



Disciplina: Biossegurança e
Biocontenção em Laboratórios
(SFI 5878)

Biossegurança em Biotérios e em Biotecnologia Industrial

Profa. Nelma R. S. Bossolan
(nelma@ifsc.usp.br)

03/12/2015

Programa da disciplina

- O laboratório de pesquisa e seus riscos
- Boas práticas laboratoriais
- Biossegurança em laboratórios de pesquisa e Nivelamento de Riscos Biológicos
- Planejamento e adequação Física de áreas de Risco I e II
- Biossegurança Geral e Biossegurança em Laboratório de Contenção
- Bioproteção e Bioterrorismo
- Legislação e normas de biossegurança.
- **Biossegurança em Biotérios**
- **Biossegurança em Biotecnologia Industrial**
- Biossegurança em Organismos Geneticamente Modificados - OGMs



BIOSSEGURANÇA EM BIOTÉRIOS

USO DE ANIMAIS EM PESQUISA

Legislação brasileira para uso de animais em pesquisa e ensino



Lei 11.794, de 8/10/2008

- Estabelece critérios para a criação e a utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa científica, em todo o território nacional.

Lei 11.794, de 8/10/2008

Art. 1º A criação e a utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa científica, em todo o território nacional, obedece aos critérios estabelecidos nesta Lei.

§ 1º. A utilização de animais em **atividades educacionais** fica restrita a:

I – estabelecimentos de ensino superior;

II – estabelecimentos de educação profissional técnica de nível médio da área biomédica.

§ 2º. São consideradas como **atividades de pesquisa científica** todas aquelas relacionadas com ciência básica, ciência aplicada, desenvolvimento tecnológico, produção e controle da qualidade de drogas, medicamentos, alimentos, imunobiológicos, instrumentos, ou quaisquer outros testados em animais, conforme definido em regulamento próprio.

§ 3º. Não são consideradas como atividades de pesquisa as práticas zootécnicas relacionadas à agropecuária.

Lei 11.794, de 8/10/2008

Art. 2º O disposto nesta Lei aplica-se aos animais das espécies classificadas como filo Chordata, subfilo Vertebrata, observada a legislação ambiental.

Art. 4º Fica criado o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – **CONCEA**.

Art. 8º É condição indispensável para o credenciamento das instituições com atividades de ensino ou pesquisa com animais a constituição prévia de Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUAs. *(IFSC agora tem, desde dez/2013!)*

 Comissão de ética para o uso de animais

Home Formulário Agenda Regimento Legislação Membros Contatos



CEUA - Comissão de ética para o uso de animais

O CEUA (Comitê de Ética para o Uso de Animais) destina-se a fazer a revisão ética de toda e qualquer proposta de atividade científica ou educacional que envolva a utilização de animais vivos não-humanos, essencialmente de grupos vertebrados, sob a responsabilidade da instituição, seguindo e promovendo as diretrizes normativas nacionais e internacionais para pesquisa e ensino envolvendo tais animais. É dever primordial do CEUA a defesa do bem-estar dos animais em sua integridade, dignidade e vulnerabilidade, assim como zelar pelo desenvolvimento da pesquisa e do ensino segundo elevado padrão ético e acadêmico. Antes de qualquer atividade envolvendo um animal, o pesquisador ou professor deverá encaminhar a sua proposta ao CEUA, com a ciência de seu superior hierárquico, e só poderá iniciar a pesquisa ou atividade educacional envolvendo animais após a avaliação do Comitê, apresentada em Parecer. Entende-se por utilização: manipulação, captura, coleta, criação, experimentação (invasiva ou não-invasiva), realização de exames ou procedimentos cirúrgicos, ou qualquer outro tipo de intervenção que possa causar estresse, dor, sofrimento, mutilação e/ou morte. Uso de Animais não-vivos deve obedecer a legislação e os regulamentos internos em vigor, além de ser compatível, por analogia, com as norma éticas do regimento do CEUA.

Datas Especiais

20 Semana Integrada do
OUT Instituto de Física

01 Comemoração de ano
JAN novo, boas comemorações.

20 Fundação do site para
NOV código de ética

15 Proclamação da República
NOV no Brasil

Links



CONEP

A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) está diretamente ligada ao Conselho Nacional de Saúde (CNS). Ela foi criada pela Resolução do CNS 196/96 como uma instância colegiada, de natureza consultiva, educativa e formuladora de diretrizes e estratégias no âmbito do Conselho.

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...

Av. Trabalhador São Carles, 400 - IFSC/USP - São Carlos-SP
Cep: 13560-970
© 2014 IFSC J: and 2BeDefined

Resolução Normativa CONCEA nº 12, de 20/09/2013

ANEXO - DIRETRIZ BRASILEIRA PARA O CUIDADO E A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA FINS CIENTÍFICOS E DIDÁTICOS – DBCA DO CONCEA

1.3. Esta Diretriz, assim como a legislação brasileira, estabelece a responsabilidade primária das CEUAs em determinar se a ~~utilização de animais é devidamente~~ justificada e garante a adesão aos princípios de substituição (replacement), redução (reduction) e refinamento (refinement).

Princípio dos 3 R's de Russel & Burch

Este princípio propõe:

Substituição (replacement), que significa substituição por métodos alternativos, que deve ser imperativo.

Redução (reduction) do número de animais utilizados em cada experimento.

Refinamento (refinement) das técnicas objetivando evitar a dor e o sofrimento desnecessários.

(fonte: Damy et al., 2010)

Trabalhos de manipulação genética que envolvem o uso de animais

- Introdução de DNA em ovócito fertilizado, zigoto, embrião ou animal desenvolvido;
- Introdução de de genoma viral ou do vírus em embrião de animal para produzir um animal transgênico que secrete partículas virais infecciosas;
- Uso de microrganismos geneticamente modificados para infectar animais.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 12

DOU - N.º 100-E, de 28 de maio de 1998

Normas para Trabalho em Contenção com Animais Geneticamente Modificados

- *AnGM*: *Animal geneticamente modificado* é todo aquele que tenha **ácido nucléico exógeno** intencionalmente **incorporado no genoma de suas células germinativas ou somáticas**.

- *NB-A*: Nível de contenção necessário para permitir o trabalho com o animal geneticamente modificado.

- *Trabalho em contenção*: Atividade com o animal geneticamente modificado que não permita o escape ou liberação para o meio ambiente.

Qualquer que seja o grupo do animal, a instituição deverá requerer à CTNBio **extensão de seu CQB para biotérios**.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 12

DOU - N.º 100-E, de 28 de maio de 1998

Normas para Trabalho em Contenção com Animais Geneticamente Modificados

AnGM de Nível de Biossegurança 1: aqueles que, após as manipulações genéticas sofridas, não tiverem alteradas suas características de **transmissibilidade de doenças** para outras espécies vegetais ou animais, incluindo seres humanos, ou que não apresentarem **vantagens seletivas quando liberados** no meio ambiente.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 12

DOU - N.º 100-E, de 28 de maio de 1998

Normas para Trabalho em Contenção com Animais Geneticamente Modificados

AnGM de Nível de Biossegurança 2: aqueles que, após manipulação genética, passem a **expressar substâncias sabidamente tóxicas** para animais, incluindo o homem, ou vegetais e que, para tais toxinas, **existam formas efetivas de prevenção ou tratamento**.

Também aqueles que possam ser **susceptíveis à infecções** que normalmente não ocorram na espécie equivalente (possibilidade de **quebra da barreira entre espécies**).

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 12

DOU - N.º 100-E, de 28 de maio de 1998

Normas para Trabalho em Contenção com Animais Geneticamente Modificados

AnGM de Nível de Biossegurança 3: aqueles que após a manipulação genética, contenham mais de **75% do genoma de vírus** manipulados em Nível de Biosegurança **2 ou 3**. Também que, após manipulação genética, passem a ser considerados **mais aptos à sobrevivência** no meio ambiente que os equivalentes não geneticamente modificados.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 12

DOU - N.º 100-E, de 28 de maio de 1998

Normas para Trabalho em Contenção com Animais Geneticamente Modificados

AnGM de Nível de Biossegurança 4: aqueles que, após manipulação genética, contenham mais de **75% do genoma de vírus** manipulados em **Nível de Biosegurança 4**. Também aqueles que, após manipulação genética, passem a **expressar substâncias** sabidamente **tóxicas** para animais, incluindo seres humanos, ou vegetais e que, para tais toxinas, **não existam formas efetivas de prevenção ou tratamento.**

~~INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 12~~

~~DOU - N.º 100-E, de 28 de maio de 1998~~

~~Normas para Trabalho em Contenção com Animais Geneticamente Modificados~~

Microrganismos e plantas geneticamente modificados bem como a **manipulação genética de seres humanos** são tratados em regulamentação específica.

A **utilização de animais em experimentos** que envolvam **inoculação de ácido nucléico** (ex: vacinas de DNA ou terapia gênica) será tratada em regulamentação específica.

BIOTÉRIOS E SALAS DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Biotério

Local onde são criados ou mantidos animais para serem usados em ensino ou pesquisa científica, que possua controle das condições ambientais, nutricionais e sanitárias*.

Biotério do CTC-FMRP-USP



Biotério da FMVZ-USP



*cf. Resolução Normativa nº 03 do CONCEA, de 14 de dezembro de 2011.

Tipos de biotérios*

Criação

- local destinado à **reprodução** e **manutenção** de animais para fins de ensino ou pesquisa científica.

Manutenção

- local destinado à **manutenção** de animais para fins de ensino ou pesquisa científica.

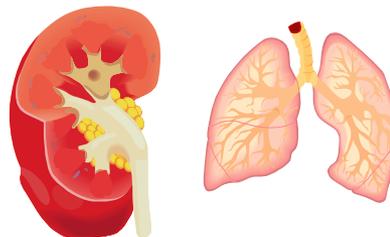
Experimentação

- local destinado à **manutenção** de animais em **experimentação** por tempo superior a 12 (doze) horas.

*cf. Resolução Normativa nº 03 do CONCEA, de 14 de dezembro de 2011.

RISCOS PROVENIENTES DO MANEJO DE ANIMAIS

- Animais podem excretar microrganismos nas fezes, urina, saliva ou aerolizá-los.
- Inoculação de patógenos por mordeduras ou arranhaduras.
- Transmissão direta do patógeno, por contato com o animal, seu sangue ou tecidos coletados em necrópsias e autópsias.



RISCOS PROVENIENTES DO MANEJO DE ANIMAIS



- Transmissão indireta, por inalação de poeira originada das gaiolas e camas dos animais.



- Alergia a animais de laboratório: doença ocupacional. Reação de hipersensibilidade do tipo imediato, pelo contato com a pelagem, urina, soro ou qualquer outro tipo de tecido animal.

Zoonoses comumente associadas a animais de laboratório

Camundongos e Ratos	Ectoparasitoses, leptospirose, coriomeningite linfocítica, febre da mordedura do rato, salmoneloses, hantavirose, arboviroses
Hamsters	Ectoparasitoses, coriomeningite linfocítica, clamidiose
Coelhos	Dermatofitoses, ectoparasitoses, pasteurelose
Cobaias	Balantidiose, coriomeningite linfocítica, clamidioses, salmoneloses, dermatofitoses
Cães	Raiva, leptospirose, brucelose, histoplasmose, ectoparasitoses
Gatos	Amebíase, ectoparasitoses, raiva, doença da arranhadura do gato, toxoplasmose, tuberculose, febre Q
Primatas	Herpes B, tuberculose, hepatite, shigelose, salmonelose, balantidiose, amebíase, giardíase

Fonte: CCAC (1993).

***Zoonoses** são infecções ou infestações provocadas por agentes patogênicos transmitidos aos seres humanos por animais vertebrados ou seus tecidos, sendo consideradas doenças de caráter ocupacional em pessoas que trabalham em biotérios.

Padronização dos animais

Genética



- criação e manutenção de linhagens
- “outbred” (heterozigotas para muitos pares de alelos e mantidas em sistemas de cruzamento randômico) e
- “inbred” (linhagens homozigotas para quase todos os pares de alelos, mantidas por sistemas de acasalamento entre irmãos por mais de 20 gerações).
- mutantes e animais geneticamente modificados.

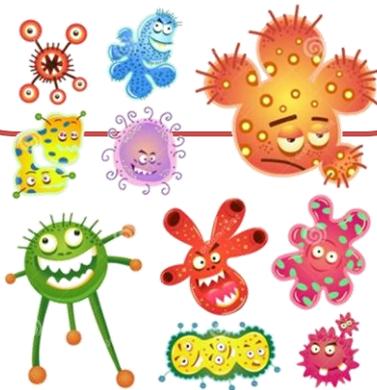
Nutricional



- A nutrição adequada dá condições ao animal de atingir seu potencial:
 - genético,
 - de crescimento,
 - reprodutivo,
 - de longevidade e
 - de resposta à estímulos.

Padronização dos animais

Sanitária



- Gnotobióticos → Possuem uma microbiota associada conhecida.
- *Germ Free* → Animais totalmente isentos de microrganismos.
- *Specific Patogen Free* (SPF) → Animais isentos de Agentes Patogênicos Específicos.
- Animais Convencionais → Animais que possuem microbiota indefinida – criados sem barreiras sanitárias.

Modelos animais em pesquisa*



Camundongo (Roedor da Fam. Muridae, *Mus domesticus domesticus*).

Usados na produção de anticorpo e em testes de vacinas recombinantes.



Rato (Roedor da Fam. Muridae, *Rattus rattus*, linhagem Wistar – rato branco).

Vários usos.

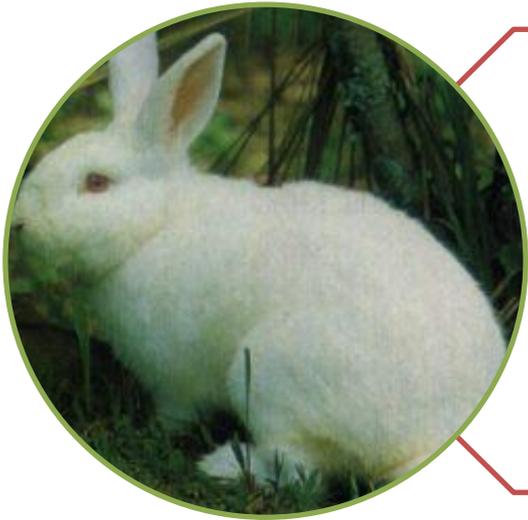


Hamster (Roedor da Fam. Cricetidae, *Mesocricetus auratus*).

Mais usados pelo Laboratório de Parasitologia.

* Mais utilizados no Instituto Butantan (SP).

Modelos animais em pesquisa*



Coelho (Fam. Leporidae, *Oryctolagus cuniculus*, raça Branco Nova Zelândia).

Usados para testes de pirogênio dos imunobiológicos.

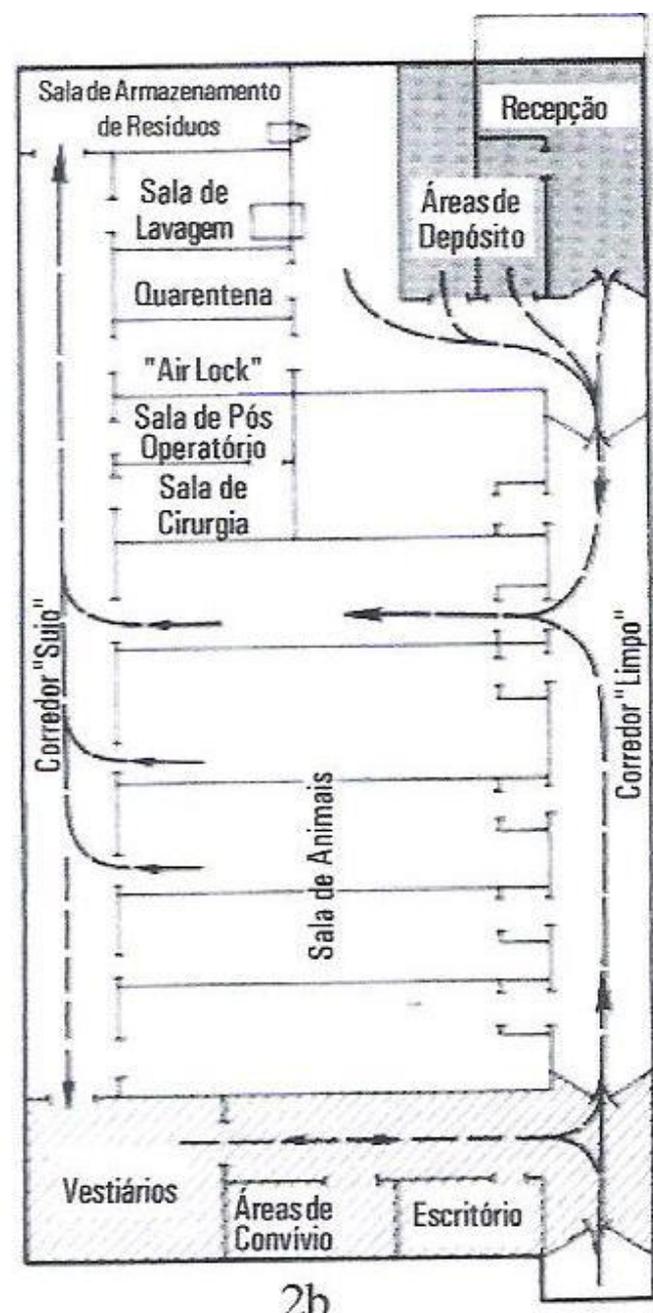
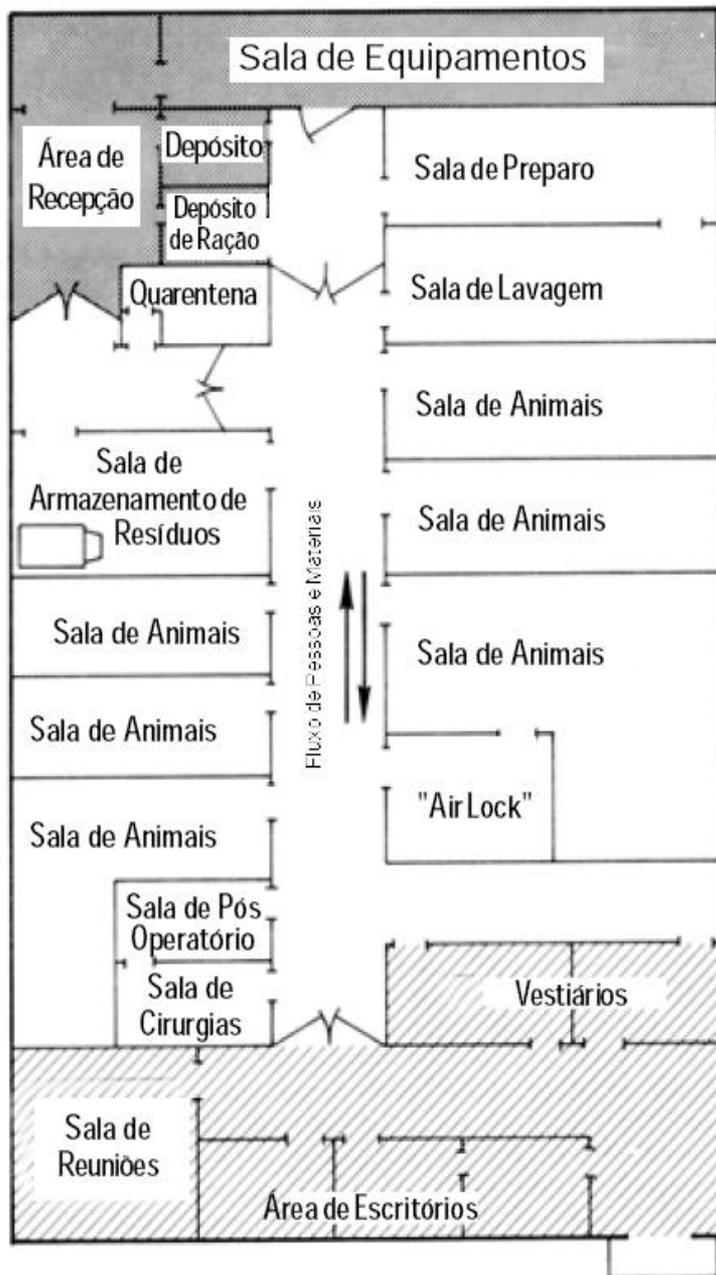


Cobaia (ou porquinho da índia, roedor da Fam. Cavidae, *Cavia porcellus*).

Utilizados nos testes de controle de qualidade de praticamente todas as vacinas e soros.

Biotérios - Instalações e equipamentos

- Planejados para manter a segurança de usuários, animais e meio ambiente.
- Climatização (temperatura, umidade e ventilação adequadas)
- Renovação total de ar em torno de 15-20 trocas de ar/hora.
- Gradiente de pressão no interior das salas de animais menor do que o das áreas contíguas (pressão maior nas áreas limpas e estéreis).



Biotério de corredor único e de dois corredores (Fonte: Cardoso, 2001).



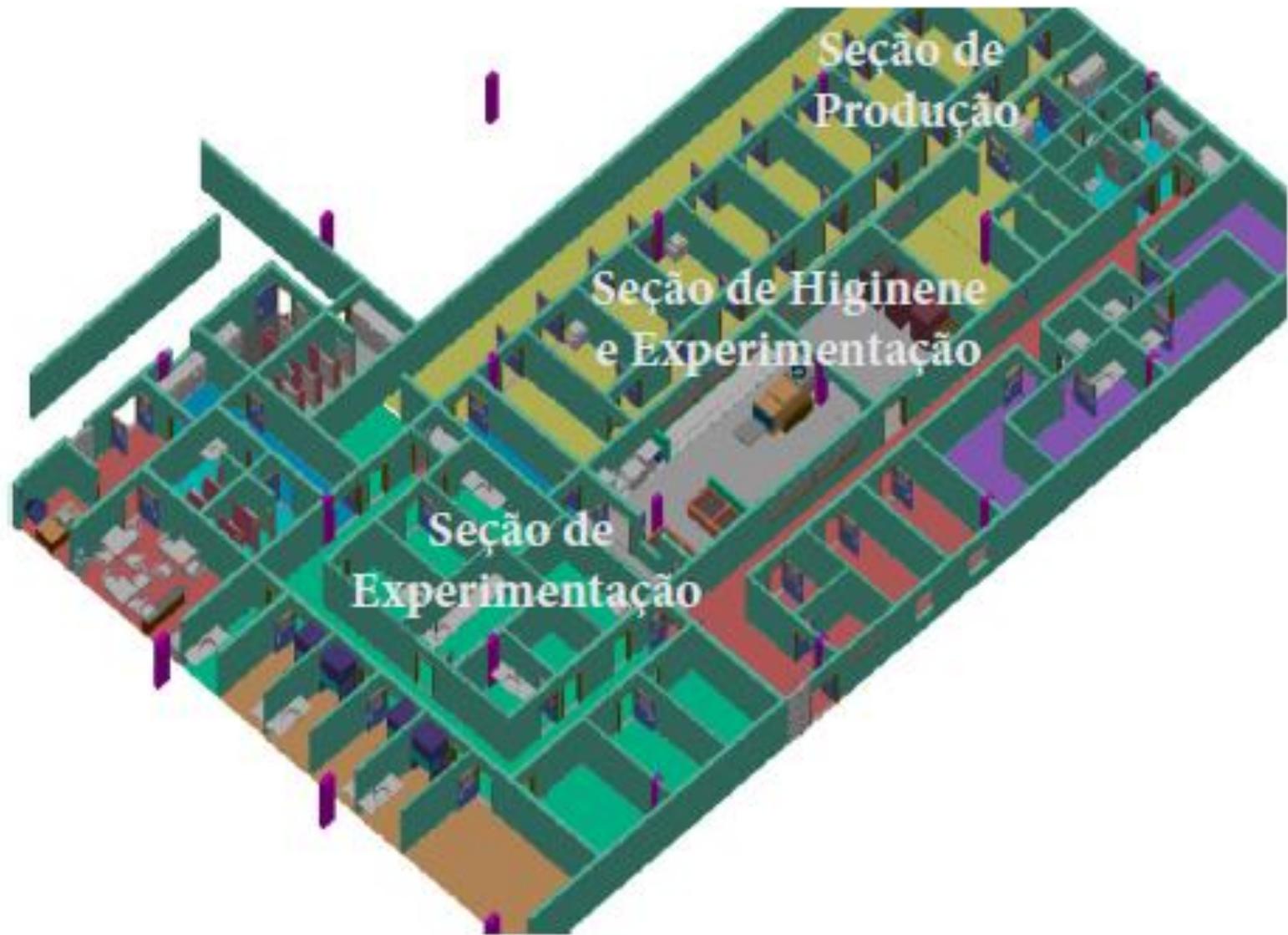
O BIOTÉRIO DE EXPERIMENTAÇÃO SEGUE OS "PRINCÍPIOS DOS 3 RS" DE RUSSEL E BURCH (1959).

NORMAS DO BIOTÉRIO DE EXPERIMENTAÇÃO:

1. **CEUA:** Todos os experimentos com animais devem ser submetidos previamente a aprovação da CEUA (Comissões de Ética no Uso de Animais) da unidade, inclusive o projeto piloto. Somente após a aprovação do experimento pela CEUA, será permitido seu início.
2. **CERTIFICADO DE BIOSSEGURANÇA (CQB):** O Biotério de Experimentação foi classificado como Nível II de Biossegurança Animal, para os trabalhos com animais geneticamente modificados.
3. **TREINAMENTO:** Os alunos que iniciarão seus experimentos devem realizar treinamentos prévios, de manuseio animal e técnicas experimentais de acordo com o estudo a ser realizado.
4. **AUTORIZAÇÃO:** É expressamente proibido ao usuário entrar no Biotério de Experimentação e em salas de experimentação sem autorização.
Junto à autorização, o professor receberá uma senha para digitar na porta de entrada do Biotério de Experimentação. Esta senha é de uso comum de todos os integrantes do laboratório, que estão autorizados a entrar no Biotério de Experimentação.

EPIs (Equipamento de proteção individual): Efetuar a troca de aventais e paramentar-se com os itens relacionados abaixo:

- Colocar os pro - pés, por cima do sapato;
- Entrar na antecâmara para assepsia das mãos: higienização das mãos, com água e sabão, e álcool 70% no final;
- Coloca-se a touca, que deve cobrir toda a cabeça e cabelos;
- Colocar a máscara cobrindo boca e nariz;
- Vestir o avental do próprio Biotério, que se encontra dentro do armário, o qual deve ser devidamente fechado, incluindo a parte do pescoço;
- Colocar as luvas (recomendam-se duas luvas para cada mão*);
- Passar álcool sobre as luvas.

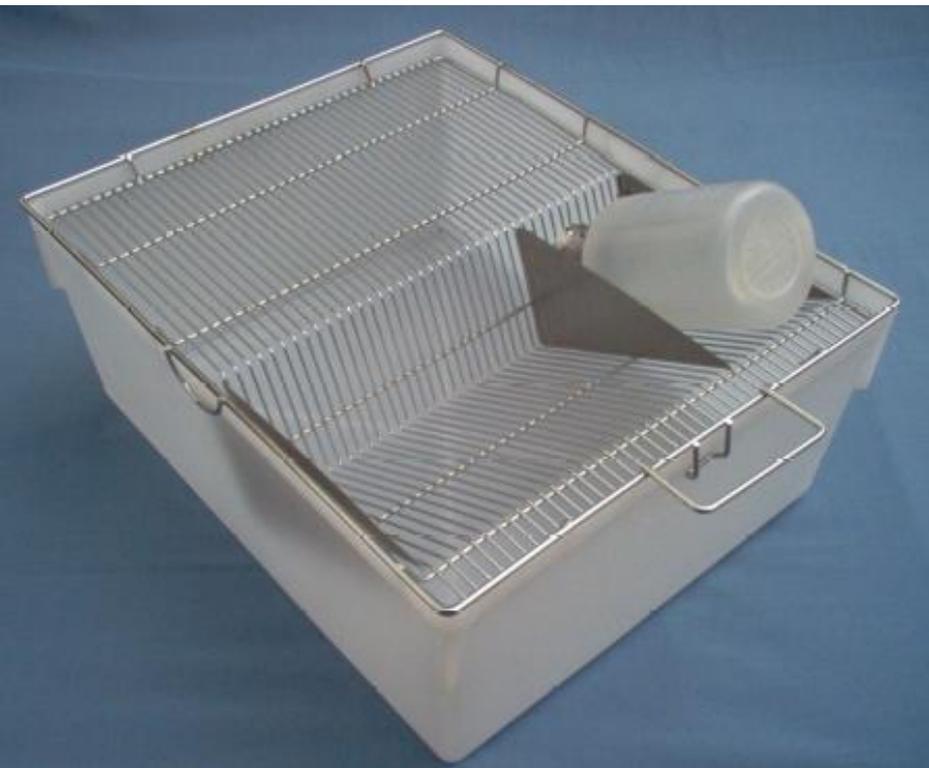


Visão geral da planta do biotério de produção e experimentação da FCF-IQ da USP (Neves et al., 2014).

EPI's e sinalização



Biotério de produção e experimentação do Núcleo de Biologia Experimental (Nubex) da Universidade de Fortaleza (Unifor).



Gaiola e recipiente para condicionamento de animais em biotérios.



Estante ventilada para manutenção de animais inoculados (ar duplamente filtrado – entrada e saída, temperatura e umidade controlada).

Iluminação
natural

Janela protegida
por tela



Equipamento de proteção
individual: luvas, jaleco e
máscara

Prontuário do animal
(espécie, data de entrada, projeto de
pesquisa a que está ligado, número do
CQB – se for OGM)



Sala de camundongos para o trabalho com OGM's (Majerowicz, 2005). Estantes abertas para animais antes da inoculação e cabine de contenção biológica.

Biotério de produção



Sala cirúrgica



Sala de lavagem

Comunicação com
a área “limpa”



Área “suja”

Descarte de materiais

- Papel, plástico, fichas de identificação: compactados e incinerados.
- Cama suja, incluindo material fecal e restos de ração: acondicionar em sacos plásticos, que deverão ser etiquetados, vedados e incinerados.

Descarte de materiais

- Carcaça de animais: incineração após maceramento *in situ*.
- Objetos cortantes: ensacados, etiquetados com o **sinal de risco biológico**, autoclavados ou incinerados.
- Material infeccioso: acondicionado duplamente em saco plástico, etiquetado com sinal de risco biológico, incinerado imediatamente ou autoclavado até o momento da incineração.



NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA PARA TRABALHO COM ANIMAIS (NBA)

Níveis de Biossegurança para o trabalho com animais vertebrados (NBA)

- Mantém equivalência aos níveis de segurança de trabalho em laboratório (NB's 1, 2, 3 e 4).*
- NBA 1, NBA 2, NBA 3 e NBA 4

NBA 1

Envolve **agentes infecciosos** bem caracterizados que comprovadamente **não causam riscos de doenças em humanos** adultos saudáveis e possuem **riscos mínimos para técnicos de laboratório e para o meio ambiente.**

(NB 1) Baixo risco individual e comunitário.

NBA 2

Envolve **agentes infecciosos bem caracterizados** que ocasionam **riscos de doenças em humanos** adultos.

(NB 2) Moderado risco individual e comunitário podendo causar patologias ao homem ou ao animal.

NBA 3

Envolve procedimentos para trabalhar com animais infectados por microrganismos que apresentam **potencial de transmissão aerógena e podem causar doenças potencialmente letais.**

(NB 3) Risco individual elevado, risco comunitário baixo.

NBA 4

Envolve procedimentos para trabalhar com animais infectados por microrganismos que apresentam **alto risco de ocasionar doenças letais, causar transmissão por aerossóis ou relacionadas com agentes de risco de transmissão desconhecido.**

(NB 4) Elevado risco individual e comunitário.

Resumo dos requisitos para área física e instalações conforme o Nível de Biossegurança Animal (NBA 1 a NBA 4)

Requisito	NBA1	NBA2	NBA3	NBA4
Sinalização com símbolo de risco biológico	R	O	O	O
Biotério separado de passagens públicas	O	O	O	O
Biotério isolado	-	R	R	O
Lavatório para mãos próximo a entrada/saída da sala de animais	O	O	O*	-
Lavatório para mãos próximo a entrada/saída da sala de procedimentos	O	O	O	-
Torneira com acionamento sem o uso das mãos	-	R	O	-
Ventilação mecânica, sem recirculação do ar para outras áreas	O	O	O	O
Filtro HEPA nas saídas de ar	-	-	O	O
Pressão negativa na sala de animais	R	R	O	O
Portas de entrada e de saída das salas de animais com intertravamento	-	R	O	O

Fonte: Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ (2005).

(continuação)

Vídeo: <http://www.absa.org/ttabs1.html>

Resumo dos requisitos para área física e instalações conforme o Nível de Biossegurança Animal (NBA 1 a NBA 4)

Requisito

	NBA1	NBA2	NBA3	NBA4
Paredes, portas, tetos e piso lisos, impermeáveis e resistentes à desinfecção.	<input type="radio"/>	O	O	O
Antecâmara de acesso ao biotério	<input type="radio"/>	O	O	-
- com lavatório e local para paramentação	-	-	O	O
- dotada de portas com intertravamento	-	-	R	O
- pressurizada com chuveiro e vestiário	<input type="radio"/>	O	O	O
- para equipamentos				
Separação física dos corredores de acesso às salas de animais	-	R	O	O
Tratamento de efluentes	-	-	O	O
Selagem/vedação de frestas nas paredes, tetos, pisos e demais superfícies	-	R	O	O
Cabine de Segurança Biológica (CSB) na sala de procedimentos	-	R	O	O
Autoclave				
-no biotério	<input type="radio"/>	O	O	O
-dupla porta	-	R	O	O
Área contígua de apoio para descontaminação, lavagem, preparo, esterilização	<input type="radio"/>	O	O	O

Biossegurança animal nível 2

Quando se manipulam animais infectados com microrganismos da classe 2.

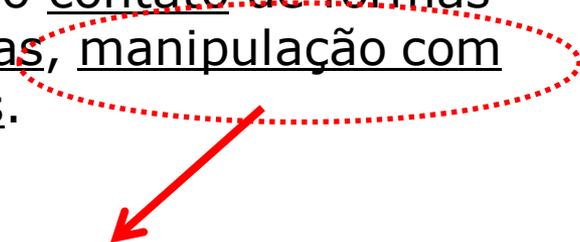
Práticas e técnicas	Equipamentos de segurança	Instalações
Uso obrigatório de <u>jaleco e luvas</u> , <u>descontaminação dos dejetos</u> infectados e das <u>gaiolas</u> dos animais antes da higienização, <u>acesso limitado</u> e <u>sinalização</u> para alerta de riscos.	Barreira parcial (guichê de desinfecção), uso de EPIs (máscara, óculos protetor, etc.) para a manipulação de agentes ou animais infectados que produzem aerossóis.	Acesso limitado por portas com travamento de segurança, entre outras.

Exemplo de NBA 2 → animais infectados com *Leishmania* spp

- As várias espécies de *Leishmania* são transmitidas ao homem por meio de um inseto vetor, um flebotomíneo, que inocula formas promastigotas no hospedeiro vertebrado.
- A doença se manifesta por formas tegumentares (Leishmaniose tegumentar) ou formas viscerais (Calazar).

Risco de infecção laboratorial

Os acidentes laboratoriais podem ocorrer pelo contato de formas promastigotas com lesões de pele ou mucosas, manipulação com agulhas ou mordedura de animais infectados.



Acidente laboratorial mais frequente com este agente patogênico

Exemplo de NBA-2 → animais infectados com *Leishmania* spp

Procedimento em caso de acidente

1. Aerossóis e/ou gotas projetadas, limpar o local com papel absorvente ou gaze embebida em **álcool 70%**. Nas roupas, sature a área com álcool 70%. Para descontaminar a pele, usar **Povidine® 10%**.
2. Limpar a pele imediatamente com Povidine® 10% (ou etanol 70% ou outro desinfetante).
3. Se o contato for com os olhos ou outras mucosas, lavar exaustivamente com água corrente.
4. As feridas superficiais devem ser lavadas exaustivamente e cauterizadas com nitrato de prata.
5. Observar o desenvolvimento de lesões que possam surgir no sítio da exposição. Inicia-se com uma pápula para depois desenvolver uma úlcera no caso das *Leishmania* que induzem formas tegumentares.
6. Monitorar o acidentado através de **exame sorológico realizando teste de IgM específica nos dias 0, 15 e 30 e teste de IgG específica nos dias 30, 90 e 180 após o acidente** e demonstrar o parasita no sangue (punção de medula óssea, hemocultura, esfregaço).
7. Comunicar imediatamente o responsável para que sejam tomadas as providências cabíveis (teste ELISA para detecção de Anticorpos, acompanhamento clínicolaboratorial e tratamento).



**BIOSSEGURANÇA EM
BIOTECNOLOGIA
INDUSTRIAL**

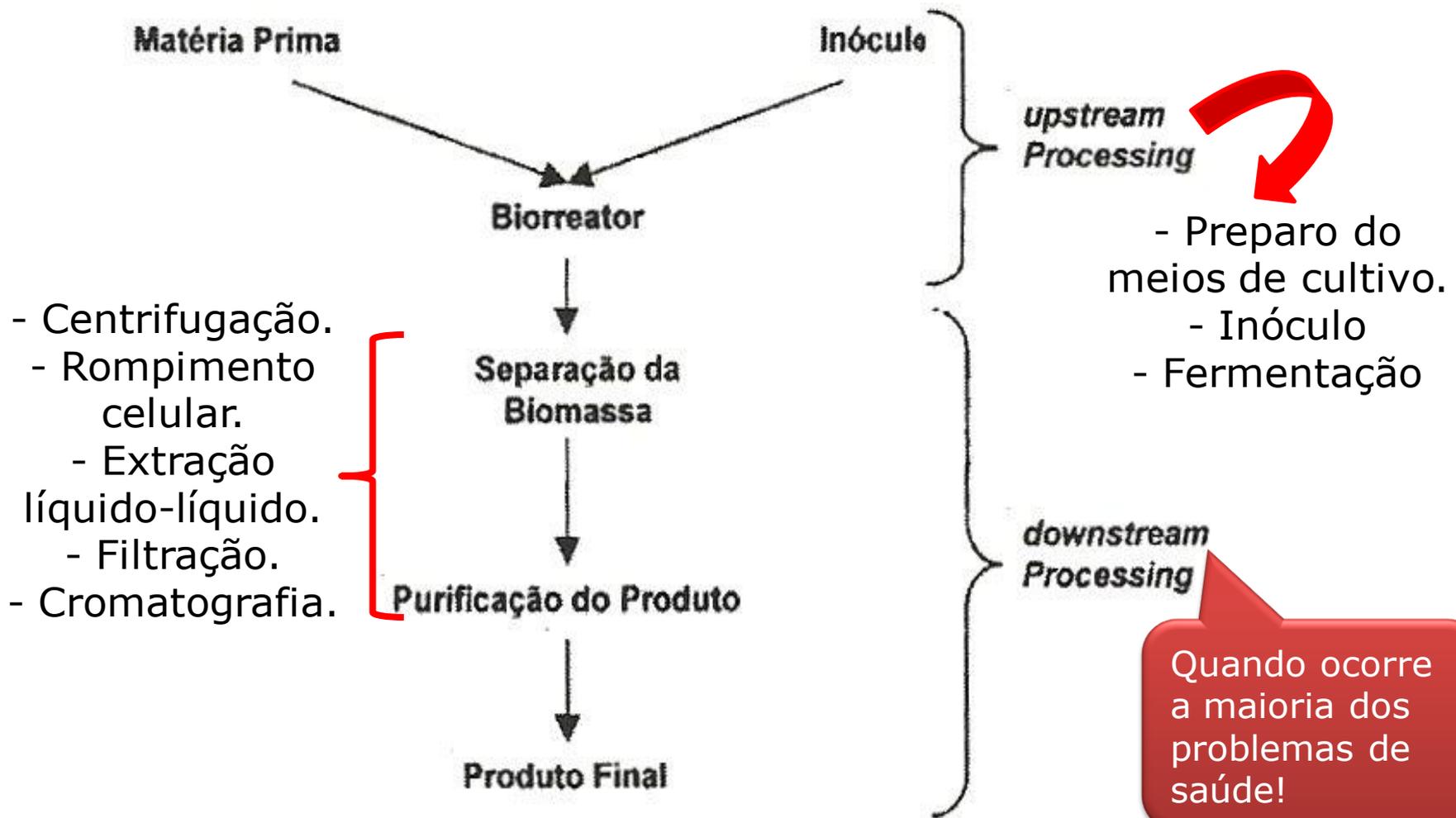
Processos biotecnológicos

- Produção de pão, vinho, cerveja, alimentos com microrganismos vivos (iogurte, queijos).
- Produção de vitaminas, antibióticos, enzimas, plantas híbridas, aminoácidos, anticorpos monoclonais, insulina.

Riscos associados

- Geração de compostos que causam riscos:
 - Matéria-prima (meios, p.e.)
 - Os próprios microrganismos
 - Produto final bruto e/ou subprodutos
 - Resíduos
 - Produto final purificado

Esquema genérico de um processo biotecnológico



Para cada uma das etapas, existem normas de biossegurança específicas a serem seguidas!

OGMs e a indústria biotecnológica

- Década de 1980: 1^{as} instalações para cultivo de microrganismos recombinantes em larga escala.
- Produção de anticorpos, de proteínas (de *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Clostridium acetobutylicum*) e de células animais.

OGMs e a indústria biotecnológica

- Organismos recombinantes de baixo nível de risco são empregados em processos industriais:
 - *E. coli* derivada da cepa K-12: bem caracterizada, atenuada, não patogênica e aprovadas pela FDA.
 - Produção de insulina e hormônio de crescimento humano.
 - Cepas específicas de levedura: insulina humana e vacinas contra hepatite.
 - Células do ovário de hamster chinês: obtenção de ativador de plasminogênio e eritropoetina.



Converte plasminogênio em plasmina, dissolve coágulos.



Ela atua como fator de estimulação da produção de eritrócitos maduros.

Processos em larga escala com OGMs

Trabalhos de pesquisa e processos biotecnológicos cujos cultivos utilizem volumes superiores a **10 litros** ou para concentrados celulares com mais de **1 Kg.**

- 4 níveis de classificação **dos cultivos de OGM em larga escala**, em função do grau de **risco*** aos trabalhadores e meio ambiente:
 - Boas práticas de ampliação de escala (BPAE).
 - Nível de Biossegurança 1 – Escala Ampliada (NS1-EA).
 - Nível de Biossegurança 2 – Escala Ampliada (NS2-EA).
 - Nível de Biossegurança 3 – Escala Ampliada (NS3-EA).

*** Risco causado pelo organismo hospedeiro utilizado no processo e não pelos seus produtos.**

Boas práticas de ampliação de escala (BPAAE)

- Recomendado para trabalhos com organismos que **não são conhecidos por causar doenças em adultos saudáveis, não-toxigênicos, bem caracterizados e/ou com uma longa história de trabalho em grande escala**. Estes organismos **não devem ser capazes de transferir resistência aos antibióticos** para outros organismos. Exemplos: *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* K12.
- Cuidados: manusear os OGMs com equipamentos que garantam a segurança pessoal (p.e., EPIs).

Nível de Biossegurança 1 – Escala Ampliada (NS1-EA).

- Recomendado para cultivos que usem organismos que não são conhecidos por causar doenças em seres humanos adultos saudáveis e **possuem um risco mínimo pessoal e para o ambiente.**
- Meios de cultura não devem ser removidos do sistema fechado sem que os organismos viáveis com DNA recombinante tenham sido inativados.

Nível de Biossegurança 2 – Escala Ampliada (NS2-EA)

- Recomendado para o cultivo de organismos infecciosos que seriam tratados na NB-2 em escala de laboratório.
- Sistemas fechados devem ter sensores
 - que monitorem a integridade do sistema;
 - que tenham sua integridade testada antes do início de qualquer operação.

Nível de Biossegurança 3 – Escala Ampliada (NS3-EA)

- Recomendado para o cultivo de organismos infecciosos que seriam tratados na NB-3 em escala de laboratório.
- Sistemas fechados devem estar alocados em uma área controlada:
 - Entrada com porta dupla;
 - Equipamento de lavagem de mãos operados automaticamente com pés ou cotovelos;
 - Com acesso restrito às pessoas;
 - Com troca de roupas por EPIs;
 - Descontaminação dos EPIs e encaminhamento para lavagem.

Nível de Biossegurança 4 – Escala Ampliada (NS4-EA):
não há disposições para este NB.

Biossegurança na indústria de imunobiológicos (soros e vacinas)

- Níveis de segurança variam de acordo com a natureza do processo:
 - Produção de soros.
 - Produção de vacinas em ovos embrionados: material viral em embriões de galinhas no interior de ovos SPF. Ex. vacina contra a gripe. Biossegurança depende do quão “perigoso” é o vírus.
 - Produção de vacinas em fetos de roedores: vacinas anti-rábicas, vírus extremamente perigoso.
 - Produção de vacinas em culturas de células: vírus inoculado em culturas de células de rim de hamster, p.e.
 - Produção de vacinas de DNA: obtidas em meios de cultura de células modificadas ou não, cujos fragmentos atuam como antígeno. Exemplo: vacina contra a hepatite B. A vacina é produzida inserindo-se múltiplas cópias do gene que codifica a proteína HBsAg (partícula imunogênica) do vírus da Hepatite B no cromossomo de uma levedura.

Bibliografia

1. Cardoso, T.A.O. Considerações sobre a biossegurança em arquitetura de biotérios. **Bol. Centr. Panam. Febre Aftosa**, 64-67: 3-17, 1998-2001.
2. Damy, S.B. et al. Aspectos fundamentais da experimentação animal - aplicações em cirurgia experimental. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo , v. 56, n. 1, 2010 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302010000100024&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 28 nov. 2013.
3. Majerowicz, Joel. **Procedimentos de biossegurança para as novas instalações do Laboratório de Experimentação Animal (Laean) de Bio-Manguinhos**. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos) – Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) em parceria com Instituto Oswaldo Cruz, Biologia Celular e Molecular. Rio de Janeiro, 2005.
4. Neves, S.M.P.; Chaguri, L.C.A.G. Biossegurança em Biotérios. In: Hirata, M.H.; Mancini Filho, J. **Manual de Biossegurança**. Editora Manole Ltda, 2002. p.349-379.
5. Pessoa Jr., A.; Polakiewicz, B.; Abrahão Neto, J. Biossegurança em Biotecnologia Industrial. In: Hirata, M.H.; Mancini Filho, J. **Manual de Biossegurança**. Editora Manole Ltda, 2002. p.382-414.
6. Politi, F.A.S.; Pietro, R.C.L.R.; Salgado, H.R.N. Caracterização de biotérios, legislação e padrões de biossegurança. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.1, p. 17-28, 2008.
7. Reis, K. T. **Biossegurança em Biotérios de Criação e Experimentação Animal**. Biotério de Experimentação Animal do CPqRR, FIOCRUZ. (<http://www.cpqrr.fiocruz.br/posgraduacao/cienciasdasaude/apoio/Biosseguranca/03%20-%20Biosseguranca%20em%20Bioterios%20de%20Criacao%20e%20Experimentacao%20Animal.doc>)
8. Sarmiento, E.O. Biossegurança e Experimentação Animal. **Revista CFMV** - Brasília/DF -Ano XI - Nº 36 Setembro/Outubro/Novembro/Dezembro de 2005.
9. Neves, S. M. P. et al. **Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP** . São Paulo: FCF-IQ/USP, 2013.
10. Ministério da Saúde, FIOCRUZ. **Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ**. Rio de Janeiro, 2005.
11. Instituto Butantan: www.butantan.gov.br
12. Fundação Oswaldo Cruz: www.fiocruz.br
13. Estudo de caso baseado no material disponível no site da *Asia Pacific Biosafety Training Network* (<http://www.apbtn.org/apbtn/trainingMaterials.html>).
14. Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do biotério de produção e experimentação da FCF/IQ-USP (<http://interactivepdf.uniflip.com/2/81637/296210/pub/index.html>)