



Manual de Biossegurança do CNPEM
Para experimentação com OGMs
de classe I e classe II

v.1 – 12/01/15

1 Generalidades

Biossegurança: As diretrizes de biossegurança estão legalmente dirigidas para os processos envolvendo organismos geneticamente modificados (OGMs) e questões relativas a pesquisas científicas com células-tronco embrionárias, de acordo com a Lei de Biossegurança – nº 11105 de 24 de Março de 2005, regulamentada pelo decreto nº 5591 de 22 de Novembro de 2005.

Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio: A CTNBio é uma instância colegiada multidisciplinar, criada através da lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, cuja finalidade é prestar apoio técnico consultivo e assessoramento ao Governo Federal na formulação, atualização e implementação da Política Nacional de Biossegurança relativa a OGM, bem como no estabelecimento de normas técnicas de segurança e pareceres técnicos 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.

Comissão interna de biossegurança – CIBio: Conforme regulamentado pelo decreto 5591 de 22 de novembro de 2005, Art. 61. A instituição que se dedique ao ensino, à pesquisa científica, ao desenvolvimento tecnológico e à produção industrial, que utilize técnicas e métodos de engenharia genética ou realize pesquisas com OGM e seus derivados, deverá criar uma Comissão Interna de Biossegurança - CIBio, cujos mecanismos de funcionamento serão estabelecidos pela CTNBio. A CIBio deverá deliberar e emitir pareceres técnicos sobre projetos que envolvam trabalhos com organismos OGM, podendo autorizar a execução de projetos de risco I. Projetos envolvendo risco II deverão ser encaminhados para a CTNBio.

Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005: 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, tendo como diretrizes o estímulo ao avanço científico na área de biossegurança e biotecnologia, a proteção à vida e à saúde humana, animal e vegetal, e a observância do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente.

Decreto nº 5.591, de 22 de novembro de 2005: Este Decreto regulamenta dispositivos da Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, que 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, tendo como diretrizes o estímulo ao avanço científico na área de biossegurança e biotecnologia, a proteção à vida e à saúde humana, animal e vegetal, e a observância do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente, bem como normas para o uso mediante autorização de células-tronco embrionárias obtidas de embriões humanos produzidos por fertilização in vitro e não utilizados no respectivo procedimento, para fins de pesquisa e terapia.

Técnico principal: Todo o projeto que envolva a manipulação de OGMs ou células-tronco embrionárias realizado no CNPEM deverá ser planejado e supervisionado por um pesquisador responsável, designado pela CTNBio como técnico principal. O pesquisador responsável deve encaminhar o projeto para análise prévia da CIBio, destacando a classe de risco dos OGMs envolvidos, planejando metodologias experimentais, manipulação, transporte e descarte quando aplicáveis. Os projetos envolvendo OGMs poderão ser iniciados após aprovação da CIBio (risco I) ou CTNBio (risco II). O técnico principal é responsável pelo cumprimento das normas de biossegurança em conformidade com as recomendações da CIBio e as Resoluções Normativas da CTNBio e deve assegurar que as equipes técnica e de apoio envolvidas 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.

Manuais e procedimentos específicos: Em adição a este manual, cada unidade operativa (laboratórios nacionais) deverá ter seu próprio manual de biossegurança, sempre que necessário, assim como as subunidades (laboratórios individuais ou instalações) também deverão ter manuais específicos, de responsabilidade do técnico principal e aprovado pela CIBio. Este manual deverá apresentar lista de organismos e classificação de riscos de biossegurança, telefones de emergência, plano de emergência para situações envolvendo contaminação com OGM, procedimentos específicos para manipulação, descarte, armazenagem e transferência de OGMs, Modelo para relatório de incidente conforme anexo I.

2. Definições técnicas

A resolução normativa nº2 de 27 de Novembro de 2006 dispõe sobre a classificação de riscos de OGM e os níveis de biossegurança requeridos para o trabalho em contenção.

Transcrevemos abaixo algumas definições de classe de risco e níveis de biossegurança.

Classificação de risco

Os OGM serão classificados em quatro classes de risco, adotando-se como critérios o potencial patogênico dos organismos doador e receptor, a(s) seqüência(s) nucleotídica(s) transferida(s), a expressão desta(s) no organismo receptor, o OGM resultante e seus efeitos adversos à saúde humana e animal, aos vegetais e ao meio ambiente. Para genes que codificam produtos nocivos para a saúde humana e animal, aos vegetais e ao meio ambiente, o vetor utilizado deverá ter capacidade limitada para sobreviver fora do ambiente de contenção. Todo organismo geneticamente modificado deverá possuir um marcador capaz de identificá-lo dentre uma população da mesma espécie.

As classes de risco dos OGM serão assim definidas:

I – Classe de Risco 1 (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade): O OGM que contém seqüências de ADN/ARN de organismo doador e receptor que não causem agravos à saúde humana e animal e efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente;

II – Classe de Risco 2 (moderado risco individual e baixo risco para a coletividade): O OGM que contém seqüências de ADN/ARN 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;

III – Classe de Risco 3 (alto risco individual e risco moderado para a coletividade): O OGM que contém seqüências de ADN/ARN 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;

IV – Classe de Risco 4 (alto risco individual e alto risco para a coletividade): O OGM que contém seqüências de ADN/ARN 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.

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 ADN/ARN 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 ADN/ARN 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.

Classificação do Nível de Biossegurança

O nível de biossegurança de atividades e projetos será determinado segundo o OGM de maior classe de risco envolvido. As atividades e projetos envolvendo OGM e seus derivados deverão ser precedidos de uma análise detalhada e criteriosa de todas as condições experimentais, devendo-se utilizar o nível de biossegurança adequado à classe de risco do OGM manipulado.

Existem quatro Níveis de Biossegurança, crescentes no maior grau de contenção e complexidade do nível de proteção, de acordo com a classe de risco do OGM.

I - Nível de Biossegurança 1 (NB-1): adequado às atividades e projetos que envolvam OGM da classe de risco 1.

II - Nível de Biossegurança 2 (NB-2): adequado às atividades e projetos que envolvam OGM de classe de risco 2.

III - Nível de Biossegurança 3 (NB-3): adequado às atividades e projetos que envolvam OGM de classe de risco 3.

IV - Nível de Biossegurança 4 (NB-4): adequado às atividades e projetos que envolvam OGM de classe de risco 4.

Estes níveis de biossegurança preveem a manipulação de OGM em pequena escala, inferior a 10 litros. Atividades e projetos envolvendo o cultivo de OGMs em grande escala devem ter supervisão e medidas de contenção adicionais.

O CNPEM dispõe de áreas credenciadas para manipulação experimental de OGM risco I e risco II, situadas no LNBio e CTBE. Cada unidade operativa é responsável pela confecção de um manual de biossegurança apropriado para os trabalhos, OGMs e escalas utilizadas, prevendo o planejamento de procedimentos operacionais e de emergência, conforme suas particularidades. Os manuais de biossegurança para o desenvolvimento de trabalhos nestas unidades deve ser apresentado aos funcionários e alunos destas unidades por ocasião de seu treinamento, além de haver cópias de fácil acesso para consultas nestas unidades.

Casas de vegetação e instalações de contenção para o desenvolvimento de projetos com animais OGM, como biotérios, tanque de aquicultura, aviário, curral e infectório, entre outros, deverão seguir diretrizes preconizadas pela CTNBio, sendo de responsabilidade do técnico principal o treinamento e supervisão de biossegurança. Estes locais também devem dispor de manuais de biossegurança apropriados para a realização de trabalhos com OGM em contenção, procedimentos e medidas de emergência.

É proibida a entrada de pessoas imunodeprimidas ou que façam a utilização de medicamentos imunossupressores nas dependências laboratoriais do CNPEM, em função dos riscos de contato com microorganismos manipulados nos experimentos.

3. Requisitos e regras de biossegurança Gerais

3.1 Regras para NB-1

- a) 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;
- b) a equipe técnica e de apoio deverá ter treinamento específico nos procedimentos realizados nas instalações e deverá ser supervisionada pelo técnico principal;
- c) as instalações NB-1 devem ser desenhadas de modo a permitir fácil limpeza e descontaminação;
- d) a superfície das bancadas deve ser impermeável à água e resistente a ácidos, álcalis, solventes orgânicos e a calor moderado;
- e) os espaços entre as bancadas, cabines e equipamentos devem ser suficientes de modo a permitir fácil limpeza;
- f) OGMs serão manipulados em áreas sinalizadas com o símbolo universal de risco biológico, com acesso restrito à equipe técnica e de apoio ou de pessoas autorizadas;
- g) as superfícies de trabalho devem ser descontaminadas uma vez ao dia ou sempre que ocorrer contaminação (vide procedimento no anexo II)
- h) 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;
- i) deve-se utilizar dispositivo mecânico para pipetagem;
- j) 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;
- k) antes de deixar as instalações, as mãos devem ser lavadas sempre que tiver havido manipulação de organismos contendo ADN/ARN recombinante;
- l) pias para lavagem das mãos e equipamentos de proteção individual e coletiva devem ser utilizados para minimizar o risco de exposição ao OGM;
- m) é proibida a admissão de animais que não estejam relacionados ao trabalho em execução nas instalações;
- n) 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;
- o) materiais contaminados só podem ser retirados das instalações em recipientes rígidos e à prova de vazamentos;
- p) 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;
- q) 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;
- r) devem ser mantidos registros de cada atividade ou projeto desenvolvidos com OGM e seus derivados;
- s) 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;

- t) 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;

3.2 Regras para NB-2

Aplicam-se as mesmas regras NB-1, complementando-se com as regras enumeradas abaixo.

- a) 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;
- b) deve-se sempre utilizar cabines de segurança biológica (Classe I ou II);
- c) cabe ao Técnico Principal a responsabilidade de avaliar cada situação e autorizar quem poderá entrar ou trabalhar nas instalações NB-2;
- d) deve ser colocado um aviso sinalizando o nível de risco, identificando o OGM e o nome do Técnico Principal, endereço completo e diferentes possibilidades de sua localização ou de outra pessoa responsável e o contato com a CIBio;
- e) o 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;
- f) 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;
- g) 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;
- h) todos os requisitos necessários para a entrada nas instalações credenciadas devem estar indicados na porta de entrada;
- i) as superfícies de trabalho das cabines de segurança e de outros equipamentos de contenção devem ser descontaminadas sempre ao término das atividades com OGM;
- j) para experimento de menor risco realizado concomitantemente no mesmo local, deverá ser adotado o nível NB-2;
- k) quando apropriado, a equipe técnica e de apoio deve estar vacinada contra os agentes infecciosos relacionados aos experimentos conduzidos nas instalações NB-2;
- l) exames médicos periódicos para os trabalhadores das instalações onde são conduzidos 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.

3. Emergências

Em virtude das particularidades dos OGMs e procedimentos, cada subunidade operativa é responsável pela elaboração de um manual de biossegurança que deverá apresentar lista de organismos e classificação de riscos de biossegurança, telefones de emergência, plano de emergência para situações envolvendo contaminação com OGM, procedimentos específicos para manipulação, descarte, armazenagem e transferência de OGMs, Modelo para relatório de incidente conforme anexo I. Conforme já mencionado este manual deverá ser previamente aprovado pela CIBio do CNPEM.

Como regra geral em procedimentos de emergência relativos a contaminação, deve-se ter em mente a contenção (isolamento da área para evitar alastramento), auxílio na descontaminação de equipamentos e pessoal e acionamento de Pessoal de Emergências do CNPEM. A CIBio sempre deverá ser notificada.

Telefones Úteis

Coordenador de Biossegurança: Marcio Chaim Bajgelman, (19) 3512-1104 (Ramal 1104)
Email: marcio.bajgelman@lnbio.cnpem.br

Segurança/ Emergência CNPEM: Deovaldo Batista Neves (Ramal 686)

Segurança de trabalho: Celso Rodrigo Lorenço (Ramal 3502)

Serviço de Saúde CNPEM: Ramal 1201

Hospital mais próximo: Centro médico, há 1km de distância do CNPEM, na rua Edilberto Luiz Pereira da Silva, 150, Cidade Universitária, Campinas-SP, telefone (19) 3789-5300.

Corpo de bombeiros da polícia militar de SP: 193 ou 190

Anexo I

Relatório de incidente envolvendo contaminação com OGM

1. Nome:
2. Telefone:
3. Email:
4. Investigador Principal:
5. Local do Incidente:
6. Descrição do OGM:
7. Classe de risco do OGM: () Classe I, () Classe II, () outro
8. Tipo de contaminação () sólido () líquido () spray / Quantidade estimada:
9. Houve contaminação fora da cabine de segurança? Sim () Não ()
10. Caso a contaminação foi fora da cabine, especifique o local/equipamento:
11. Houve contaminação do operador ou terceiros? Sim () Não ()
12. Breve descrição do incidente:

13. Providências tomadas (cite todas as providências tomadas para descontaminar equipamentos, fluxo, roupas, chão, centrifugas ou outros que possam ter sido contaminados)
14. No caso de contaminação pessoal, quais providências foram tomadas?
15. A contaminação foi fora da área de contenção certificada para experimentação? Quais providências foram tomadas?
16. Outras observações que considera importante:

Campinas, _____ de _____ de _____,

Nome:

Função/ cargo:

Anexo II

Procedimentos para descontaminação Rotineira de superfícies de trabalho NB-1 e NB-2

O procedimento para descontaminação rotineira é explicado no treinamento de biossegurança. A CIBio do CNPEM e cada técnico principal é responsável por verificar o cumprimento correto das normas de biossegurança, incluindo procedimentos para descontaminação rotineira e emergencial para funcionários, alunos e estagiários do CNPEM.

Laboratórios NB-1

No laboratório NB-1 as superfícies de trabalho devem ser descontaminadas rotineiramente todos os dias ao finalizar sua utilização, ou sempre que houver contaminação. Sugerimos descontaminar a superfície de trabalho, rotineiramente, antes e depois de sua utilização, conforme protocolos abaixo.

Bancadas - As bancadas do laboratório devem ser rotineiramente descontaminadas com etanol 70%, aplicando-se o etanol sobre a bancada e fazendo movimentos de arrasto, da esquerda para direita ou direita para esquerda, da parte superior para a parte inferior, utilizando papel toalha descartável. O papel toalha deve ser descartado no cesto de lixo com aviso de risco biológico.

Cabine de PCR - Quando dotadas de lâmpadas germicidas, estas lâmpadas podem ser ligadas 15 minutos antes e 15 minutos após a utilização da cabine. A superfície de trabalho deve ser descontaminada conforme descrito acima para bancadas, utilizando-se etanol 70% e papel toalha, aplicando-se o etanol sobre a bancada e fazendo movimentos de arrasto, da esquerda para direita ou direita para esquerda, da parte superior para a parte inferior. O papel toalha deve ser descartado no cesto de lixo com aviso de risco biológico.

Fluxo Laminar - Quando dotadas de lâmpadas germicidas, estas lâmpadas podem ser ligadas 15 minutos antes e 15 minutos após a utilização da cabine. A superfície de trabalho deve ser descontaminada conforme descrito acima para bancadas, utilizando-se etanol 70% e papel toalha, aplicando-se o etanol sobre a bancada e fazendo movimentos de arrasto, da esquerda para direita ou direita para esquerda, da parte superior para a parte inferior. O papel toalha deve ser descartado no cesto de lixo com aviso de risco biológico.

Laboratórios NB-2

Nos laboratórios NB-2, as superfícies de trabalho devem ser rotineiramente descontaminadas antes e após sua utilização. Os procedimentos de rotina são os mesmos descritos acima para NB-1. No caso de derramamentos deve-se atentar para procedimentos específicos descritos no manual NB-2, incluindo-se procedimentos emergenciais e relatórios de ocorrência.