

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 6041, de 8 de fevereiro de 2007. Institui a Política de Desenvolvimento da Biotecnologia, cria o Comitê Nacional de Biotecnologia e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 9 fev. 2007b

BRASIL. Ministério da Saúde. **Classificação de risco dos agentes biológicos**. 2 ed. Brasília: 2010. 70 p.

CTNBio. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Instrução Normativa CTNBio nº 4, de 19.12.96: **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 dez. 1996. Seção I, pág. 27.820. Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/138.html>> Acesso em: 23 ago. 2013.

ESTEVES, P. A.; LIMA, G. J. M. M.; HIGARASHI, M. M.; SCHAEFER, R.; LAZZAROTTI, M.; ZANELLA, J. R. C. **Manual de biossegurança Embrapa Suínos e Aves**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. 86 p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 150).

HIRATA, M. H, MANCINI FILHO, J. **Manual de Biossegurança**. São Paulo: Manole Editora, 2008. 496 p.

HOFFMANN, L. V.; BRITO, G. G.; ROCHA, G. M.; SILVA, I. C.; CARVALHO, L. P.; LIMA, L. M.; LIMA, M. M. de A.; ARRIEL, N. H. C. **Manual de biossegurança para experimentos com OGM da Embrapa Algodão**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009. 19 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 224).

NORMAN, C. Genetic manipulation: guidelines issued. **Nature**, London, v. 262, p.2-4, 1976.

OLIVEIRA, E. M. M.; COURI, S.; FELBERG, I.; PENHA, E. M.; SIQUEIRA, R. S.; GONÇALVES, N. B.; CARVALHO, J. L. V.; FARIAS, A. X. **Manual de biossegurança da Embrapa Agroindústria de Alimentos: laboratórios e plantas-piloto**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2004. 20 p. (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Documentos, 57).

VASCONCELOS, M. J. V.; LANA, U. G. P. **Manual de Biossegurança da Embrapa Milho e Sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 62 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 90).

Embrapa

Agrobiologia

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA