

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

# **Documentos 130**

## **Manual de Biossegurança da Embrapa Gado de Leite**

*Marta Fonseca Martins Guimarães  
Juliana de Almeida Leite  
Marcelo Henrique Otenio  
Luiz Sérgio de Almeida Camargo  
Lilian Tamy Iguma*

Embrapa Gado de Leite  
Juiz de Fora, MG  
2008

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Gado de Leite**

Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Bairro Dom Bosco

36038-330 Juiz de Fora – MG

Fone: (32) 3249-4700

Fax: (32) 3249-4751

Home page: <http://www.cnpagl.embrapa.br>

E-mail: [sac@cnpagl.embrapa.br](mailto:sac@cnpagl.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Pedro Braga Arcuri

Secretária-Executivo: Inês Maria Rodrigues

Membros: Alexandre Magno Brighenti dos Santos, Aloísio Torres de Campos, Carlos Eugênio Martins, Carlos Renato Tavares de Castro, Edna Froeder Arcuri, Francisco José da Silva Lédo, Jackson Silva e Oliveira, Juliana de Almeida Leite, Luiz Sérgio Almeida Camargo, Marcelo Dias Muller, Marcelo Henrique Otênio, Maria Gabriela Campolina Diniz Peixoto, Marlice Teixeira Ribeiro, Wadson Sebastião Duarte da Rocha

Supervisão editorial: Marta Fonseca Martins Guimarães

Tratamento de ilustrações: Leonardo Fonseca

Editoração eletrônica: Leonardo Fonseca

Arte da capa: Xênia Nascimento Leite (estagiária)

**1ª edição**

1ª impressão (2008): 100 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 Gado de Leite**

Manual de Biossegurança da Embrapa Gado de Leite / Marta Fonseca Martins Guimarães ... [et al.]. – Juiz de Fora : Embrapa Gado de Leite, 2008.

58 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 130).

ISSN 1516-7453

1. OGM. 2. Segurança de laboratório. 3. Resíduos biológicos. I. Guimarães, Marta Fonseca Martins. II. Leite, Juliana de Almeida. III. Otênio, Marcelo Henrique. IV. Camargo, Luiz Sérgio de Almeida. V. Iguma, Lilian Tamy. VI. Série.

CDD 637.1

© Embrapa 2008

# **Autores**

## **Marta Fonseca Martins Guimarães**

Bióloga, D.Sc. – Embrapa Gado de Leite  
Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Dom Bosco  
36038-330 Juiz de Fora, MG  
mmartins@cnpagl.embrapa.br

## **Juliana de Almeida Leite**

Bióloga, D.Sc. – Embrapa Gado de Leite  
Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Dom Bosco  
36038-330 Juiz de Fora, MG  
juliana@cnpagl.embrapa.br

## **Marcelo Henrique Otenio**

Farmacêutico Bioquímico, D.Sc. – Embrapa Gado de Leite  
Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Dom Bosco  
36038-330 Juiz de Fora, MG  
otenio@cnpagl.embrapa.br

## **Luiz Sérgio de Almeida Camargo**

Médico Veterinário, D.Sc. – Embrapa Gado de Leite  
Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Dom Bosco  
36038-330 Juiz de Fora, MG  
camargo@cnpagl.embrapa.br

## **Lilian Tamy Iguma**

Médica-veterinária, D.Sc.



# Apresentação

Este documento constitui mais uma etapa de um esforço que vem sendo realizado pela Comissão Interna de Biossegurança da Embrapa Gado de Leite no intuito de informar, atualizar e despertar o senso crítico dos colaboradores desta Unidade durante a realização das suas atividades de pesquisa.

É imprescindível a adoção de condutas seguras por parte dos estagiários, laboratoristas, analistas e pesquisadores visando minimizar os riscos decorrentes das atividades. Neste intuito a Embrapa Gado de Leite apresenta o Documento N° 130 como manual norteador dos procedimentos a serem adotados em situações de manuseio de amostras biológicas, materiais perfurocortantes, vidrarias, equipamentos de proteção individual (EPI) e coletivo (EPC) e disposição final de resíduos biológicos. Esperamos que este documento contribua para a prevenção de acidentes que possam decorrer de atividades inseguras.

*Duarte Vilela*

Chefe-geral Embrapa Gado de Leite



# Sumário

<b>Introdução</b> .....	9
<b>O que é a CTNBio?</b> .....	10
<b>O que é a CIBio?</b> .....	11
<b>O que é Biossegurança?</b> .....	11
<b>Trabalho com patógenos</b> .....	13
<b>Trabalho com Organismos Geneticamente Modificados</b> .....	25
<b>Trabalho com Animais Geneticamente Modificados</b> .....	31
<b>Gerenciamento de Resíduos Biológicos e Biosseguranças</b> ..	35
<b>Telefones úteis</b> .....	49
<b>Referências bibliográficas</b> .....	50
<b>Anexo 1</b> .....	52
<b>Anexo 2</b> .....	58





# Manual de Biossegurança da Embrapa Gado de Leite

---

*Marta Fonseca Martins Guimarães*

*Juliana de Almeida Leite*

*Marcelo Henrique Otenio*

*Luiz Sérgio de Almeida Camargo*

*Lilian Tamy Iguma*

## Introdução

Nos primeiros anos da década de 90, iniciou-se uma grande preocupação mundial envolvendo questões de Biossegurança. Prova disso foi a proposição da Agenda 21, que ocorreu durante a Conferência das Nações Unidas sobre o Ambiente e Desenvolvimento (CNUMAD), conhecida como Eco 92, no Rio de Janeiro em 1992 (United Nations Division for Sustainable Development, 1992). O princípio 14 deste documento determina que os estados devem cooperar efetivamente para desencorajar ou prevenir a realocação e transferência para outros estados de qualquer atividade ou substância que cause grave degradação ambiental, ou seja, nocivo à saúde humana. Como continuação destes esforços, ocorreu, em 1999, a Conferência sobre Diversidade Biológica em Cartagena, Colômbia. Esta conferência gerou o Protocolo de Cartagena (Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2000). Baseado no princípio 15 do Relatório da CNUMAD, o objetivo do Protocolo de Cartagena foi assegurar um nível adequado de proteção envolvendo a transferência, manipulação e uso de Organismos Geneticamente Modificados (OGMs), resultantes da biotecnologia moderna, que podem ter efeitos adversos na conservação e no uso sustentável da diversidade biológica, levando em consideração os riscos para a saúde humana e principalmente focando na movimentação transfronteiriça.

No Brasil, a Legislação de Biossegurança está formatada para os aspectos de Biossegurança relativos a OGMs. Esta Lei estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização sobre a construção, o cultivo, a produção, a manipulação, o transporte, a transferência, a importação, a exportação, o armazenamento, a pesquisa, a comercialização, o consumo, a liberação no meio ambiente e o descarte de organismos geneticamente modificados (OGM) e seus derivados. O objetivo dessa legislação, entre outros, é a proteção à vida e à saúde humana, animal e vegetal. A lei que rege os princípios de Biossegurança é a Lei nº 11.105, de 24 de Março de 2005. Esta lei estabelece regulamentações específicas para diversas atividades. Mais detalhes sobre essa legislação podem ser obtidos na página da CTNBio<sup>1</sup>.

## O que é a CTNBio?

A CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança) é uma instância colegiada multidisciplinar, criada com a finalidade de prestar apoio técnico consultivo e de assessoramento ao Governo Federal na formulação, atualização e implementação da Política Nacional de Biossegurança (PNB) relativa a OGMs, bem como no estabelecimento de normas técnicas de segurança e 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.

A CTNBio é formada por 27 cidadãos brasileiros com grau de doutor e destacada atividade profissional nas áreas de Biossegurança, biotecnologia, biologia, saúde humana e animal e meio ambiente. Dentre estes são indicados representantes dos ministérios e secretarias envolvidos com o tema como, Ciência e Tecnologia (MCT), Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Meio Ambiente (MMA), Saúde (MS), Desenvolvimento Agrário (MDA), Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDICE), Defesa (MD), Relações Exteriores (MRE) e Secretaria Especial de Aquicultura e Pes-

---

<sup>1</sup><http://www.ctnbio.gov.br/> (Acesso em Julho de 2007).

ca, de especialistas de notório saber científico das áreas de saúde humana, área animal, vegetal e meio ambiente, e especialistas indicados pelos ministérios em defesa do consumidor (Ministério da Justiça - MJ), saúde (MS), meio ambiente (MMA), biotecnologia (MAPA), agricultura familiar (MDA) e saúde do trabalhador (Ministério do Trabalho e Emprego - MTE).

## O quê é a CIBio?

A CIBio (Comissão Interna de Biossegurança) é a instância responsável pela regulamentação e acompanhamento de procedimentos de Biossegurança relacionados a OGMs no âmbito da instituição na qual estão sendo realizadas pesquisas básicas, aplicadas e testes comerciais. As entidades que utilizam técnicas e métodos de DNA recombinante devem ter uma CIBio, além de indicar para cada projeto específico um responsável pela condução das atividades.

As CIBios são componentes essenciais para o monitoramento e vigilância dos trabalhos de engenharia genética, manipulação, produção e transporte de OGM e para fazer cumprir a regulamentação de Biossegurança (CTNBio, 2007). Até agosto de 2007 existiam 231 registros de instituições públicas e privadas credenciadas pela CTNBio para desenvolver pesquisas com OGMs, das quais algumas efetivamente conduzem liberações planejadas no meio ambiente. Como exemplo, temos na Embrapa projetos que atualmente estão desenvolvendo variedades de feijão resistentes ao vírus do mosaico dourado, batata resistente a diversos vírus, algodão resistente ao bicudo e mamão papaia resistente ao vírus da mancha anelar, dentre outros.

## O quê é Biossegurança?

A palavra Biossegurança vem da expressão “segurança biológica”. Basicamente, Biossegurança é o conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, visando à saúde do homem, dos animais, a preservação do meio ambiente e a qualidade dos resultados (Teixeira & Valle, 1996).

Sempre que procedimentos específicos para evitar ou minimizar os riscos de atividades potencialmente perigosas que envolvem organismos vivos são adotados, a Biossegurança está sendo praticada.

Outra visão do conceito de Biossegurança, segundo ALMEIDA & ALBUQUERQUE, 2000, é:

“A biossegurança designa não propriamente uma disciplina, em sentido estrito, mas um campo de conhecimentos e um conjunto de práticas e ações técnicas, com preocupações sociais e ambientais, destinados a conhecer e controlar os riscos que o trabalho científico pode oferecer ao ambiente e à vida”.

Ao trabalharmos em um laboratório, devemos sempre ter cuidado para que não ocorra contaminação da equipe do laboratório, dos profissionais da limpeza, dos equipamentos, do meio-ambiente e do próprio usuário. Com esse objetivo, devemos estar atentos a alguns procedimentos:

- Manter sempre o laboratório limpo e organizado;
- O pesquisador responsável pela equipe técnica do seu laboratório deve orientar e exigir que as regras de Biossegurança sejam cumpridas;
- Conhecer os perigos oferecidos pelos produtos químicos e materiais biológicos que são manipulados;
- Entender as técnicas e procedimentos que serão utilizados durante o experimento;
- Planejar bem os protocolos, delineando os procedimentos que serão realizados, o material que será consumido, os possíveis riscos e como se proteger desses riscos.
- Utilizar os Equipamentos de Proteção Individual e Coletiva corretamente e sempre que necessário.

Muitas vezes, acidentes nos laboratórios ocorrem por inexperiência do corpo técnico ou devido a estresse do profissional, por isso:

***NA DÚVIDA, SEMPRE PERGUNTE***

***e***

***NÃO TRABALHE SOB TENSÃO***

## Trabalho com patógenos

Nos laboratórios onde microorganismos são manipulados, existe um risco em potencial de infecção ou contaminação. Deste modo é importante conhecer a classe de risco e avaliar os possíveis riscos envolvidos na manipulação de um determinado microorganismo.

### Classes de Risco dos Agentes Biológicos

Os agentes biológicos humanos e animais são divididos em cinco classes, de acordo com os seguintes critérios de patogenicidade: alteração genética ou recombinação gênica; estabilidade; virulência; modo de transmissão; endemicidade; conseqüências epidemiológicas e disponibilidade de medidas profiláticas e de tratamento eficaz.

### Classes de risco

Existem cinco classes de risco para os agentes biológicos. De acordo com o MS (2004), essas classes se caracterizam da seguinte forma:

#### Classe de risco 1

O risco individual e para a comunidade é baixo. Aplica-se a agentes biológicos bem caracterizados, que têm probabilidade nula ou baixa de provocar infecções no homem ou em animais sadios e de risco potencial mínimo para o profissional do laboratório e para o ambiente. Exemplo: microorganismos do gênero *Lactobacillus*.

#### Classe de risco 2

O risco individual é moderado e para a comunidade é limitado. Aplica-se a agentes biológicos que provocam infecções no homem ou nos animais, cujo risco de propagação na comunidade e de disseminação no meio ambiente é limitado, não constituindo em sério risco a quem os manipula em condições de contenção, pois existem medidas terapêuticas e profiláticas eficientes. Exemplo: *Schistosoma mansoni*.

#### Classe de risco 3

O risco individual é alto e para a comunidade é limitado. Aplica-se a agentes biológicos que provocam infecções, graves ou potencialmente

letais, no homem e nos animais e representa um sério risco a quem os manipulam. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de indivíduo para indivíduo, mas usualmente existem medidas de tratamento e/ou de prevenção. Exemplo: *Bacillus anthracis*.

### **Classe de risco 4**

O risco individual e para a comunidade é elevado. Aplica-se a agentes biológicos de fácil propagação, altamente patogênicos para o homem, animais e meio ambiente, representando grande risco a quem os manipula, com grande poder de transmissibilidade via aerossol ou com risco de transmissão desconhecido, não existindo medidas profiláticas ou terapêuticas. Exemplo: Vírus Ebola.

### **Classe de risco 5**

O risco de causar doença animal grave e de disseminação no meio ambiente é alto. Aplica-se a agentes, de doença animal, não existentes no País e que, embora não sejam patogênicos de importância para o homem, podem gerar graves perdas econômicas e na produção de alimentos. Os agentes dessa classe devem ter sua importação proibida e, caso sejam identificados ou suspeitada sua presença no país, devem ser manipulados em laboratórios de contenção máxima, ou seja, NB-4. Exemplo: vírus da gripe aviária e da doença de Newcastle (cepas asiáticas).

## **Níveis de Biossegurança**

Os microorganismos são classificados em quatro níveis de Biossegurança (NB): NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4 de acordo com os requisitos crescentes de segurança para o manuseio destes agentes biológicos. De acordo com a OMS (2004), essa classificação é baseada em:

- Patogenicidade do organismo.
- Modo de transmissão e espectro de hospedeiro do organismo: esses podem ser influenciados pelos níveis de imunidade existente na população local, densidade e movimento da população hospedeira, presença de vetores apropriados, e padrão de higiene do ambiente.
- Disponibilidade local de medidas preventivas efetivas: essas incluem profilaxia por imunização ou administração de anti-soro, medidas sanitárias

(ex: tratamento da água e comida), controle de reservatórios animais ou vetores artrópodes.

- Disponibilidade local de tratamento eficiente: essas incluem imunização passiva, vacinação pós-exposição, e devem levar em consideração a possibilidade de emergência de linhagens resistentes a antibióticos.

Na Embrapa Gado de Leite os trabalhos de pesquisa desenvolvidos atualmente requerem laboratórios de NB-1 e/ou NB-2.

## **Nível de Biossegurança 1 - NB-1**

Este é o nível de Biossegurança requerido para o trabalho envolvendo material biológico que contenha agentes biológicos da classe de risco 1. Representa um nível básico de contenção que se fundamenta na aplicação das Boas Práticas de Laboratório, na utilização de equipamentos de proteção individual (EPI) e adequação das instalações com ênfase em indicadores de Biossegurança (Ministério da Saúde, 2004).

Um laboratório para o NB-1 não precisa ser separado das demais dependências do edifício e o trabalho em geral é conduzido em bancada. Equipamentos de contenção específicos não são exigidos neste tipo de laboratório.

Alguns procedimentos padrão devem ser observados para laboratório de NB-1, como (MS, 2004; OMS, 2004, U.S. Department of Health and Human Services et al., 2007):

### **Acesso**

- O acesso ao laboratório deve ser limitado, sendo permitido apenas a pessoas autorizadas.
- As portas do laboratório devem ser mantidas fechadas
- Crianças não devem ter permissão para entrar no laboratório.
- Animais não devem ser admitidos no laboratório, exceto aqueles envolvidos em experimentos.
- O acesso ao laboratório deve apresentar as áreas de circulação desobstruídas e livres de equipamentos e estoques de materiais.
- A sinalização contendo o símbolo internacional de risco biológico, advertência de área restrita, identificação e telefone de contato do profissional

responsável, deve ser afixada na porta de acesso ao laboratório onde há o manuseio de material biológico.

### Proteção pessoal

- As pessoas devem lavar as mãos antes e após a manipulação de agentes de risco e antes de saírem do laboratório.
- Não se pode comer, beber, fumar e aplicar cosméticos (maquiagem, cremes, dentre outros) nas áreas de trabalho do laboratório.
- Recomenda-se a não utilização de cosméticos e adereços (brincos, pulseiras, relógio, dentre outros) no laboratório.
- Não se deve levar qualquer objeto à boca no laboratório.
- Jalecos, aventais ou uniformes devem ser usados durante todo o período de trabalho no laboratório.
- Luvas apropriadas devem ser usadas em todos os procedimentos que possam envolver contato direto ou acidental com sangue, fluidos corpóreos e outros materiais infecciosos em potencial ou animais infectados.
- Após o uso, as luvas devem ser removidas e descartadas assepticamente e as mãos devem ser bem lavadas.
- Óculos de segurança, protetores faciais (visores) ou outros aparatos de proteção devem ser usados quando houver necessidade de proteger os olhos e face de respingos, objetos impactantes e fonte artificial de radiação de ultravioleta.
- As roupas de proteção, como jalecos, não devem ser usadas fora do laboratório, como por exemplo, em cantinas, escritórios, biblioteca, banheiros etc.
- As roupas de proteção que são utilizadas nos laboratórios não devem ser guardadas no mesmo local que as roupas pessoais.
- Por segurança, sapatos devem ser do tipo fechado e, sempre que possível, recomenda-se a utilização de pró-pés descartáveis. Sapatos abertos (ex: sandálias) ou de salto alto não devem ser utilizados nos laboratórios.

### Procedimentos

- As pipetagens deverão sempre ser realizadas com dispositivos apropriados, nunca com a boca diretamente.
- Todos os procedimentos técnicos devem ser realizados de forma a minimizar a formação de aerossóis e gotículas.
- Todos os procedimentos, sejam técnicos ou administrativos, devem estar descritos, ser de fácil acesso e do conhecimento dos técnicos envolvidos em sua execução.



- O uso de agulhas e seringas hipodérmicas deve ser limitado. Elas não devem ser utilizadas como substitutas para pipetas ou micropipetas ou para qualquer finalidade que não seja injeção parenteral ou aspiração de fluidos dos animais do laboratório.
- No descarte, as agulhas usadas não devem ser dobradas, quebradas, reutilizadas, recapeadas, removidas das seringas ou manipuladas antes de serem desprezadas.
- Os materiais perfurocortantes devem ser manuseados cuidadosamente.
- O descarte do material perfurocortante deve ser realizado em recipiente de paredes rígidas, resistentes à punctura, ruptura e vazamento, com tampa, devidamente identificados, segundo normas legais e técnicas vigentes, localizado próximo à área de trabalho, sendo expressamente importante não esvaziar esses recipientes para o seu reaproveitamento.
- Qualquer derramamento, acidente e exposição potencial ou confirmada a materiais infecciosos devem ser relatados ao responsável pelo laboratório. Registros por escrito desses acidentes e incidentes devem ser mantidos.
- As vidrarias devem ser descartadas em recipiente próprio e adequado e as que estiverem quebradas não devem ser manipuladas diretamente com a mão, devem ser removidas por meio de meios mecânicos, como uma vassoura e uma pá de lixo ou pinças e descartadas em recipientes adequados.
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas antes e ao final de cada turno de trabalho e sempre que ocorrer derramamento de material biológico.
- Instruções por escrito de como limpar todos os derramamentos devem ser desenvolvidas, informadas e seguidas.
- Líquidos contaminados devem ser devidamente descontaminados (química ou fisicamente) antes de serem descartados.
- Todos os resíduos devem ser descartados segundo normas legais e técnicas vigentes e em cumprimento ao Plano de Gerenciamento de Resíduos da Embrapa Gado de Leite
- Documentos que forem sair do laboratório devem ser protegidos de contaminações enquanto estiverem no laboratório.
- Devem ser mantidas a limpeza e a organização do laboratório.
- Materiais e reagentes devem ser estocados em instalações apropriadas no laboratório, onde deve haver sempre disponível caixa de primeiros socorros.
- Não manter alimentos e plantas que não sejam objetos de análise do laboratório.

- É necessária a organização de normas para um plano de contingência e emergência.
- Deve ser mantida uma rotina de controle de artrópodes e roedores.

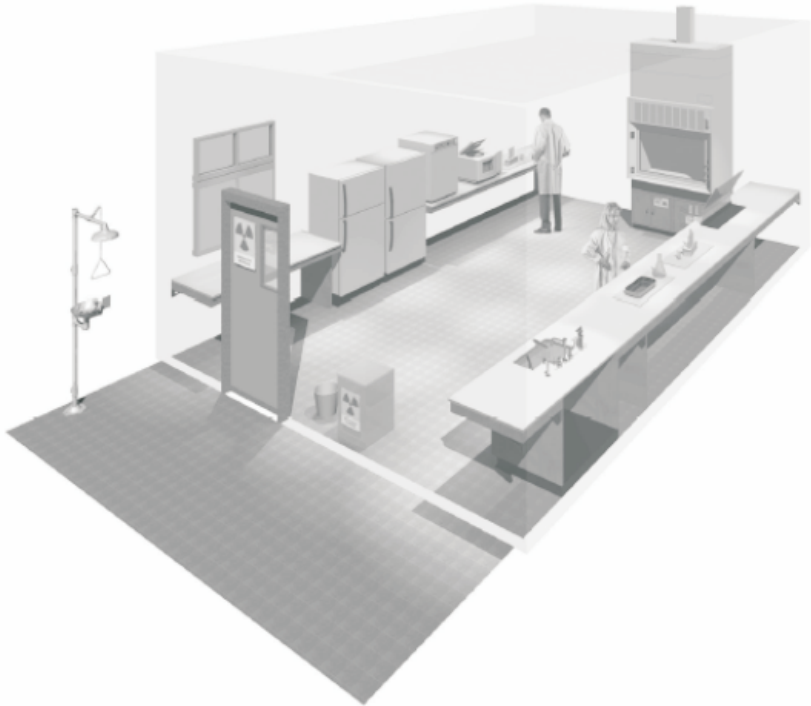
### Instalações laboratoriais

- As instalações laboratoriais devem ser compatíveis com as regulamentações municipais, estaduais e federais.
- O espaço do laboratório deve ser amplo para que o trabalho laboratorial possa ser conduzido de forma segura.
- As paredes, o teto e os pisos do chão devem ser lisos, não porosos, sem reentrâncias, com cantos arredondados, fáceis de limpar, impermeáveis a líquido e resistente a produtos químicos e desinfetantes normalmente utilizados no laboratório.
- O chão deve ser antiderrapante.
- Os topos dos bancos devem ser impermeáveis à água e resistentes a desinfetantes, ácidos, alcalinos, solventes orgânicos e calor moderado.
- A iluminação artificial deve ser adequada para todas as atividades. Reflexos indesejáveis e luz ofuscante devem ser evitados.
- As instalações físicas referentes à segurança laboratorial e proteção contra incêndio devem estar de acordo com as regulamentações de segurança do Corpo de Bombeiros local e as normas legais e técnicas vigentes.
- As rotas de fuga e saídas de emergência devem estar identificadas e, preferencialmente, localizadas nas circulações públicas e nos laboratórios, na direção oposta às portas de acesso, com saída direta para a área externa da edificação.
- As portas de saída de emergência devem estar identificadas, dotadas de barra anti-pânico, que permita a abertura com um pequeno toque, conforme normas legais e técnicas vigentes.
- As instalações elétricas para os laboratórios e instalações elétricas de equipamentos eletroeletrônicos ou equipamentos associados à operação e/ou controle de sistemas de climatização devem ser projetadas, executadas, testadas e mantidas em conformidade com as normas legais e técnicas vigentes.
- A edificação deve possuir sistema de proteção contra descargas atmosféricas, os equipamentos eletro-eletrônicos devem estar conectados a uma rede elétrica estabilizada e aterrada e todas as tomadas e disjuntores devem ser identificados, conforme estabelecido nas normas legais e técnicas vigentes.

- Todas as tubulações das instalações prediais devem ser adequadas, identificadas e mantidas em condições de perfeito funcionamento, conforme normas legais e técnicas vigentes.
- O sistema de abastecimento de água deve possuir reservatório suficiente para as atividades laboratoriais e para a reserva de combate a incêndio. A água de abastecimento deve atender as especificidades do laboratório e seguir os critérios técnicos vigentes.
- As circulações horizontais e verticais tais como corredores, elevadores, monta-cargas, escadas e rampas devem estar de acordo com as normas legais e técnicas vigentes.
- As portas devem ser mantidas fechadas e possuir visores, exceto quando haja recomendação contrária.
- As portas para passagem de equipamentos devem possuir dimensões com largura mínima de 1,10 m.
- As janelas e as portas devem ser de materiais e acabamentos que retardem o fogo e facilitem a limpeza e a manutenção.
- Não é necessário requisito especial de ventilação, além daqueles estabelecidos pelas normas legais e técnicas vigentes.
- As janelas com abertura para área externa ao laboratório devem conter telas de proteção contra insetos.
- Deve haver espaço suficiente entre as bancadas, cabines e equipamentos de modo a permitir acesso fácil para a realização da limpeza.
- A superfície das bancadas deve ser revestida por material impermeável, liso, sem emenda ou ranhura e resistente ao calor moderado e a ação dos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e solventes químicos utilizados na descontaminação das superfícies.
- O mobiliário do laboratório deve evitar detalhes desnecessários, bem como reentrâncias, saliências, quebras, cantos, frisos e tipos de puxadores que dificultem a limpeza e a manutenção, e atender os critérios de ergonomia, conforme normas legais e técnicas vigentes.
- As cadeiras e outros móveis utilizados no trabalho laboratorial devem ser revestidos com um material que não seja absorvente e que possa ser facilmente descontaminado.
- Cada laboratório deve possuir pelo menos um lavatório exclusivo para lavagem das mãos, localizado próximo à saída do laboratório.
- Deve estar previsto um local, dentro do laboratório, próximo ao acesso, para guarda de jalecos e outros equipamentos de proteção individual, utilizados no laboratório.

- Deve existir local fora das áreas laboratoriais para guarda de pertences e troca de vestimentas.
- Prever local, dentro do laboratório, para a guarda de substâncias e materiais de uso freqüente, devidamente identificados e catalogados para controle interno, em armários, prateleiras ou castelos. Para estocagem de grandes volumes e das demais substâncias e materiais, deve haver um local em condições adequadas, fora das áreas laboratoriais, e em concordância com as normas legais e técnicas vigentes.
- Deve existir um local específico, externo, coberto, ventilado e em condições de segurança para armazenamento de cilindros de gases, conforme normas legais e técnicas vigentes. Os cilindros de gases devem ser mantidos na posição vertical e possuem dispositivos de segurança de forma a evitar quedas ou tombamentos. Cilindros pressurizados, de quaisquer dimensões, de alimentação das redes, não devem estar presentes na área interna do laboratório.
- A edificação laboratorial deve possuir um abrigo isolado, identificado, para armazenamento temporário dos resíduos, separado por tipo, com local para higienização de containeres, provido de ponto de água, no pavimento térreo ou em área externa à edificação, com saída para o exterior, de fácil acesso aos carros coletores. Estas áreas devem ser cobertas, ventiladas, com piso, paredes e tetos revestidos de materiais lisos, impermeáveis e resistentes a substâncias químicas, conforme normas legais e técnicas vigentes. O acesso a essas áreas deve ser restrito ao pessoal autorizado.
- Caso o sistema público não disponha de tratamento de efluente sanitário, há necessidade de se prever tratamentos primário e secundário, tal como, tanque séptico e filtro biológico, a fim de evitar a contaminação da rede pública com agentes químicos e biológicos.
- É importante que haja aferição e manutenção técnica periódica dos equipamentos e instalações do laboratório.
- Os materiais e substâncias para limpeza das instalações e equipamentos devem ser os adequados, obedecendo-se às recomendações de manuais técnicos e conforme legislação vigente.
- Faz-se necessária uma rotina de limpeza criteriosa das instalações e equipamentos do laboratório, que deve ser efetuada por pessoal devidamente orientado.

A Fig. 1 ilustra um exemplo de laboratório de NB-1.



**Fig. 1.** Desenho de um típico laboratório de nível de Biossegurança 1 (OMS, 2004).

## **Nível de Biossegurança 2 - NB-2**

Este é o nível de Biossegurança requerido para o trabalho envolvendo material biológico que contenha agentes biológicos da classe de risco 2. Os procedimentos padrão exigidos são os mesmos descritos para laboratório de NB-1. Algumas práticas especiais são requeridas para o laboratório de NB-2 (MS, 2004; OMS, 2004, U.S. Department of Health and Human Services et al., 2007).

### **Procedimentos**

- As equipes do laboratório e de apoio devem receber treinamentos anuais, apropriados sobre os riscos potenciais associados aos trabalhos desenvolvidos.
- Treinamentos adicionais são necessários em caso de mudanças de normas ou de procedimentos.

- O trabalho em laboratório deve ser supervisionado por profissional de nível superior com conhecimento e experiência comprovada na área de Biossegurança.
- O profissional responsável deve implementar políticas e procedimentos com ampla informação a todos que trabalhem no laboratório sobre o potencial de risco relacionado ao trabalho.
- O acesso ao laboratório deve ser restrito a profissionais da área, mediante autorização do profissional responsável.
- Pessoas susceptíveis às infecções, tais como as imunocomprometidas ou imunodeprimidas, não devem ter acesso permitido aos laboratórios e nem mulheres grávidas.
- Cabe ao profissional responsável, a decisão final quanto à análise de cada circunstância e a determinação de quem deve entrar ou trabalhar no laboratório.
- Todo o pessoal deve ser orientado sobre os possíveis riscos e para a necessidade de seguir as especificações de cada rotina de trabalho, procedimentos de Biossegurança e práticas estabelecidas no manual de Biossegurança do laboratório, acessível a todos os funcionários.
- As portas do laboratório devem permanecer fechadas quando os ensaios estiverem sendo realizados, e trancadas ao final das atividades.
- O emblema internacional indicando risco biológico deve ser afixado nas portas dos recintos onde se manuseiam microorganismos pertencentes à classe de risco 2, identificando o(s) agente(s) manipulado(s), o nível de Biossegurança, as imunizações necessárias, o tipo de equipamento de proteção individual que deverá ser usado no laboratório e o nome do profissional responsável, com seu endereço completo e as diversas formas possíveis para a sua localização.
- Os EPI devem ser retirados, antes de se sair do ambiente de trabalho, depositados em recipiente exclusivo para esse fim, em local apropriado e descontaminados antes de serem reutilizados ou descartados.
- Não tocar “superfícies limpas” tais como teclados, telefones, maçanetas, entre outros quando estiver utilizando luvas.
- Um sistema de notificação de acidentes e incidentes, absentéismo de empregados e doenças associadas ao trabalho no laboratório deve ser organizado, bem como um sistema de vigilância em saúde, contemplando programas periódicos de imunização e de controle da saúde ocupacional.

## Instalações laboratoriais

Alguns equipamentos de contenção são necessários em laboratórios de NB-2. Além dos EPI adequados conforme descritos no NB-1, luvas devem ser utilizadas segundo suas indicações, e seu uso restrito ao laboratório. Luvas de látex descartáveis não devem ser lavadas, nem reutilizadas. Devem ser utilizadas cabines de segurança biológicas, classe I ou II, sempre que sejam realizadas culturas de tecidos infectados ou de células germinativas e embriões, bem como procedimentos com elevado potencial de criação de aerossóis, como trituração, homogeneização, agitação vigorosa, ruptura por sonicação, abertura de recipientes contendo material no qual a pressão interna possa ser maior que a pressão ambiente e cultivo de tecidos, fluidos ou ovos de animais infectados (Ministério da Saúde, 2004).

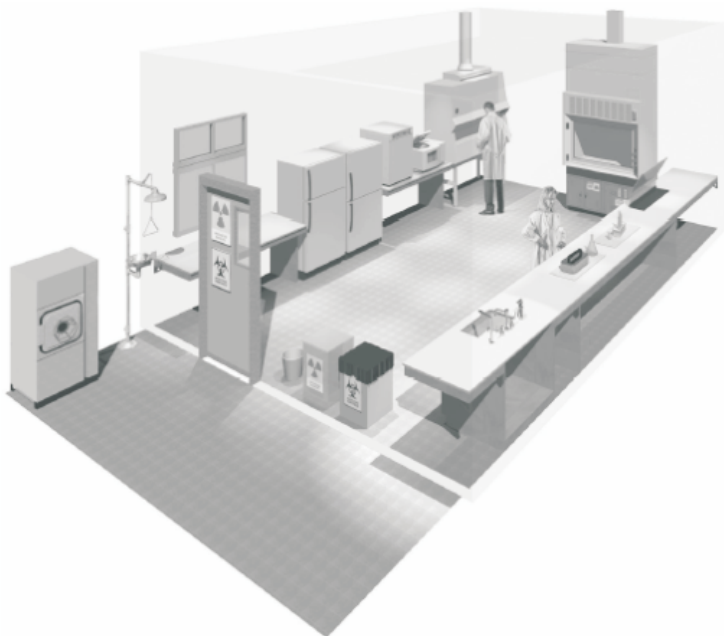
Sempre que o procedimento for potencialmente gerador de aerossóis e gotículas, provenientes de materiais biológicos deve ser utilizada proteção para o rosto (máscaras, protetor facial, óculos de proteção, entre outras). A centrifugação, fora da cabine de segurança biológica, só deve ser efetuada se utilizada centrífuga de segurança e frascos lacrados. Esses só deverão ser abertos no interior da cabine de segurança biológica (MS, 2004).

As instalações para um laboratório de NB-2 devem atender às especificações estabelecidas para laboratórios NB-1, acrescidas das seguintes exigências (MS, 2004; OMS, 2004, U.S. Department of Health and Human Services et al., 2007):

- Devem estar afastadas das áreas de circulação do público.
- É exigido um sistema de portas com trancas no acesso ao laboratório.
- Recomenda-se a instalação de lavatórios, com acionamentos automáticos ou acionados com o cotovelo ou pé, em cada laboratório.
- As cabines de segurança biológica devem ser instaladas longe das passagens de circulação e fora das correntes de ar procedentes de portas ou janelas e de sistemas de ventilação.
- Deve haver espaço de aproximadamente 0,30 m atrás e em cada lado das cabines de segurança biológicas para permitir acesso fácil para a realização da limpeza e manutenção.

- O ar de exaustão das cabines de segurança biológica classe II, filtrado através de filtros HEPA (High Efficiency Particulated Air/Filtro de Ar de Alta Eficiência) e das capelas químicas deve ser lançado acima da edificação laboratorial e das edificações vizinhas, longe de prédios habitados e de tomadas de ar do sistema de climatização.
- O ar de exaustão das cabines de segurança biológica pode recircular no interior do laboratório se a cabine for testada e certificada anualmente.
- No planejamento de novas instalações devem ser considerados sistemas de ventilação que proporcionem um fluxo direcional de ar sem que haja uma recirculação para outras áreas internas da edificação
- A área de escritório deve ser localizada fora da área de biocontenção.
- Uma autoclave ou outros equipamentos de descontaminação devem estar disponíveis na proximidade ou no interior do laboratório, de modo a permitir a descontaminação de todos os materiais infectados.

A Fig. 2 ilustra um exemplo de laboratório de NB-2.



**Fig. 2.** Desenho de um típico laboratório de nível de Biossegurança 2. Procedimentos possíveis de causar aerossóis são realizados em cabines de segurança biológica. As portas são mantidas fechadas e com os emblemas de risco apropriados colados. (OMS, 2004).



## Trabalho com Organismos Geneticamente Modificados

No trabalho com OGMs existe uma grande preocupação, pois envolve combinação de informação genética de diferentes origens, o que pode resultar na criação de organismos que antes não existiam na natureza (OMS, 2003). Antes de serem conduzidos experimentos que envolvam a tecnologia do DNA recombinante, com a construção ou uso de transgênicos, os riscos biológicos devem ser avaliados. Uma propriedade patogênica ou risco potencial associado à manipulação genética de um determinado organismo pode ocorrer, podendo ser uma característica nova e não bem caracterizada.

No Brasil, qualquer atividade que envolva a construção, experimentação, cultivo, manipulação, transporte, comercialização, consumo, armazenamento, liberação e descarte de OGM e derivados precisa ser autorizada pela CTNBio. A CIBio é comissão responsável por encaminhar à CTNBio os documentos para efeito de análise, registro ou autorização de pesquisa com OGM. Deste modo, para os projetos de pesquisa a serem conduzidos na Embrapa Gado de Leite que envolvam a manipulação de OGM, o pesquisador responsável deverá preencher e encaminhar à CIBio da Embrapa Gado de Leite um formulário de pedido de autorização para trabalho com OGM (Anexo 1). Adicionalmente, de acordo com a CTNBio, o pesquisador responsável por atividade envolvendo OGM e seus derivados e/ou pesquisa com OGM deve:

- Assegurar o cumprimento das normas de Biossegurança em conformidade com as recomendações da CTNBio e da CIBio;
- Submeter à CIBio proposta de atividade, especificando as medidas de Biossegurança que serão adotadas;
- Apresentar à CIBio, antes do início de qualquer atividade, as informações e documentação na forma definida nas respectivas Resoluções Normativas da CTNBio;
- Assegurar que as atividades não serão iniciadas até a emissão de decisão técnica favorável pela CTNBio e, quando for o caso, autorizada pelo órgão de registro e fiscalização competente;

- Solicitar a autorização prévia à CIBio para efetuar qualquer mudança nas atividades anteriormente aprovadas, para que seja submetida à CTNBio para aprovação;
- Enviar à CIBio solicitação de autorização de importação de material biológico envolvendo OGM e seus derivados, para que seja submetida à CTNBio para aprovação;
- Solicitar à CIBio autorização para transferência de OGM e seus derivados, dentro do território nacional, com base nas Resoluções Normativas da CTNBio;
- Assegurar que as equipes técnica e de apoio envolvida nas atividades com OGM e seus derivados recebam treinamento apropriado em Biossegurança e que estejam cientes das situações de riscos potenciais dessas atividades e dos procedimentos de proteção individual e coletiva no ambiente de trabalho, mediante assinatura de declaração específica;
- Notificar à CIBio as mudanças na equipe técnica do projeto, enviando currículo dos possíveis novos integrantes;
- Relatar à CIBio, imediatamente, todos os acidentes e agravos à saúde possivelmente relacionados às atividades com OGM e seus derivados;
- Assegurar, junto à instituição responsável, a disponibilidade e a manutenção dos equipamentos e da infra-estrutura de Biossegurança;
- Fornecer à CIBio informações adicionais, quando solicitadas, bem como atender a possíveis auditorias da CIBio.

Assim como os agentes infecciosos, os OGMs também possuem uma classificação em classes de risco. Nessa classificação é considerado o organismo e a sua manipulação. Deste modo, a determinação da classe de risco deve observar a classe de risco do organismo receptor, a classe de risco do organismo doador, a capacidade de replicação no organismo recombinante e fatores patogênicos associados com ao produto do gene inserido, como aumento de virulência, toxicidade, atividade fisiológica ou alergenicidade (NIH, 2002). Segundo a CTNBio (Resolução Normativa CTNBIO N° 02, de 27 de novembro de 2006) deve-se também considerar os seguintes aspectos para a classificação de risco:

- a possibilidade de recombinação de seqüências inseridas no OGM, levando à reconstituição completa e funcional de genomas de agentes infecciosos;
- outros processos que gerem um genoma infeccioso;
- genes que codifiquem substâncias tóxicas ao homem, aos animais, aos vegetais ou que causem efeitos adversos ao meio ambiente;

- genes de resistência a antibióticos de amplo uso clínico.

## **Classes de risco de OGMs**

De acordo com a CTNBio (Resolução Normativa CTNBIO N° 02, de 27 de novembro de 2006), os OGMs são classificados em quatro classes de risco dos OGM:

### **Classe de Risco 1 (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade)**

- OGM que contém seqüências de DNA ou RNA de organismo doador e receptor que não causem agravos à saúde humana e animal e efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente;

### **Classe de Risco 2 (moderado risco individual e baixo risco para a coletividade)**

- OGM que contém seqüências de DNA ou RNA de organismo doador ou receptor com moderado risco de agravo à saúde humana e animal, que tenha baixo risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente;
- Enquadram-se na classe de risco 2 ou superior aqueles vegetais geneticamente modificados (VGM) que são plantas daninhas ou espontâneas, que possam cruzar com estas em área que torne este cruzamento possível, gerando descendentes férteis com maior capacidade de invasão e dano ao meio ambiente do que os parentais; e OGM que sejam vetores biológicos de agentes causadores de agravos à saúde do homem, dos animais, dos vegetais ou ao meio ambiente.

### **Classe de Risco 3 (alto risco individual e risco moderado para a coletividade)**

- OGM que contém seqüências de DNA ou RNA de organismo doador ou receptor, com alto risco de agravo à saúde humana e animal, que tenha baixo ou moderado risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente;

### **Classe de Risco 4 (alto risco individual e alto risco para a coletividade)**

- OGM que contém seqüências de DNA ou RNA de organismo doador ou receptor com alto risco de agravo à saúde humana e animal, que tenha

elevado risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente.

Algumas observações importantes são feitas pela CTNBio (Resolução Normativa CTNBIO N° 02, de 27 de novembro de 2006) em relação aos OGMs:

- A classe de risco do OGM resultante não poderá ser inferior à classe de risco do organismo receptor, exceto nos casos em que exista redução da virulência e patogenicidade do OGM;
- O OGM que contenha seqüências de DNA ou RNA de organismos ou agentes infecciosos desprovidas de potencial de expressão nas atividades e projetos propostos será classificado na mesma classe de risco do organismo receptor;
- O OGM que contenha seqüências de DNA ou RNA derivadas de organismos de classe de risco superior e com potencial de expressão poderá, a critério da CTNBio, ser classificado na classe de risco do organismo receptor, desde que reconhecidamente não associadas à toxicidade ou patogenicidade nas atividades e projetos propostos.
- O OGM que se torne mais apto à sobrevivência no meio ambiente que os organismos nativos e que, a critério da CTNBio, represente uma ameaça potencial à biodiversidade, pode ter sua classe de risco aumentada.

Baseado nessas classes de riscos dos OGMs, a CTNBio (Resolução Normativa CTNBIO N° 02, de 27 de novembro de 2006) determinou quatro níveis de Biossegurança, NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4, que são crescentes no maior grau de contenção e complexidade do nível de proteção.

## **Níveis de Biossegurança de OGMs**

Seguem abaixo as determinações da CTNBio para trabalho com OGMs de classe de risco 1 e 2:

### **Nível de Biossegurança 1**

Adequado às atividades e projetos que envolvam OGM da classe de risco 1, realizadas nas seguintes condições:

- Não é necessário que as instalações estejam isoladas das demais dependências físicas da instituição, sendo as atividades e projetos conduzidos geralmente em bancada, biotério ou casa de vegetação.

- A equipe técnica e de apoio deverá ter treinamento específico nos procedimentos realizados nas instalações e deverá ser supervisionada pelo técnico principal.
- As instalações NB-1 devem ser desenhadas de modo a permitir fácil limpeza e descontaminação.
- A superfície das bancadas deve ser impermeável à água e resistente a ácidos, álcalis, solventes orgânicos e a calor moderado.
- Os espaços entre as bancadas, cabines e equipamentos deve ser suficiente de modo a permitir fácil limpeza.
- OGMs deverão ser manipulados em áreas sinalizadas com o símbolo universal de risco biológico, com acesso restrito à equipe técnica e de apoio ou de pessoas autorizadas.
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas uma vez ao dia ou sempre que ocorrer contaminação.
- 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.
- Deve-se utilizar dispositivo mecânico para pipetagem.
- Alimentos devem ser guardados em áreas específicas para este fim, fora das instalações, sendo proibido comer, beber, fumar e aplicar cosméticos nas áreas de trabalho.
- Antes de deixar as instalações, as mãos devem ser lavadas sempre que tiver havido manipulação de organismos contendo DNA ou RNA recombinante.
- Pias para lavagem das mãos e equipamentos de proteção individual e coletiva devem ser utilizados para minimizar o risco de exposição ao OGM.
- É proibida a admissão de animais que não estejam relacionados ao trabalho em execução nas instalações.
- Extrema precaução deve ser tomada quando forem manuseadas agulhas, seringas e vidros quebrados, de modo a evitar a auto-inoculação e a produção de aerossóis durante o uso e o descarte.
- 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.
- 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.

- Um Manual de Biossegurança deve ser preparado de acordo com as especificidades das atividades realizadas.
- Todo o pessoal deve ser orientado sobre os possíveis riscos e para a necessidade de seguir as especificações de cada rotina de trabalho, procedimentos de Biossegurança e práticas estabelecidas no Manual.
- 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.

## **Nível de Biossegurança 2**

Adequado às atividades e projetos que envolvam OGM de classe de risco 2, realizadas nas seguintes condições:

- As instalações e procedimentos exigidos para o NB-2 devem atender às especificações estabelecidas para o NB-1 acrescidas da necessidade de haver uma autoclave disponível em seu interior, de modo a permitir a descontaminação de todo o material antes do descarte, sem o trânsito do OGM por corredores e outros espaços não controlados.
- Deve-se sempre utilizar cabines de segurança biológica (Classe I ou II).
- Cabe ao Pesquisador ou Técnico Principal a responsabilidade de avaliar cada situação e autorizar quem poderá entrar ou trabalhar nas instalações NB-2.
- Deve ser colocado um aviso sinalizando o nível de risco, identificando o OGM e o nome do Pesquisador ou Técnico Principal, endereço completo e diferentes possibilidades de sua localização ou de outra pessoa responsável e o contato com a CIBio.
- O Pesquisador ou Técnico Principal deve estabelecer políticas e procedimentos, provendo ampla informação a todos que trabalhem nas instalações sobre o potencial de risco relacionado às atividades e projetos ali conduzidos, bem como sobre os requisitos específicos para entrada em locais onde haja a presença de animais para inoculação.
- No interior das instalações, os freqüentadores devem utilizar os equipamentos apropriados de proteção individual tais como jalecos, luvas,

gorros, máscaras, óculos, protetores pró-pé, entre outros, os quais devem ser retirados antes da pessoa deixar as instalações credenciadas.

- Após o uso, os equipamentos de proteção individual não descartáveis devem ser limpos e guardados fora da área contaminada e as pessoas devem ser treinadas para seu manuseio e guarda apropriada.
- Todos os requisitos necessários para a entrada nas instalações credenciadas devem estar indicados na porta de entrada.
- As superfícies de trabalho das cabines de segurança e de outros equipamentos de contenção devem ser descontaminadas sempre ao término das atividades com OGM.
- Para experimento de menor risco realizado concomitantemente no mesmo local, deverá ser adotado o nível NB-2.
- Quando apropriado, a equipe técnica e de apoio deve estar vacinada contra os agentes infecciosos relacionados aos experimentos conduzidos nas instalações NB-2.
- Exames médicos periódicos para os trabalhadores das instalações onde são conduzidas atividades e projetos com OGM podem ser solicitados pela CTNBio, incluindo avaliação clínica laboratorial de acordo com o OGM envolvido, levando-se em consideração as medidas de proteção e prevenção cabíveis.

Todos os laboratórios da Embrapa Gado de Leite onde houver atividades com OGMs deverão ter a etiqueta de risco biológico com emblema internacional de risco biológico e preenchida com os dados de identificação do nível de risco, o OGM, o nome do responsável principal, endereço completo e diferentes possibilidades de sua localização ou de outra pessoa responsável e o contato com a CIBio, fixada na porta de entrada em lugar visível (Anexo 2).

## **Trabalho com Animais Geneticamente Modificados**

São considerados Animais Geneticamente Modificados (AnGM) todos aqueles animais cujas seqüências em seu DNA sofreram modificações induzidas pelo homem. Assim, desde camundongos até animais domésticos de grande porte podem ser classificados como AnGM. Inicialmente, os AnGM foram gerados com o objetivo de se estabelecer modelos de estudo para doenças humanas. Estes tipos de animais, principalmen-

te murinos, já vêm sendo gerados desde a década de 80. Contudo, a partir da década de 1990, estudos mostraram a possibilidade de se gerar animais domésticos modificados geneticamente para a produção de proteínas recombinantes com aplicações farmacêuticas. Essas proteínas podem ser produzidas, principalmente, no leite dos AnGM domésticos, proporcionando a produção em maior escala e com redução de custos dos produtos recombinantes quando comparados com a maioria dos sistemas atuais que envolvem biorreatores utilizando bactérias transformadas ou células animais transfectadas e cultivadas *in vitro*.

Os níveis de segurança (NBs) e critérios para a manipulação, em laboratório de células, gametas e embriões modificados geneticamente são os mesmos descritos nos itens anteriores para OGMs. Porém, quando se trabalha com animais vivos (*in vivo*) medidas adicionais de biossegurança devem ser adotadas, com o objetivo de evitar a liberação acidental de AnGMs e/ou seus produtos ao meio ambiente antes da avaliação definitiva de que não há riscos a outros animais, microorganismos e ao homem. Portanto, procedimentos de contenção devem evitar que secreções dos AnGM que possam conter algum produto recombinante não testado, contaminem o meio ambiente, bem como o escape dos animais, evitando-se cruzamentos não monitorados de AnGM com animais não modificados geneticamente e, conseqüente, disseminação involuntária do transgene. Assim, seguindo a Resolução Normativa CTNBIO N° 02, de 27 de novembro de 2006, todas as atividades em contenção que envolvem AnGM devem adotar medidas de segurança adicionais, além daquelas citadas para os níveis de biossegurança para OGMs.

Os trabalhos de pesquisa na Embrapa Gado de Leite envolvem atividades com células, gametas e embriões de AnGM; bem como a geração de bovinos leiteiros como modelos experimentais para a geração de produtos recombinantes, de animais com maior resistência a doenças, ou de animais de maior produtividade, e requerem instalações físicas e procedimentos de contenção durante a condução das atividades de pesquisa. Os níveis de segurança envolvidos nesses trabalhos são os NB-1 e NB-2.



Para trabalhos de contenção com bovinos geneticamente modificados de classe de risco tipo 1 para OGMs, deve-se seguir o artigo 23 da Resolução Normativa Nº 02, segundo o qual, além de atender as normas do NB1, o laboratório deve também:

- Possuir instalações para manutenção e manipulação dos AnGM, fisicamente separadas do resto do laboratório e ter acesso controlado;
- Restringir o acesso às pessoas credenciadas pela CIBio da instituição, mantendo as entradas trancadas;
- Impedir o escape dos animais por meio de construções apropriadas para cada espécie animal a ser trabalhada;
- Conter barreiras físicas para impedir a entrada de outros animais (inclusive artrópodes, quando for o caso);
- Conter barreiras para evitar o escape de materiais contaminados;
- Alojamento, em áreas separadas, animais de diferentes espécies e não envolvidos no mesmo experimento;
- Possuir currais para inspeção e colheita de amostras com infra-estrutura adequada ao manejo dos animais, assim como piquetes com cerca dupla, para evitar o trânsito entre áreas, pedelúvio e, quando possível, sistema de drenagem passando por tanque de desinfecção;
- Recomenda-se que a entrada de serragem, ração ou qualquer outro alimento ou material a ser utilizado com os animais ocorra após autoclavagem ou irradiação (principalmente em animais de laboratórios);
- Acondicionar apropriadamente todo material contaminado para desinfecção ou inativação, que poderá ocorrer fora das instalações;
- Estabelecer e divulgar amplamente normas de procedimentos às pessoas com acesso autorizado;
- Manter cópias das normas de procedimentos, inclusive daqueles referentes a situações de emergência, no interior das instalações;
- No caso de manutenção de um banco de embriões geneticamente modificados criopreservados, este deve localizar-se nas instalações credenciadas pela CTNBio.

Para trabalhos em contenção com bovinos em classe de risco tipo 2 deve-se seguir o artigo 24 da Resolução Normativa Nº 02, atendendo as mesmas normas para a classe de risco 1 (citadas acima) e as normas do NB2, acrescidas das seguintes exigências:

- Uma ante-sala entre a área de livre circulação e a área onde os animais estão alojados; separada por sistema de dupla porta com intertravamento;
- Barreiras físicas que bloqueiem a passagem de artrópodes e outros animais entre as salas e a área externa, incluindo entradas e saídas; As janelas devem ter vidros fixos e hermeticamente fechados e, quando necessário, serem duplas;
- Luzes de emergência ligadas a geradores, se possível;
- Troca de vestimenta antes da passagem da ante-sala para a sala de animais. Se possível, deve ser utilizada vestimenta descartável no interior da sala de animais; As vestimentas devem, após rigorosa inspeção para verificar a presença de insetos, ser acondicionadas em recipiente próprio fechado e autoclavado;
- Autoclavagem ou irradiação de serragem, ração ou qualquer outro alimento ou material a ser utilizado com os animais (principalmente em animais de laboratórios);
- Efetuar a saída do material através de câmaras de passagem de dupla porta para esterilização ou inativação;
- Recomendação de controle sanitário, parasitológico, microbiológico, de micoplasmas e virológico dos animais;
- Controle genético dos animais deve ser realizado, se possível, a cada nova geração;
- Infectórios com animais geneticamente modificados localizados em áreas especialmente isoladas e devidamente credenciadas pela CTNBio.

Além de seguir as normas acima, outras medidas de segurança quanto ao manejo dos animais de grande porte, como os bovinos, também devem ser observadas.

- Os pisos dos estábulos devem ter superfícies impermeáveis, resistentes a ácidos, álcalis e solventes orgânicos, ser antiderrapante e de fácil limpeza.
- Anotações permanentes de ocorrências no curral ou estábulo onde os animais estão mantidos, incluindo alterações de caráter clínico nos animais, como doenças, infestação de parasitas etc., bem como qualquer incidente anormal (como respingos de produtos com material contaminante), devem ser realizadas.
- Equipamentos de segurança individual, como botas de borracha, aventais, luvas etc., devem ser vestidos nas áreas dos currais e permanecer nas mesmas até o descarte.

- A coleta, armazenamento e transporte de amostras biológicas (sangue, saliva, leite, tecidos) que possam conter produtos recombinantes devem ser feitos em containers seguros, inquebráveis e corretamente identificados.
- Agulhas e outros objetos perfurocortantes utilizados no animal (para a coleta de sangue e tecidos, por exemplo) devem ser manipulados com cuidado para evitar auto-inoculação e devem ser descontaminados (autoclave) antes do descarte apropriado.
- Após a manipulação de AnGM, os técnicos ou responsáveis devem lavar as mãos; para se evitar que algum agente em estudo possa ser carregado por algum artrópode (carrapatos etc.). Cuidados devem ser tomados no sentido de controlar as infestações do laboratório por artrópodes.
- Os animais que forem abatidos ou morrerem devem ter suas carcaças descontaminadas (no caso de grandes animais, as carcaças podem ser incineradas).
- Todo AnG recém-nascido deve ser identificado de maneira permanente.
- Além da separação do curral e piquetes por cercas duplas, também se deve manter separados machos e fêmeas geneticamente modificados por este tipo de cerca, se o objetivo não é o acasalamento
- No caso de NB-2, uma autoclave deve estar disponível próxima ao curral para a descontaminação de descartes.

Por fim, as instalações devem também proporcionar o bem-estar animal, minimizando o estresse, além de permanecerem vigiadas para se evitar o roubo ou liberação não intencional de um AnGM.

## **Gerenciamento de Resíduos Biológicos e Biossegurança**

O conceito de Biossegurança vem sendo cada vez mais difundido, na medida em que há entendimento da responsabilidade do profissional que tem atividades que manipulam agentes biológicos e químicos, entre outros. A ação desse profissional não se limita à prevenção de riscos em sua própria atividade, mas também sua responsabilidade com o ambiente onde executa suas atividades e com o ambiente externo, estas originando resíduos sólidos que devem ser gerenciados em conformidade com os princípios da Biossegurança e legislação pertinente.

Apesar da Biossegurança no Brasil estar formatada legalmente para tratar da minimização e prevenção dos riscos em relação aos OGMs, pela Lei Nº 11.105/2005, sua abrangência é muito mais ampla, pois envolve também as relações entre estes organismos, o ambiente de trabalho, o meio ambiente e na comunidade na qual estão sendo desenvolvidas as ações.

## **Resíduos Biológicos**

### **Definição**

De acordo com a RDC Anvisa no 306/04 e a Resolução Conama Nº 358/2005, são definidos como geradores de Resíduos de Serviços de Saúde (RSS), doravante denominados, neste documento, resíduos biológicos, todos os serviços relacionados com o atendimento à saúde humana ou animal, inclusive os serviços de assistência domiciliar e de trabalhos de campo; laboratórios analíticos de produtos para a saúde; necrotérios, funerárias e serviços onde se realizem atividades de embalsamamento, serviços de medicina legal, drogarias e farmácias inclusive as de manipulação; estabelecimentos de ensino e pesquisa na área da saúde humana e animal, centro de controle de zoonoses; distribuidores de produtos farmacêuticos, importadores, distribuidores produtores de materiais e controles para diagnóstico *in vitro*, unidades móveis de atendimento à saúde; serviços de acupuntura, serviços de tatuagem, dentre outros similares.

### **Classificação**

A classificação dos resíduos biológicos vem sofrendo um processo de evolução contínuo, na medida em que são introduzidos novos tipos de resíduos nas diversas áreas de abrangência e como resultado do conhecimento do comportamento destes perante o meio ambiente e a saúde, como forma de estabelecer uma gestão segura com base nos princípios da avaliação e gerenciamento dos riscos envolvidos na sua manipulação. Os resíduos biológicos são parte importante do total de resíduos sólidos urbanos, não necessariamente pela quantidade gerada (cerca de 1% a 3% do total), mas pelo potencial de risco que representam à saúde e ao meio ambiente.

Os resíduos biológicos originados dos serviços de saúde ou de laboratórios que trabalham com pesquisa na área animal são classificados

em função de suas características e conseqüentes riscos que podem acarretar ao meio ambiente e à saúde. De acordo com a RDC Anvisa N° 306/04 e Resolução Conama N° 358/05, estes resíduos são classificados em cinco grupos: A, B, C, D e E.

Grupo A – engloba os componentes com possível presença de agentes biológicos que, por suas características de maior virulência ou concentração, podem apresentar risco de infecção. Exemplos: placas, lâminas e laminulas de laboratório, carcaças, peças anatômicas (membros), tecidos e bolsas transfusionais contendo sangue.

Grupo B – contém substâncias químicas que podem apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade. Ex: medicamentos apreendidos, reagentes de laboratório e resíduos contendo metais pesados.

Grupo C – quaisquer materiais resultantes de atividades humanas que contenham radionuclídeos em quantidades superiores aos limites de eliminação especificados nas normas da Comissão Nacional de Energia Nuclear –(CNEN), como, por exemplo, serviços de medicina nuclear e radioterapia.

Grupo D – não apresentam risco biológico, químico ou radiológico à saúde ou ao meio ambiente, podendo ser equiparados aos resíduos domiciliares. Ex: sobras de alimentos e de seu preparo de alimentos e resíduos das áreas administrativas.

Grupo E – materiais perfurocortantes ou escarificantes, tais como lâminas de barbear, agulhas, ampolas de vidro, pontas diamantadas, lâminas de bisturi, lancetas, espátulas e outros similares.

A resolução foi adotada pela Anvisa “considerando os princípios da Biossegurança de empregar medidas técnicas, administrativas e normativas para prevenir acidentes ao ser humano e ao meio ambiente”. A classificação dos resíduos biológicos proposta pela resolução da Anvisa complementa a classificação do Conama citada acima. O símbolo de identificação de cada grupo de resíduos se encontra na Fig. 3.

Os resíduos do grupo A são identificados pelo símbolo de substância infectante, com rótulos de fundo branco, desenho e contornos pretos.



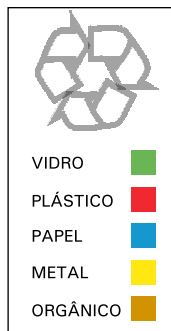
Os resíduos do grupo B são identificados através do símbolo de risco associado e com discriminação de substância química e frases de risco.



Os rejeitos do grupo C são representados pelo símbolo internacional de presença de radiação ionizante (trifólio de cor magenta) em rótulos de fundo amarelo e contornos pretos, acrescido da expressão MATERIAL RADIOATIVO.



Os resíduos do grupo D podem ser destinados à reciclagem ou à reutilização. Quando adotada a reciclagem, sua identificação deve ser feita nos recipientes e nos abrigos de guarda de recipientes, usando código de cores e suas correspondentes nomeações, baseadas na Resolução Conama no 275/01, e símbolos de tipo de material reciclável. Para os demais resíduos do grupo D deve ser utilizada a cor cinza ou preta nos recipientes. Pode ser se guida de cor determinada pela Prefeitura. Caso não exista processo de segregação para reciclagem, não há exigência para a padronização de cor destes recipientes.



Os produtos do grupo E são identificados pelo símbolo de substância infectante, com rótulos de fundo branco, desenho e contornos pretos, acrescido da inscrição de RESÍDUO PERFUROCORTEANTE, indicando o risco que apresenta o resíduo.



**Fig. 3.** Símbolo de identificação dos grupos de resíduos.

**Fonte:** Adaptada de Anvisa (2006).

## Riscos potenciais

Na avaliação dos riscos potenciais dos resíduos biológicos deve-se considerar que os geradores vêm sofrendo uma enorme evolução no que diz respeito ao desenvolvimento da ciência, com o incremento de novas tecnologias incorporadas. Resultado deste processo é a geração de novos materiais, substâncias e equipamentos, com presença de componentes mais complexos e muitas vezes mais perigosos para o homem que os manuseia, e ao meio ambiente que os recebe. Os resíduos biológicos ocupam um lugar de destaque, pois merecem atenção especial em todas as suas fases de manejo (segregação, condicionamento, armazenamento, coleta, transporte, tratamento e disposição final) em decorrência dos imediatos e graves riscos que podem oferecer.

Dentre os resíduos biológicos destacam-se os que contêm agentes patogênicos que possam causar doença e dentre os componentes radioativos utilizados em procedimentos de pesquisa, diagnóstico e terapia, os que contêm materiais emissores de radiação ionizante. Para a comunidade científica e entre os órgãos federais responsáveis pela definição das políticas públicas pelos resíduos biológicos e de serviços saúde (Anvisa e Conama) esses resíduos representam um potencial de risco em duas situações:

- Para a saúde ocupacional de quem manipula esse tipo de resíduo, seja o pessoal ligado à assistência médica ou médico-veterinária, seja o pessoal ligado ao setor de limpeza e manutenção;
- Para o meio ambiente, como decorrência da destinação inadequada de qualquer tipo de resíduo, alterando as características do meio.

## Acondicionamento dos Resíduos Biológicos

Consiste no ato de embalar os resíduos segregados, em sacos ou recipientes. A capacidade dos recipientes de acondicionamento deve ser compatível com a geração diária de cada tipo de resíduo.

Os sacos de acondicionamento devem ser constituídos de material resistente à ruptura e vazamento, impermeável, respeitados os limites de peso de cada saco, sendo proibido o seu esvaziamento ou reapro-

veitamento. Os sacos devem estar contidos em recipientes de material lavável, resistente à punctura, ruptura e vazamento, com tampa provida de sistema de abertura sem contato manual, com cantos arredondados e ser resistentes ao tombamento.

Os resíduos líquidos devem ser acondicionados em recipientes constituídos de material compatível com o líquido armazenado, resistentes, rígidos e estanques, com tampa rosqueada e vedante.

Os resíduos perfurocortantes ou escarificantes - grupo E - devem ser acondicionados separadamente, no local de sua geração, imediatamente após o uso, em recipiente rígido, estanque, resistente à punctura, ruptura e vazamento, impermeável, com tampa, contendo a simbologia referente.

## **Coleta e transporte interno dos Resíduos Biológicos**

A coleta e transporte interno dos resíduos consistem no traslado dos resíduos dos pontos de geração até local destinado ao armazenamento temporário ou armazenamento externo, com a finalidade de disponibilização para a coleta. É nesta fase que o processo se torna visível para o usuário e o público em geral, pois os resíduos são transportados nos equipamentos de coleta, caminhões de coleta do sistema público municipal, em áreas comuns.

### **Recomendações gerais**

A coleta e o transporte devem atender ao roteiro previamente definido e devem ser feitos em horários, sempre que factível, não coincidentes com a distribuição de roupas, alimentos e medicamentos, períodos de visita ou de maior fluxo de pessoas ou de atividades. A coleta deve ser feita separadamente, de acordo com o grupo de resíduos e em recipientes específicos a cada grupo de resíduos.

A coleta interna deve ser planejada com base no tipo de resíduo, volume gerado, roteiros (itinerários), dimensionamento dos abrigos, regularidade, frequência de horários de coleta externa. Deve ser dimensionada



considerando o número de funcionários disponíveis, número de carros de coletas, Equipamento de Proteção Individuais (EPIs) e demais ferramentas e utensílios necessários.

O transporte interno dos recipientes deve ser realizado sem esforço excessivo ou risco de acidente para o funcionário. Após as coletas, o funcionário deve lavar as mãos ainda enluvadas, retirar as luvas e colocá-las em local próprio. Ressalte-se que o funcionário também deve lavar as mãos antes de calçar as luvas e depois de retirá-las.

Os equipamentos para transporte interno (carros de coleta) devem ser constituídos de material rígido, lavável, impermeável e providos de tampa articulada ao próprio corpo do equipamento, cantos e bordas arredondados, rodas revestidas de material que reduza o ruído. Também devem ser identificados com o símbolo correspondente ao risco do resíduo nele contido. Os recipientes com mais de 400 L de capacidade devem possuir válvula de dreno no fundo.

## **Procedimentos de coleta interna**

Recomendações específicas para a operação de coleta interna:

- Os carros de coleta devem ter, preferencialmente, pneus de borracha e estar devidamente identificados com símbolos de risco;
- Estabelecer turnos, horários e frequência de coleta;
- Sinalizar o itinerário da coleta de forma apropriada;
- Não utilizar transporte por meio de dutos ou tubos de queda;
- Diferenciar as coletas, isto é, executá-las com itinerários e horários diferentes segundo o tipo de resíduo;
- Coletar resíduos recicláveis de forma separada;
- Fazer a manutenção preventiva dos carros para a coleta interna e higienizá-los ao final de cada coleta.

## **Armazenamento externo**

O armazenamento temporário externo consiste no acondicionamento dos resíduos em abrigo, em recipientes coletores adequados, em ambiente exclusivo e com acesso facilitado para os veículos coletores, no aguardo da realização da etapa de coleta externa.

O abrigo de resíduos deve ser dimensionado de acordo com o volume de resíduos gerados, com capacidade de armazenamento compatível com a periodicidade de coleta do sistema de limpeza urbana local. Deve ser construído em ambiente exclusivo, possuindo, no mínimo, um ambiente separado para atender o armazenamento de recipientes de resíduos do grupo A juntamente com o grupo E e um ambiente para o grupo D.

## Local

O local desse armazenamento externo deve apresentar as seguintes características:

- **Acessibilidade:** o ambiente deve estar localizado e construído de forma a permitir acesso facilitado para os recipientes de transporte e para os veículos coletores;
- **Exclusividade:** o ambiente deve ser utilizado somente para o armazenamento de resíduos;
- **Segurança:** o ambiente deve reunir condições físicas estruturais adequadas, impedindo a ação do sol, chuva, ventos etc. e que pessoas não autorizadas ou animais tenham acesso ao local;
- **Higiene e saneamento:** deve haver local para higienização dos carrinhos e contenedores; o ambiente deve contar com boa iluminação e ventilação e ter pisos e paredes revestidos com materiais resistentes aos processos de higienização.

O abrigo de resíduos do Grupo A deve atender aos seguintes requisitos:

- Ser construído em alvenaria, fechado, dotado apenas de aberturas para ventilação, teladas, que possibilitem uma área mínima de ventilação correspondente a 1/20 da área do piso e não inferior a 0,20 m<sup>2</sup>;
- Ser revestido internamente (piso e paredes) com material liso, lavável, impermeável, resistente ao tráfego e impacto;
- Ter porta provida de tela de proteção contra roedores e vetores, de largura compatível com as dimensões dos recipientes de coleta externa;
- Possuir símbolo de identificação, em local de fácil visualização, de acordo com a natureza do resíduo (Fig. 3);
- Possuir área específica de higienização para limpeza e desinfecção simultânea dos recipientes coletores e demais equipamentos utilizados no manejo de resíduos.

A área deve possuir cobertura, dimensões compatíveis com os equipamentos que serão submetidos à limpeza e higienização, piso e paredes lisos, impermeáveis, laváveis, ser provida de pontos de iluminação e tomada elétrica, ponto de água, canaletas de escoamento de águas servidas direcionadas para a rede de esgotos do estabelecimento e ralo sifonado provido de tampa que permita a sua vedação. O estabelecimento gerador de resíduos de serviços de saúde, cuja produção semanal não exceda 700 L e cuja produção diária não exceda 150 L, pode optar pela instalação de um abrigo reduzido.

## **Características**

Este deve possuir as seguintes características:

- Ser exclusivo para guarda temporária de resíduos biológicos e de serviços de saúde, devidamente acondicionados em recipientes;
- Ter piso, paredes, porta e teto de material liso, impermeável, lavável, resistente ao impacto;
- Ter ventilação mínima de duas aberturas de 10 x 20 cm cada (localizadas uma a 20 cm do piso e outra a 20 cm do teto), abrindo para a área externa. A critério da autoridade sanitária, essas aberturas podem dar para áreas internas do estabelecimento;
- Ter piso com caimento mínimo de 2% para o lado oposto à entrada, sendo recomendada a instalação de ralo sifonado ligado a rede de esgoto sanitário;
- Ter identificação na porta com o símbolo de acordo com o tipo de resíduo armazenado;
- Ter localização tal que não abra diretamente para áreas de permanência de pessoas, dando-se preferência a locais de fácil acesso à coleta externa.

## **Abrigo**

O abrigo de resíduos do Grupo B deve ser projetado, construído e operado de modo a:

- Ser em alvenaria, fechado, dotado apenas de aberturas teladas que possibilitem uma área de ventilação adequada;
- Ser revestido internamente (piso e parede) com material de acabamento liso, resistente ao tráfego e impacto, lavável e impermeável;

- Ter porta dotada de proteção inferior, impedindo o acesso de vetores e roedores;
- Ter piso com caimento na direção das canaletas ou ralos;
- Estar identificado, em local de fácil visualização, com sinalização de segurança - com as palavras RESÍDUOS QUÍMICOS - com símbolo (Fig. 3);
- Prever a blindagem dos pontos internos de energia elétrica, quando houver armazenamento de resíduos inflamáveis;
- Ter dispositivo de forma a evitar incidência direta de luz solar;
- Ter sistema de combate a incêndio por meio de extintores de CO<sub>2</sub> e PQS (pó químico seco);
- Ter kit de emergência, incluindo produtos absorventes, para os casos de derramamento ou vazamento;
- Armazenar os resíduos constituídos de produtos perigosos corrosivos e inflamáveis próximos ao piso;
- Observar as medidas de segurança recomendadas para produtos químicos que podem formar peróxidos;
- Não receber nem armazenar resíduos sem identificação;
- Organizar o armazenamento de acordo com critérios de compatibilidade, segregando os resíduos em bandejas;
- Manter registro dos resíduos recebidos;
- Manter o local trancado, impedindo o acesso de pessoas não autorizadas.

## **Tecnologias de tratamento dos Resíduos Biológicos**

Entende-se por tratamento dos resíduos sólidos, de forma genérica, quaisquer processos manuais, mecânicos, físicos, químicos ou biológicos que alterem as características dos resíduos, visando à minimização do risco à saúde, a preservação da qualidade do meio ambiente, a segurança e a saúde do trabalhador. Pela Resolução Anvisa N° 306/04, o tratamento consiste na aplicação de método, técnica ou processo que modifique as características dos riscos inerentes aos resíduos, reduzindo ou eliminando o risco de contaminação, de acidentes ocupacionais ou de danos ao meio ambiente. O tratamento pode ser feito no estabelecimento gerador ou em outro local, observadas, nestes casos, as condições de segurança para o transporte entre o estabelecimento gerador e o local do tratamento. Os sistemas para tratamento de resíduos biológicos de laboratórios de pesquisa animal e de estabelecimentos de saúde devem ser objeto de licenciamento ambiental, de acordo com

a Resolução Conama N° 237/97 e são passíveis de fiscalização e de controle pelos órgãos de vigilância sanitária e de meio ambiente.

### Desinfecção química ou térmica

Há várias formas de se proceder ao tratamento como desinfecção química ou térmica (autoclavagem, microondas, incineração), que estão detalhados a seguir.

Desinfecção para tratamento dos resíduos do Grupo A - As tecnologias de desinfecção mais conhecidas são a autoclavagem, o uso do microondas e a incineração. Estas tecnologias alternativas de tratamento de resíduos biológicos e de serviços de saúde permitem um encaminhamento dos resíduos tratados para o circuito normal de resíduos sólidos urbanos (RSU), sem qualquer risco para a saúde pública. De acordo com o documento Technical Assistance Manual: State Regulatory Oversight of Medical Waste Treatment Technology, da Agência de Proteção Ambiental (EPA) dos Estados Unidos existem diversos níveis de inativação microbiana. Para as tecnologias de tratamento de resíduos de biológicos e de serviços de saúde, é necessário atingir pelo menos o nível 3. (Tabela 1).

**Tabela 1.** Níveis de inativação microbiana de acordo com a EPA - EUA (Environment Protection Agency).

Nível de inativação	Descrição
Nível 1	Inativação de bactérias vegetativas, fungos e vírus lipofílicos com uma redução maior ou igual a $6 \log_{10}$
Nível 2	Inativação de bactérias vegetativas, fungos e vírus lipofílicos e hidrofílicos, parasitas e microbactérias com uma redução maior ou igual a $6 \log_{10}$
Nível 3	Inativação de bactérias vegetativas, fungos e vírus lipofílicos e hidrofílicos, parasitas e microbactérias com uma redução maior ou igual a $6 \log_{10}$ e inativação de esporos de <i>B. staeoerophilus</i> ou <i>B. subtilis</i> com uma redução maior ou igual a $4 \log_{10}$

A descontaminação com utilização de vapor em altas temperaturas (autoclavagem) - é um tratamento que consiste em manter o material con-

taminado em contato com vapor de água, a uma temperatura elevada, durante período de tempo suficiente para destruir potenciais agentes patogênicos ou reduzi-los a um nível que não constitua risco.

O processo de autoclavagem inclui ciclos de compressão e de decompressão de forma a facilitar o contato entre o vapor e os resíduos. Os valores usuais de pressão são da ordem dos 3 a 3,5 bar e a temperatura atinge 135 °C. Este processo tem a vantagem de ser familiar aos técnicos de laboratório que o utilizam para processar diversos tipos de materiais biológicos dentro da sua rotina.

O processo normal de autoclavagem comporta basicamente as seguintes operações:

- Pré-vácuo inicial: criam-se condições de pressões negativas de forma que na fase seguinte o vapor entre em contato com os resíduos;
- Admissão de vapor: introdução de vapor na autoclave e aumento gradual da pressão de forma a criar condições para o contato entre o vapor e os resíduos e para destruição de invólucros que limitem o acesso do vapor a todas as superfícies;
- Exposição: manutenção de temperaturas e pressões elevadas durante um determinado período de tempo até se concluir o processo de descontaminação. De acordo com a carga a tratar, o operador define o tempo e a temperatura de cada ciclo;
- Exaustão lenta: libertação gradual do vapor que passa por um filtro poroso com uma malha suficientemente fina para impedir a passagem de microrganismos para o exterior da autoclave. Diminuição gradual da pressão até a pressão de 1 atmosfera;
- Arrefecimento da carga: redução da carga até uma temperatura que permita a retirada dos resíduos da autoclave.

Para verificar as condições de funcionamento dessas unidades pode ser feito um teste, de forma a ser atingido o Nível de Inativação 3. Esse teste do sistema de tratamento deve estar licenciado pelo órgão ambiental competente.

Após processados, esses resíduos sólidos tratados devem ser encaminhados para disposição final licenciada pelo órgão ambiental competen-

te. Os efluentes líquidos gerados pelo sistema de autoclavagem devem ser tratados, se necessário, e atender aos limites de emissão dos poluentes estabelecidos na legislação ambiental vigente, antes de seu lançamento em corpo de água ou rede de esgoto.

Tratamento com utilização de microondas de baixa ou de alta frequência - é uma tecnologia relativamente recente de tratamento de resíduo de biológicos e de serviços de saúde e consiste na descontaminação dos resíduos com emissão de ondas de alta ou de baixa frequência, a uma temperatura elevada (entre 95 e 105 °C). Os resíduos devem ser submetidos previamente a processo de trituração e umidificação.

Para verificar as condições de funcionamento dessas unidades pode ser feito um teste, de forma a ser atingido o Nível de Inativação 3. Esse teste do sistema de tratamento deve estar licenciado pelo órgão ambiental competente.

Após processados, esses resíduos tratados devem ser encaminhados para aterro sanitário licenciado pelo órgão ambiental.

Tratamento térmico por incineração - é um processo de tratamento de resíduos sólidos que se define como a reação química em que os materiais orgânicos combustíveis são gaseificados, num período de tempo prefixado. O processo se dá pela oxidação dos resíduos com a ajuda do oxigênio contido no ar.

A incineração dos resíduos é um processo físico-químico de oxidação a temperaturas elevadas que resulta na transformação de materiais com redução de volume dos resíduos, destruição de matéria orgânica, em especial de organismos patogênicos. A concepção de incineração em dois estágios segue os seguintes princípios: temperatura, tempo de resistência e turbulência.

No primeiro estágio, os resíduos na câmara de incineração de resíduos são submetidos à temperatura mínima de 800 °C, resultando na formação de gases que são processados na câmara de combustão. No segundo estágio, as temperaturas atingem 1.000 °C a 1.200 °C.

Após a incineração dos resíduos, os poluentes gasosos gerados devem ser processados em equipamento de controle de poluição (ECP) antes de serem liberados para a atmosfera, atendendo aos limites de emissão estabelecidos pelo órgão de meio ambiente. Dentre os poluentes produzidos destacam-se ácido clorídrico, ácido fluorídrico, óxidos de enxofre, óxidos de nitrogênio, metais pesados, particulados, dioxinas e furanos.

Além dos efluentes gasosos gerados no sistema de incineração, ocorre a geração de cinzas e escórias da câmara de incineração de resíduos e outros poluentes sólidos do ECP, bem como efluentes líquidos gerados da atividade desse sistema de tratamento. As cinzas e escórias, em geral, contêm metais pesados em alta concentração e não podem, por isso, ir para aterros sanitários, sendo necessário um aterro especial para resíduos perigosos.

Os efluentes líquidos gerados pelo sistema de incineração devem atender aos limites de emissão de poluentes estabelecidos na legislação ambiental vigente.

## **Considerações finais**

O gerenciamento adequado dos resíduos pode contribuir significativamente para a redução da ocorrência de acidentes de trabalho, especialmente aqueles provocados por perfurocortantes. Dessa forma, também se pode reduzir a exposição percutânea dos trabalhadores a materiais biológicos, uma medida no contexto da Biossegurança que teria grande valor para a saúde ocupacional.

Existem três princípios orientadores no gerenciamento de resíduos: reduzir, segregar e reciclar. Esses princípios devem ser incorporados ao Programa de Gerenciamento de Resíduos Biológicos PGRB da Embrapa Gado de Leite e de qualquer estabelecimento gerador.

A primeira providência para um melhor gerenciamento dos resíduos biológicos é a redução no momento da geração. Evitar o desperdício é uma medida que tem um benefício duplo: economiza recursos não só



em relação ao uso de materiais, mas também no tratamento diferenciado desses resíduos.

A segregação é o ponto fundamental de toda a discussão sobre a periculosidade ou não dos resíduos biológicos e de serviços de saúde. Apenas uma parcela é potencialmente infectante, contudo, se ela não for segregada, todos os resíduos que a ela estiverem misturados também deverão ser tratados como potencialmente infectantes, exigindo procedimentos especiais para acondicionamento, coleta, transporte e disposição final, elevando assim os custos do tratamento desses resíduos.

Depois da segregação adequada, os resíduos de cada categoria deverão ser acondicionados corretamente, identificados e encaminhados para coleta, transporte e destinação final específicos. Os resíduos com características especiais nunca devem ser misturados com os resíduos comuns ou domiciliares.

A suposta “ausência de risco” por “falta de evidência científica que comprove que os resíduos biológicos provocam doenças” não deve servir de justificativa para a negligência no gerenciamento desses resíduos.

Um caminho para solucionar a questão dos resíduos biológicos é o exercício do bom-senso, aliado com a educação e o treinamento dos profissionais envolvidos, e o esclarecimento da população. A tomada de medidas no contexto da Biossegurança, aliando economia de recursos, preservação do meio ambiente, ética e responsabilidade poderá garantir mais qualidade de vida no presente e um futuro mais saudável para as próximas gerações.

## Telefones úteis

- Corpo de Bombeiros: 193
- Drogaria Farminas (perto do Hospital Monte Sinai): 3232-2175
- Hospital Albert Sabin Ltda.: 3249-7000

- Hospital Casa de Saúde - HTO e Centrocor: 3239-2000
- Hospital Monte Sinai: 3239-4455
- Portaria da Sede da Embrapa Gado de Leite: 3249-4745
- Prefeitura da Sede da Embrapa Gado de Leite: 3236-3410
- Pronto Socorro: 192
- SAMU: 192

## Referências bibliográficas

ALMEIDA, A. B. S.; ALBUQUERQUE, M. B. M. Biossegurança: um enfoque histórico através da história oral. História, Ciências, Saúde-Manguinhos, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, 2000. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-5970200000020009&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-5970200000020009&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 29 out. 2007.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBio, Brasília, DF, 2006. Homepage da CTNBio. Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br>. Acesso em: 04 out. 2007.

CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA - CIB. Perguntas e respostas: biossegurança. Conselho de Informações sobre Biotecnologia, São Paulo, [2007]. Disponível em: <<http://www.cib.org.br/faq.php?id=3>>. Acesso em: 05 out. 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com material biológico. Brasília: Ministério da Saúde – Editora MS, (2004). 60 p.Série A. Normas e Manuais Técnicos. Disponível em: <[http://dtr2001.saude.gov.br/editora/produtos/livros/pdf/04\\_0408\\_M.pdf](http://dtr2001.saude.gov.br/editora/produtos/livros/pdf/04_0408_M.pdf)>. Acesso em: 04 out. 2007.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH - NIH. Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules. Office of Biotechnology Activities, Bethesda, MD, 2002. Disponível em: <[http://www4.od.nih.gov/oba/rac/guidelines\\_02/NIH\\_Gdlnes\\_Ink\\_2002z.pdf](http://www4.od.nih.gov/oba/rac/guidelines_02/NIH_Gdlnes_Ink_2002z.pdf)>. Acesso em: 04 out. 2007.

SECRETARIAT OF THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY. Cartagena Protocol on Biosafety to the Convention on Biological Diversity: text and annexes. Montreal: Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2000. Disponível em: <<http://www.biodiv.org/doc/legal/cartagena-protocol-en.pdf>> Acesso em: 04 out. 2007.


TEIXEIRA, P.; VALLE, S. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1996.


U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – CDC & NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH – NIH. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5. ed. Washington: US Government Printing Office, 2007. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/OD/ohs/biosfty/bmbl5/bmbl5toc.htm>>. Acesso em: 04 out. 2007.

UNITED NATIONS DIVISION FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT. Agenda 21, Rio de Janeiro, 1992. Disponível em: <<http://www.un.org/esa/sustdev/documents/agenda21/english/Agenda21.pdf>>. Acesso em 04 out. 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - OMS. Laboratory Biosafety Manual. 3. ed. Malta: World Health Organization, 2004. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf>>. Acesso em: 04 out. 2007.

## Anexo 1

		<b>Comissão Interna de Biossegurança – CIBio</b> <i>Formulário de Proposta de Projeto</i>	
<b>Projeto de Pesquisa</b>			
Título:			
Data prevista para o início do projeto (mês/ano):		Data prevista de conclusão (mês/ano):	
<b>Pesquisador Principal</b>			
Nome:			
Endereço:			
e-mail:		Telefone residencial:	Ramal:
<b>Organismos</b>			
Receptor:		Parental:	
Material Genético Incluído no OGM:			
Vetor:			
<b>Classificação do OGM</b>			
<input type="checkbox"/> Tipo I		<input type="checkbox"/> Tipo II	
<b>Classificação do Nível de Biossegurança do Laboratório</b>			
<input type="checkbox"/> NB-1	<input type="checkbox"/> NB-2	<input type="checkbox"/> NB-3	<input type="checkbox"/> NB-4

 <b>Gado de Leite</b>	<b>Comissão Interna de Biossegurança – CIBio</b> <i>Formulário de Proposta de Projeto</i>
<b>Resumo do Projeto</b>	
<b>Objetivo do Projeto</b>	
<b>O trabalho em contenção objetiva a liberação posterior para o meio ambiente?</b>	
<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
<b>Em qual Laboratório serão desenvolvidas as pesquisas com o OGM</b>	



**Gado de Leite**

*Comissão Interna de Biossegurança – CIBio*  
*Formulário de Proposta de Projeto*

**Equipe (Nome e função - Incluir toda a equipe, pesquisadores e equipe de apoio)**

**Equipamentos que serão utilizados durante o trabalho em regime de contenção com os OGMs**



*Comissão Interna de Biossegurança – CIBio*  
*Formulário de Proposta de Projeto*

Procedimentos de limpeza, desinfecção, descontaminação e descarte de material/resíduos



**Comissão Interna de Biossegurança – CIBio**  
*Formulário de Proposta de Projeto*

**Termo de Responsabilidade**

**Projeto:**

Eu, \_\_\_\_\_, Pesquisador(a) responsável pelo projeto, asseguro à CIBIO/Embrapa Gado de Leite que:

1. Conheço a Legislação Brasileira (descrita no site <http://www.ctnbio.gov.br>) pertinente ao trabalho com os OGMs envolvidos no presente projeto e concordo com as suas exigências durante toda a vigência deste, inclusive eventuais prorrogações.
2. Toda a equipe participante do projeto tem ciência da Legislação (Instruções Normativas da CTNBio), sendo competente para executar o projeto dentro dos preceitos da legislação.
3. Sempre que ocorrer qualquer alteração quanto aos objetivos, metodologia e mudança na infra-estrutura, comprometo-me a solicitar nova aprovação à CIBio da Embrapa Gado de Leite.
4. Fornecerei à CIBio da Embrapa Gado de Leite um relatório anual das atividades em andamento do projeto referido acima, que subsidiará o relatório anual da CIBio. Este relatório deverá ser enviado atendendo a data determinada pela CIBio.

Declaro que toda as informações contidas neste documento são verdadeiras e estou ciente de que o não cumprimento da Legislação relativa aos trabalhos com OGM são de minha total responsabilidade, estando sujeito às punições previstas na Lei.


Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Assinatura do Pesquisador Principal: \_\_\_\_\_

Gestor do Núcleo: \_\_\_\_\_

Chefe de P&D&I: \_\_\_\_\_



 <b>Embrapa</b> <b>Gado de Leite</b>	<b>Comissão Interna de Biossegurança – CIBio</b> <i>Formulário de Proposta de Projeto</i>
<b>A ser preenchido pela CIBio</b>	
Analisado em: ____ / ____ / ____	Número do Projeto: _____
Por: _____	Data de entrada: ____ / ____ / ____
Assinatura: _____	Situação: <input type="checkbox"/> Aprovado <input type="checkbox"/> Reprovado
<b>Deliberação CIBio:</b> <input type="checkbox"/> Aprovado <input type="checkbox"/> Reprovado	
Data: ____ / ____ / ____	
Assinatura do Presidente da CIB	

## Anexo 2

### Etiqueta de Risco Biológico

#### Recomendações:

- Preencher essa etiqueta com os dados de identificação do nível de risco, o OGM, o nome do responsável principal, endereço completo e diferentes possibilidades de sua localização ou de outra pessoa responsável e o contato com a CIBio;
- Fixar essa etiqueta na porta de entrada do laboratório em que se manipule OGMs, em lugar visível.



### **RISCO BIOLÓGICO**

ORGANISMO: \_\_\_\_\_

CLASSE DE RISCO: \_\_\_\_\_

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: \_\_\_\_\_

TELEFONE PARA CONTATO: \_\_\_\_\_

**PROIBIDA A ENTRADA DE PESSOAS  
NÃO AUTORIZADAS**



