

Biossegurança e Biocontenção em Laboratórios (SFI 5878-8/2)

Profa. Nelma Regina Segnini Bossolan

Profa. Cristina Kurachi

7, 8 e 10 de dezembro de 2020.

Programa

7/12/2020 (2ª feira), 14h00-17h00 – Profa. Nelma

Apresentação da disciplina

Biossegurança e Boas Práticas de Laboratório

8/12/2020 (3ª feira), 14h00-17h00 – Profa. Cristina

Radioproteção (Lilian Moryiama)

Biotério Animal (Profa. Cristina)

10/12/2020 (5ª feira), 14h00-18h00 – Profas. Nelma e Cristina

Atividade avaliativa – Estudo de Caso

Aula 1: Biossegurança e Boas Práticas de Laboratório

Profa. Nelma R. S. Bossolan (IFSC-USP) – nelma@ifsc.usp.br

07/12/2020

Tópicos a serem abordados hoje

- Apresentação
 - Objetivo da disciplina
- Tipos de risco em laboratório
- Classes de risco de microrganismos
- Medidas de contenção e Níveis de Biossegurança
- Biossegurança de OGM no Brasil
 - Legislação / CIBio IFSC
 - NB's

Objetivo da disciplina

Capacitar os alunos de pós-graduação a trabalhar em laboratórios de biossegurança nível 1 e 2 - NB1 e NB2. O curso proporcionará aos alunos o conhecimento básico e normas de biossegurança com microrganismos, além de fundamentar todo o funcionamento de áreas de contenção com níveis de periculosidade biológica.

BIOSSEGURANÇA

SENSO ESTRITO / LEGAL

- 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 (Brasil, 2005).

SENSO AMPLIADO / PRATICADA

- Conjunto de medidas e procedimentos técnicos necessários para a manipulação de agentes e materiais biológicos capazes de prevenir, reduzir, controlar ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam comprometer a saúde humana, animal, vegetal e o meio ambiente (Brasil, 2017)



Responsável pela Disciplina → CIBio

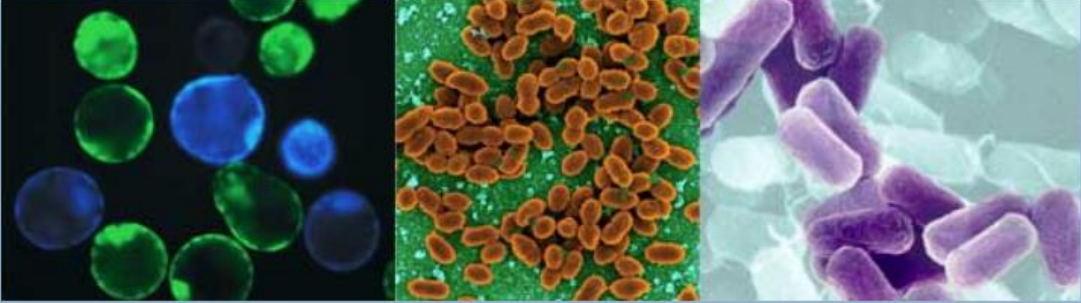


CIBio - IFSC

Comissão Interna de Biossegurança IFSC/USP

Home

- Atribuições e Responsabilidades
- Membros da CIBio-IFSC
- Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB)
- Submissão de projetos a CIBio-IFSC
- Treinamento em Biossegurança
- Legislação e Manuais
- Glossário
- Links Úteis
- Contato
- Relatório Anual



Comissão Interna de Biossegurança do IFSC

A Comissão Interna de Biossegurança do Instituto de Física de São Carlos – CIBio/IFSC foi criada em abril de 1997, pela Portaria IFSC no. 007/97, de acordo com a Lei Nacional de Biossegurança (Lei no 8.974/95), que prevê sua criação por “toda entidade que utilizar técnicas e métodos de engenharia genética”.

Esta lei “estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização no uso das técnicas de engenharia genética na construção, cultivo, manipulação, transporte, comercialização, consumo, liberação e descarte de organismo geneticamente modificado (OGM), visando proteger a vida e a saúde do Homem, dos animais e das plantas, bem como o meio ambiente” (artigo 1º)

Em julho de 1997, o IFSC recebeu da CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança) o seu Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB), que lhe permite desenvolver trabalhos com OGMs do Grupo I.

Desenvolvido por: **Eric Kureck**



Tipos de Riscos no Laboratório

*Risco é a **probabilidade** ou chance de lesão ou morte.*

Risco

Probabilidade

de ocorrer um acidente causando algum tipo de dano, lesão ou enfermidade ou a probabilidade de concretização de um perigo.

- **Alta:** o dano poderá ocorrer sempre ou quase sempre.
- **Média:** o dano poderá ocorrer em algumas ocasiões.
- **Baixa:** o dano poderá ocorrer remotamente.



Agir baseado no
Princípio da **precaução!**



Riscos no Laboratório

Acidente



Físico



Químico



Ergonômico



Biológico



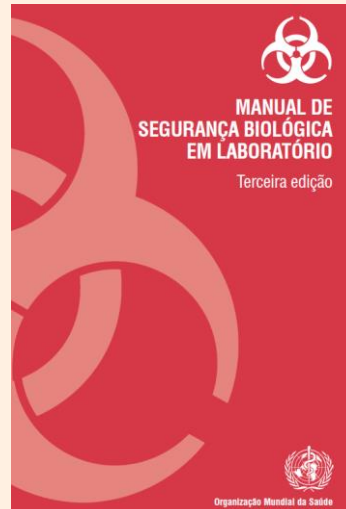
Risco biológico

Abrange manipulação de agente ou material de origem biológica que tem capacidade para produzir efeitos deletérios em seres humanos, animais ou no meio ambiente:

- Vírus, bactérias, fungos, parasitas, príons, OGMs
- Amostras biológicas provenientes de plantas, animais e humanos
 - Tecidos, secreções, excreções (urina, fezes, escarros, derrames cavitários, sangue, células, matérias de biópsias e peças cirúrgicas, toxinas, venenos, entre outros)

CRITÉRIOS PARA AVALIAÇÃO DE RISCO DOS AGENTES BIOLÓGICOS

1. Patogenicidade do agente e dose infecciosa
2. Resultado potencial da exposição
3. Via natural da infecção
4. Outras vias de infecção, resultantes de manipulações laboratoriais (parentéricas, via aérea, ingestão)
5. Estabilidade do agente no ambiente
6. Concentração do agente e volume do material concentrado a manipular
7. Presença de um hospedeiro apropriado (humano ou animal)
8. Informação disponível de estudos sobre animais e relatórios de infecções adquiridas em laboratórios ou relatórios clínicos
9. Atividade laboratorial planeada (geração de ultrassons, produção de aerossóis, centrifugação, etc.)
10. Qualquer manipulação genética do organismo que possa alargar o raio de ação do agente ou alterar a sensibilidade do agente a regimes de tratamento eficazes conhecidos
11. Disponibilidade local de profilaxia eficaz ou intervenções terapêuticas



baseadas em

Classes de Risco de agentes biológicos

*agentes causadores de enfermidades em **humanos** e nas taxas de morbimortalidade do agravo.*

Classe de risco	Risco individual	Risco à coletividade	Profilaxia ou terapia eficaz
1	Baixo	Baixo	Existe
2	Moderado	Baixo	Existe
3	Elevado	Moderado	Usualmente Existe
4	Alto	Alto	Ainda não existe

Fonte: (BINSFELD, et al., 2010).

Quadro 1. Classificação de microrganismos infecciosos por grupo de risco

Grupo de Risco 1 (nenhum ou baixo risco individual e colectivo)

Um microrganismo que provavelmente não pode causar doença no homem ou num animal.

Grupo de Risco 2 (risco individual moderado, risco colectivo baixo)

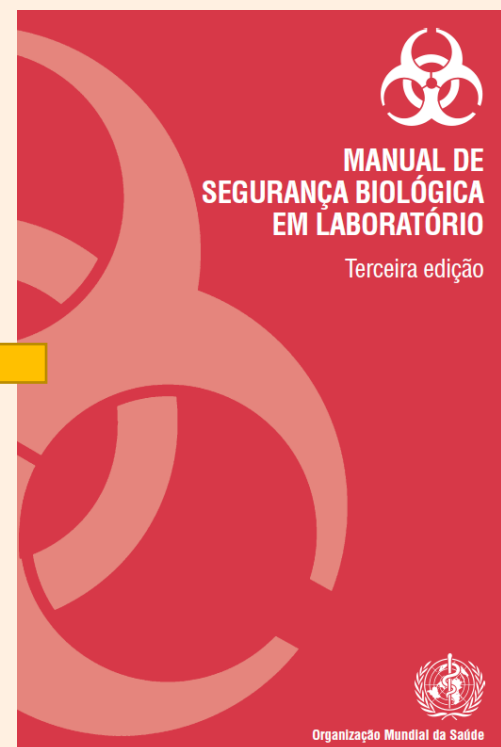
Um agente patogénico que pode causar uma doença no homem ou no animal, mas que é improvável que constitua um perigo grave para o pessoal dos laboratórios, a comunidade, o gado ou o ambiente. A exposição a agentes infecciosos no laboratório pode causar uma infecção grave, mas existe um tratamento eficaz e medidas de prevenção e o risco de propagação de infecção é limitado.

Grupo de Risco 3 (alto risco individual, baixo risco colectivo)

Um agente patogénico que causa geralmente uma doença grave no homem ou no animal, mas que não se propaga habitualmente de uma pessoa a outra. Existe um tratamento eficaz, bem como medidas de prevenção.

Grupo de Risco 4 (alto risco individual e colectivo)

Um agente patogénico que causa geralmente uma doença grave no homem ou no animal e que se pode transmitir facilmente de uma pessoa para outra, directa ou indirectamente. Nem sempre está disponível um tratamento eficaz ou medidas de prevenção.



Grupo de Risco 1

Inclui os agentes biológicos conhecidos por não causarem doenças no homem ou nos animais adultos saudáveis.

Exemplos: *Lactobacillus* spp e *Bacillus subtilis*.

A classe de risco 1 é representada por agentes biológicos não incluídos nas classes de risco 2, 3 e 4 e para os quais até o momento a capacidade de causar doença no homem não foi reconhecida.

A ausência de um determinado agente biológico nas classes de risco 2, 3 e 4 não implica a sua inclusão automática na classe de risco 1. Para isso deverá ser conduzida uma avaliação de risco.

Grupo de Risco 2

Inclui os agentes biológicos que provocam infecções no homem ou nos animais, cujo potencial de propagação na comunidade e de disseminação no meio ambiente é limitado, e para os quais existem medidas profiláticas e terapêuticas conhecidas eficazes.

(Fonte: Brasil, 2017)

Exemplos:

Clostridium spp, *E.coli* (algumas linhagens), *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* spp;

Candida albicans, *Aspergillus* spp;

Schistosoma mansoni;

Toxoplasma, *Trypanosoma*, *Plasmodium*;

vírus da rubéola, raiva, dengue, febre amarela, Chikungunya, hepatite A, Influenza (A H1N1, B e C).

BACTÉRIAS, INCLUINDO	
Acinetobacter baumannii	
Acinetobacter spp.	
FUNGOS	
Actinomyces	
[Nome]	Acremonium alabamense
	Cephalosporium
Actinomyces	
Ap	
PARASITOS –	
Actinomyces	Acanthocheilium
Ap	dracunculoides
PARASITO	
Aeromonas	
[Nome]	Ar
	Ar
	Ar
Aeromonas	
Ala	
As	
Aggr	
(Te	
actin	
A.	
a	
s	
VÍRUS E PRIONS	
Família Adenoviridae	
A	
P	
Família Anelloviridae	
por transfusão – TTV	
A	
Família Arenaviridae	
(linhagem Armstrong)	
C	
Walk, Morogoro, Olinda	
Allpahuayo mammarenavirus	
B	
Mobala mammarenavirus	
E	
Whitewater Arroyo mammarenavirus	
B	
Chapare mammarenavirus	
S	
Lassa mammarenavirus	

Grupo de Risco 3

Inclui os agentes biológicos que possuem capacidade de transmissão, em especial por via respiratória, e que causam doenças em humanos ou animais potencialmente letais, para as quais existem usualmente medidas profiláticas e terapêuticas. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de pessoa a pessoa.

(Fonte: Brasil, 2017)

BACTÉRIAS, INCLUINDO CLAMÍDIAS E RIQUETSÍAS

Bacillus anthracis

FUNGOS

Bru
Bru

Coccidioides imr

Bur *Histoplasma cap*

con *H. f*

[Nomencl

Chlamydo

Clostridium

Coxiella b

Escherich

aquelas d

Colite He

exemplo,

Família Coron

(SARS-CoV), C

CoV); testes d

de vírus lisado

de espécimes

Exemplos:

Bacillus anthracis, *Clostridium botulinum*, *E.coli* enterohemorrágica, *Salmonella entérica* sor. Typhi, *Shigella dysenteriae*, *Yersinia pestis*

Histoplasma, *Coccidioides*

HIV (*Lentivirus*), SARS-Cov-2, *Hantavirus*, *Influenzavirus* H5N1

Prions: encefalopatias espongiformes

Grupo de Risco 4

Inclui os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade, em especial por via respiratória, ou de transmissão desconhecida. Até o momento, não há nenhuma medida profilática ou terapêutica eficaz contra infecções ocasionadas por estes. Causam doenças humanas e animais de alta gravidade, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no meio ambiente. Esta classe inclui principalmente vírus.

(Fonte: Brasil, 2017)

VÍRUS

Famili
mam
mam

Famili

Famili

Gên
Zain

Gên

Famili
fever

Famili
simia

Guanarito
us, Lujo

er

rest,

morrhagic

erpesvirus

Exemplos:

Vírus da varíola (*Orthopox*),
Ebola (*Ebolavirus*) e algumas
outras febres hemorrágicas
(*Flavivirus*, *Nairovirus*, *Lassa
mammarenavirus*)

Família *Paramyxoviridae* – Gênero *Henipavirus* – *Hendra* (morbillivirus equino), *Nipah*

Família *Poxviridae* – Gênero *Orthopox* – *Variola* (vírus da varíola – major e minor), todas as linhagens incluindo *Whitepox*, *Camelpox* (varíola do camelo)

Medidas de Contenção...

... Incluem

Procedimentos

- Boas práticas de laboratório (BPL)
- Práticas especiais

Barreiras primárias

- Equipamentos de segurança (EPI e EPC)
 - Luvas, aventais, protetores faciais, óculos de proteção, cabines de segurança biológica, pipetadores automáticos, autoclave, etc.

Barreiras secundárias

- Instalações
 - Porta com controle de acesso, porta com visor, bancadas impermeáveis, local sem circulação de pessoas, antecâmara, pressão interna negativa, etc.

BPL's - Boas Práticas Laboratoriais

manutenção de um ambiente seguro e confiável a toda equipe do laboratório

1. Restringir o acesso de pessoas ao laboratório;
2. Observar os princípios básicos de higiene, entre eles: manter as mãos limpas e unhas aparadas; sempre lavar as mãos antes e após vários procedimentos. Se não existirem pias no local, deve-se dispor de líquidos anti-sépticos para limpeza das mãos;
3. Proibir: a ingestão e/ou o preparo de alimentos e bebidas, fumar, mascar chicletes, manipular lentes de contato, a utilização de cosméticos e perfumes, o armazenamento de alimentos para consumo nas áreas de manipulação de agentes biológicos e químicos. Em todos os laboratórios deve haver uma área designada como refeitório;
4. Pipetar com a boca é expressamente proibido e jamais se deve colocar na boca objetos de uso no laboratório (canetas, lápis, borrachas, pipetas, entre outros);

Lavagem das mãos



Duração total do procedimento: 40-60 seg.



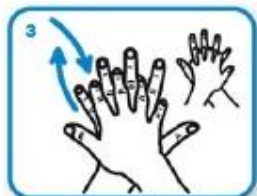
Molhe as mãos com água



Aplique sabão suficiente para cobrir todas as superfícies das mãos



Esfregue as palmas das mãos, uma na outra



Palma direita sobre o dorso esquerdo com os dedos entrelaçados e vice versa



Palma com palma com os dedos entrelaçados



Parte de trás dos dedos nas palmas opostas com os dedos entrelaçados



Esfregue o polegar esquerdo em sentido rotativo, entrelaçado na palma direita e vice versa



Esfregue rotativamente para trás e para a frente os dedos da mão direita na palma da mão esquerda e vice versa



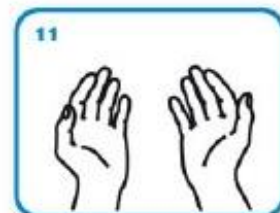
Enxague as mãos com água



Seque as mãos com toalhete descartável



Utilize o toalhete para fechar a torneira se esta for de comando manual



Agora as suas mãos estão seguras.

Aerossois

(Fiocruz, 2005)

Tamanho da gotícula relacionado a aerossóis em doenças infecciosas

Tamanho da Gotícula (SECA)	Destino da Gotícula	Modo Primário de Transmissão	Potencial para estabelecer a Doença	Comentários
<150µM	Evapora em 2-3 seg e forma gotículas secas (geralmente permanece no ar).	Inalação da gotícula	Gotículas > 5µm geralmente não alcançam o alvéolo, mas podem infectar membranas mucosas do trato respiratório (<i>M. tuberculosis</i> deve alcançar o alvéolo e estabelecer infecção no trato respiratório superior.	< 10% de <i>Escherichia coli</i> sobrevivem à transição pelas gotículas; >90% de <i>M. tuberculosis</i> sobrevivem a esta transição.
>150µm	Deposita-se nas superfícies, evapora e torna-se parte da poeira ambiental.	Tocar na poeira e transferi-la para as membranas mucosas.	Partículas infecciosas podem estabelecer infecção no sítio de contato inicial e/ou podem amplificar-se e disseminar-se.	O Vírus Respiratório Sincicial frequentemente transmite-se por esta via.

Adaptado do "Clinical Microbiology Procedures Handbook". Editor: Henry D. Isenberg. American Society for Microbiology/Washington, D.C.

BPL's - Boas Práticas Laboratoriais

5. Utilizar calçados de proteção;
6. Usar as luvas de procedimentos somente nas atividades laboratoriais e evitar tocar em objetos de uso comum;
7. Trajar roupas de proteção durante as atividades laboratoriais, como: jalecos, aventais, macacões, entre outros. Essas vestimentas não devem ser usadas em outros ambientes fora do laboratório.
8. Evitar o uso de qualquer tipo de acessórios/ adornos durante as atividades laboratoriais;
9. Manter os artigos de uso pessoal fora das áreas designadas às atividades laboratoriais;

EPI's e sinalização

Qual é o erro aqui??



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

BPL's - Boas Práticas Laboratoriais

10. Organizar os procedimentos operacionais padrões (POP) para o manuseio dos equipamentos e técnicas empregados nos laboratórios;
11. Garantir que a limpeza dos laboratórios (bancadas, pisos, equipamentos, instrumentos e demais superfícies) seja realizada regularmente antes e imediatamente após o término das atividades laboratoriais. Em caso de derramamentos, pode-se empregar, para a descontaminação do local: **álcool a 70% ou solução de hipoclorito de sódio**, preferencialmente, a 10%, **deixando agir por 30 minutos** e após remover com papel absorvente;
12. Assegurar que os resíduos biológicos sejam descontaminados antes de ser descartados;
13. Manusear, transportar e armazenar materiais (biológicos, químicos e vidrarias) de forma segura para evitar qualquer tipo de acidente;
14. Usar os EPIs adequados durante o manuseio de produtos químicos;
15. Identificar adequadamente todos os produtos químicos e frascos com soluções e reagentes, os quais devem conter a indicação do produto, condições de armazenamento, prazo de validade, toxicidade do produto e outros;

BPL's - Boas Práticas Laboratoriais

16. Acondicionar os resíduos biológicos e químicos em recipientes adequados, em condições seguras e encaminhá-los ao serviço de descartes de resíduos dos laboratórios para receberem o seu destino final;
17. Afixar a sinalização adequada nos laboratórios, entre elas, incluir o símbolo internacional de “**Risco Biológico**” na entrada dos laboratórios a partir do NB-2;
18. Instituir um programa de controle de roedores e vetores nos laboratórios;
19. **Evitar trabalhar sozinho** no laboratório e jornadas de trabalho prolongadas;
20. Providenciar treinamento e supervisão aos iniciantes nos laboratórios;
21. Disponibilizar **kits de primeiros socorros** e promover a capacitação dos usuários em segurança e emergência nos laboratórios.



RISCO BIOLÓGICO

ORGANISMO: _____

CLASSE DE RISCO: _____

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: _____

TELEFONE PARA CONTATO: _____

**PROIBIDA A ENTRADA DE PESSOAS
NÃO AUTORIZADAS**

What You Work With Can Make You Sick

Follow safe lab practices—and don't bring germs home with you.



Always wash your hands with soap and water...

- ▶ Right after working in the lab
- ▶ Just before you leave the lab

Avoid contamination while in the lab.

Don't eat, drink, or put things in your mouth (such as gum)

Don't touch your mouth or eyes

Don't put on cosmetics (like lip balm) or handle your contact lenses



Don't carry dangerous germs from the laboratory home with you.

Leave personal items outside of the lab so you don't contaminate them: cell phone, car keys, tablet or laptop, MP3 player

Keep work items off of bench areas where you do experiments: backpacks, notebooks, pencils, pens

Leave lab supplies inside the lab.

If you must take supplies out of the lab, keep them in a separate bag so you don't contaminate anything else

Leave your experiment inside the lab so you can stay healthy outside the lab.



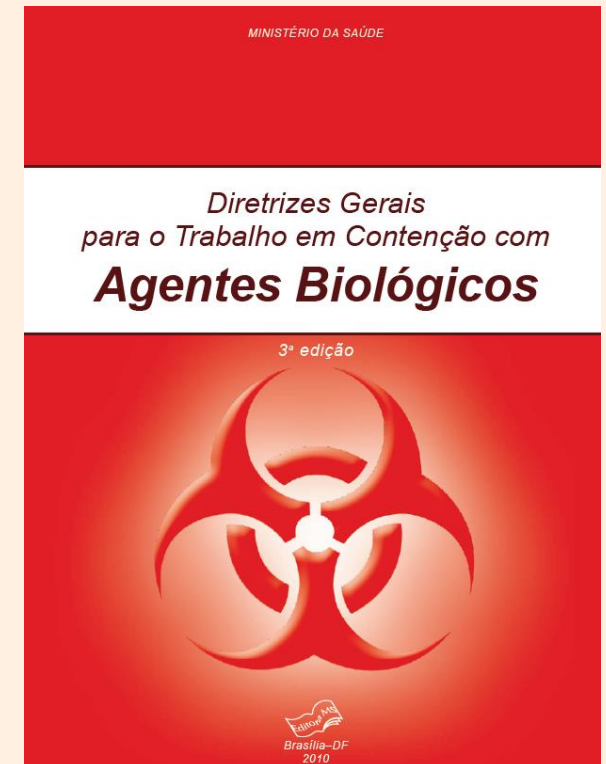
Centers for Disease Control and Prevention
National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases

Níveis de Biossegurança

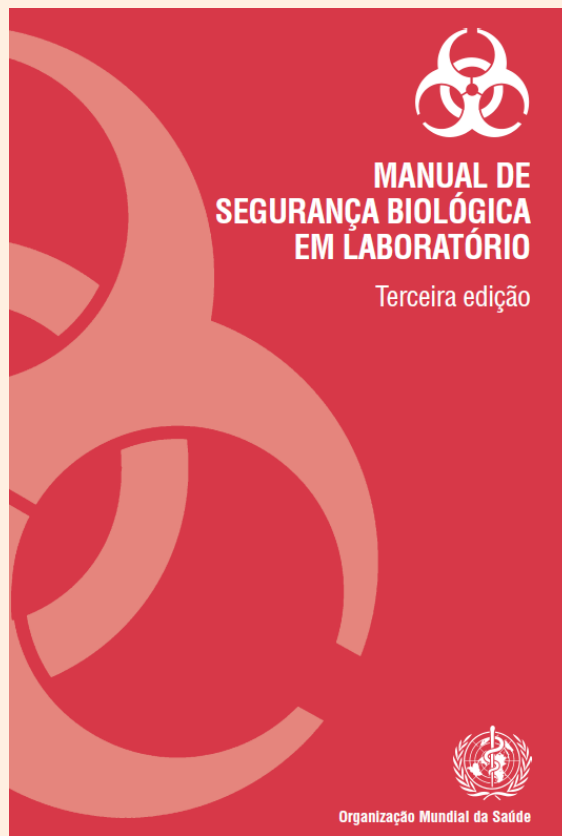
Níveis de Biossegurança

- Combinação de práticas e técnicas de laboratório e utilização de equipamentos de proteção.
- Há um NB correspondente para cada Classe de Risco dos agentes biológicos: NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4 para as Classes de Risco 1, 2, 3 e 4, respectivamente.
- NB são aplicáveis a laboratórios de análises clínicas, de pesquisa, de ensino, de diagnóstico ou de produção.

Detalhamento de Procedimentos,
EPI's e Instalações



NB's - requisitos



Quadro 2. Relação dos grupos de risco com níveis de segurança biológica, práticas e equipamento

GRUPO DE RISCO	NÍVEL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA	TIPO DE LABORATÓRIO	PRÁTICAS DE LABORATÓRIO	EQUIPAMENTO DE PROTECÇÃO
1	Básico – Nível 1 de segurança biológica	Ensino básico, pesquisa	BTM	Nenhum; mesa/ bancada de trabalho
2	Básico – Nível 2 de segurança biológica	Serviços básicos de saúde; serviços de diagnóstico, pesquisa	BTM e fatos de protecção, sinal de perigo biológico	Bancada de trabalho e CSB para aerossóis potenciais
3	Confinamento – Nível 3 de segurança biológica	Serviços especiais de diagnóstico, pesquisa	Como Nível 2, mais roupa especial, acesso controlado, ventilação dirigida	CSB e/ou outros dispositivos primários para todas as actividades
4	Confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica	Serviço de manipulação de agentes patogénicos perigosos	Como Nível 3, mais entrada hermética, saída com duche, eliminação especial de resíduos	CSB classe III ou fatos de pressão positiva em conjunto com CSB classe II, autoclave duas portas (através da parede), ar filtrado

CSB – Câmaras de segurança biológica.

BTM – Boas Técnicas de Microbiologia (ver Parte IV deste Manual).

BSL1



Supervisionado por
profissional de nível superior

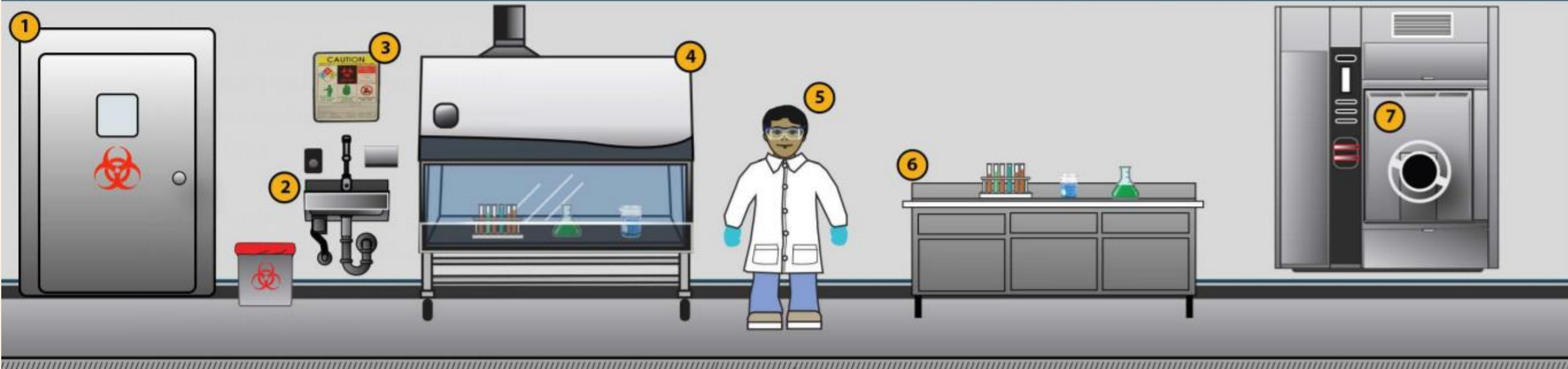
Trabalho em bancada.

Desejável, mas não obrigatória

Laboratórios de ensino

1. Acesso controlado
2. Pia para lavar as mãos
3. Política de alerta de perigos acentuados
4. Equipamento de proteção individual
5. Bancada de laboratório
6. Autoclave

BSL2



Acesso restrito a
pessoas treinadas.

Obrigatoriedade de Cabine
de Segurança Biológica
(CSB Classe 1 ou II).

Laboratórios clínicos, de
diagnóstico e de ensino.

Localizado em área
afastada de circulação.

Descontaminação do lixo laboratorial:
autoclave, incineração ou
descontaminação química.

1. Acesso controlado
2. Pia para lavar as mãos
3. Política de alerta de perigos acentuados
4. Dispositivo de contenção coletivo
5. Equipamento de proteção individual
6. Bancada de laboratório
7. Autoclave



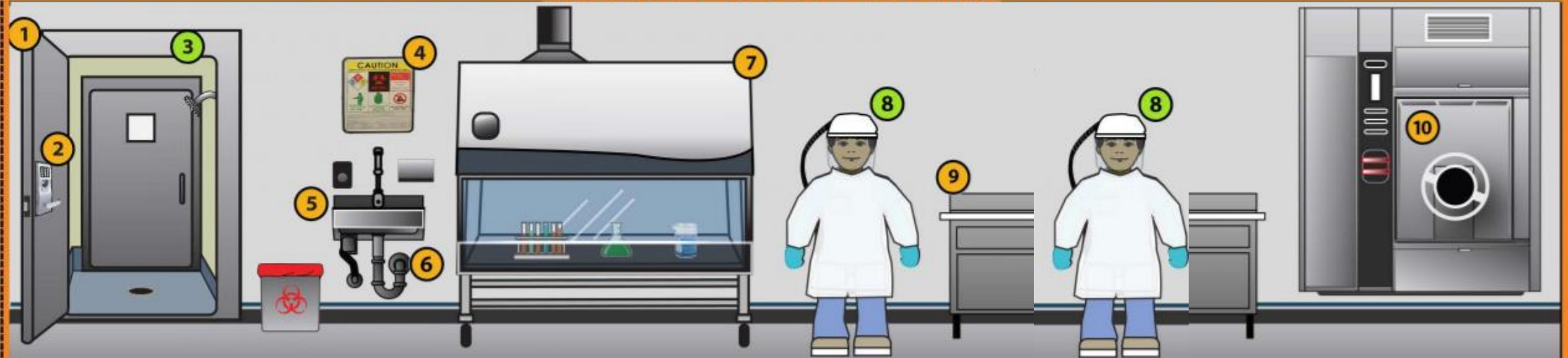
Required safety equipment



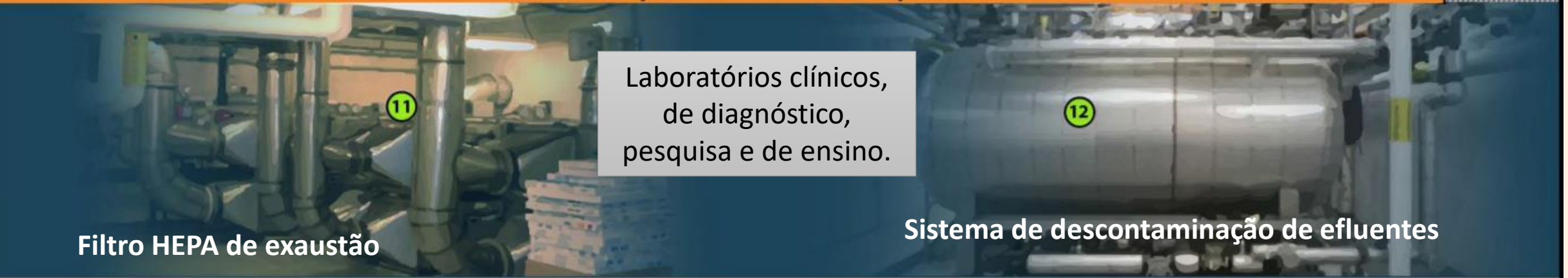
Risk-based enhancements

BSL3 (WITH RISK-BASED ENHANCEMENTS)

AIR TIGHT (WHEN DISINFECTING)



AIR TIGHT (WHEN DISINFECTING)

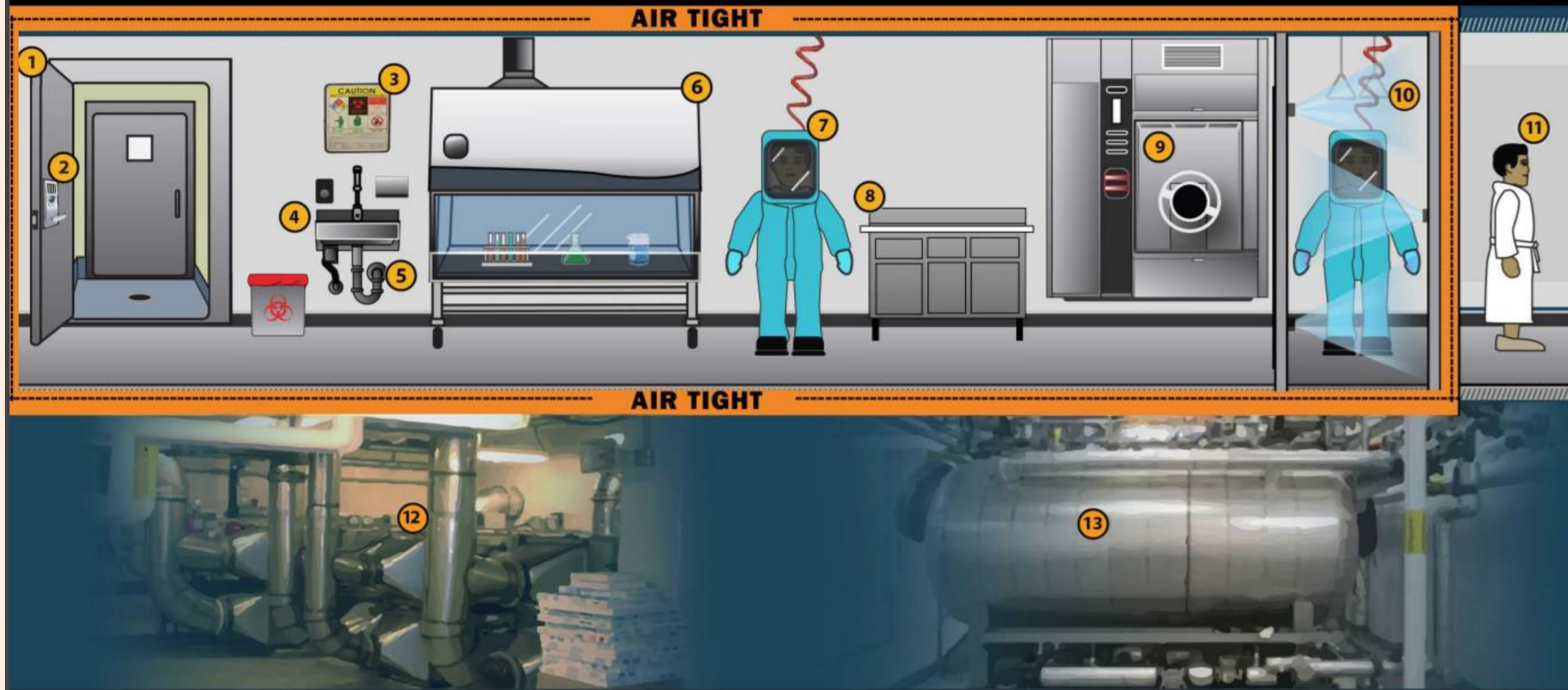


Luvas duplas
Propés ou sapatilhas

Sistema de ar independente,
Pressão interna negativa

Uso obrigatório de CSB classe II ou III.

BSL4



- 7. Roupa de proteção com pressão positiva
- 10. Chuveiro químico
- 11. Chuveiro individual

Laboratórios de pesquisa
estritos.

Laboratórios NB-4 no mundo

Protective suits worn by BSL-4 lab researchers. Photo: The Robert Koch Institute



<https://multimedia.scmp.com/infographics/news/world/article/3101114/biosafety-laboratories/index.html>

Laboratórios NB-4 no mundo

A worker stands next to a cage with mice at the P4 laboratory in Wuhan in February 2017.



<https://multimedia.scmp.com/infographics/news/world/article/3101114/biosafety-laboratories/index.html>

Laboratórios NB-4 no mundo



After exiting the lab, researchers are sprayed with a detergent disinfectant.
Photo: The Robert Koch Institute

Resumo dos requisitos para área física e instalações conforme o nível de Biossegurança (NB 1 e NB 4)

Requisito	NB1	NB2	NB3	NB4
Sinalização com símbolo de risco biológico	R	O	O	O
Laboratório separado de passagens públicas	R	O	O	O
Laboratório com acesso				
Controlado	R	O	-	-
Restrito	-	-	R	O
Local para armazenar jalecos e EPIs de uso exclusivo no Laboratório	R	R	O	O
Lavatório para mãos próximo à entrada/saída do laboratório	O	O	O	O
Tomeira com acionamento sem o uso das mãos	-	R	O	O
Ventilação				
Fluxo interno de ar	-	R	O	O
Sistema Central de Ventilação	-	R	O	O
Filtragem HEPA de exaustão	-	-	O	O
Laboratório				
Janelas vedadas	-	R	R	-
Sem janelas	-	-	R	O
Pressão negativa	-	-	O	O

Resumo dos requisitos para área física e instalações conforme o nível de Biossegurança (NB 1 e NB 4)

Requisito	NB1	NB2	NB3	NB4
Antecâmara	-	-	O	-
- com lavatório e local para jalecos	-	R*	R*	-
- dotada de portas com intertravamento	-	-	O	O
- com chuveiro	-	-	R*	-
- pressurizada com chuveiro	-	-	-	O
Paredes, tetos e piso lisos, impermeáveis e resistentes à desinfecção	R	O	O	O
Tratamento de efluentes	-	-	R*	O
Sistema de geração de emergência de energia elétrica	-	R*	O	O
Selagem/vedação de frestas nas paredes, tetos, piso e demais superfícies	-	-	O	O
Cabine de Segurança Biológica (CSB)	-	R**	O	O
Autoclave				
-próxima ao laboratório	R	O	O	-
-no laboratório	-	-	R	O
-dupla porta	-	-	R	O
Monitoração de segurança (visor, circuito interno de TV, interfone, etc)	-	-	R	O

Fonte: MS, FIOCRUZ (2005)

Sala de lavagem

Comunicação com a
área “limpa”



Biotério de produção e experimentação do Núcleo de Biologia Experimental (Nubex) da Universidade de Fortaleza (Unifor).⁴¹

Manipulação

	NB- 1	NB- 2	NB- 3	NB- 4
Não trabalhar sozinho	R	R	O	O
Usar luvas	O	O	O	O
Não tocar em maçanetas ou interruptores usando luvas	O	O	O	O
Usar dois (02) pares de luvas superpostas	-	R	O	O
Antes de descartar as luvas, desinfetar, tomando cuidado para não criar aerossol.	R	O	O	O
Lavar as mãos após tirar as luvas	O	O	O	O
Lavar as mãos antes de sair do Lab	O	O	O	O
Usar avental especial para uso em Lab	O	O	O	O
Nunca sair de avental do Lab	O	O	O	O
Usar máscara facial	-	R	R	O
Para quem usar lente de contato, usar óculos protetor.	R	R	O	O
Usar touca	-	-	R	O
Usar protetor de sapato	-	-	O	O
Usar respirador artificial	-	-	-	O

Equipamentos

Lava-olhos disponível

Trabalho em CSB* tipo I (sem necessidade de exaustão própria)

Trabalho em CSB tipo II (com filtração HEPA de ar emergente)

Trabalho em CSB tipo II (com 100% de exaustão e filtração HEPA do ar emergente).

Trabalho em CSB tipo III (com 100% de exaustão e filtração HEPA do ar emergente e com área de trabalho fechada acessível apenas por luvas)

Agitações feitas apenas na CSB

Homogeneizações feitas apenas na CSB

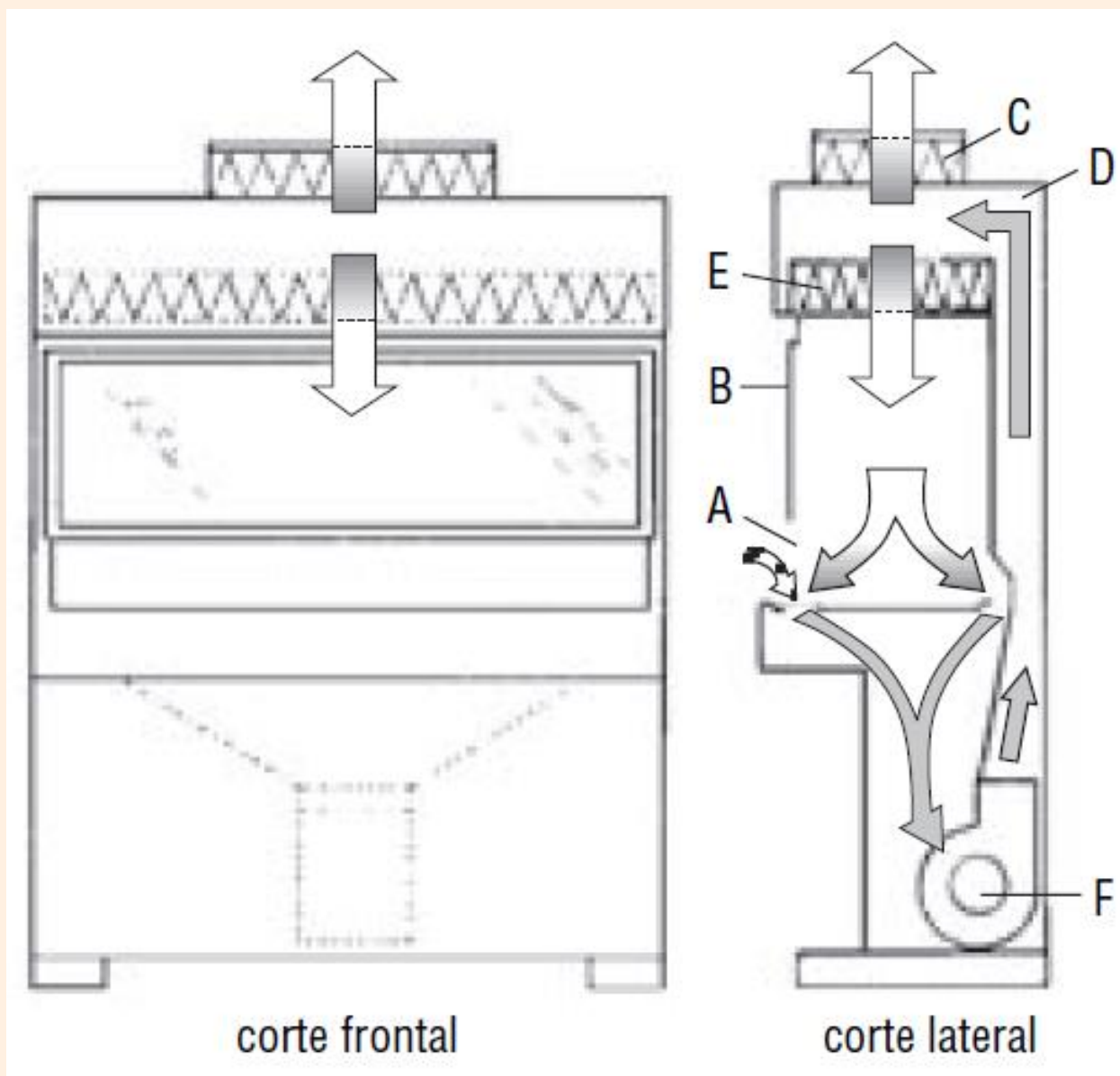
“Sonicagens” feitas apenas na CSB

Centrifugar em suportes tampados

Carregar suporte de centrífuga na CSB

Retirar tubos de suporte de centrífuga apenas na CSB

NB- 1	NB- 2	NB- 3	NB- 4
R	O	O	O
R	-	-	-
R	O	O	-
-	R	O	-
-	-	R	O
R	R	O	O
R	R	O	O
R	R	O	O
R	R	O	O
R	R	O	O



corte frontal

corte lateral

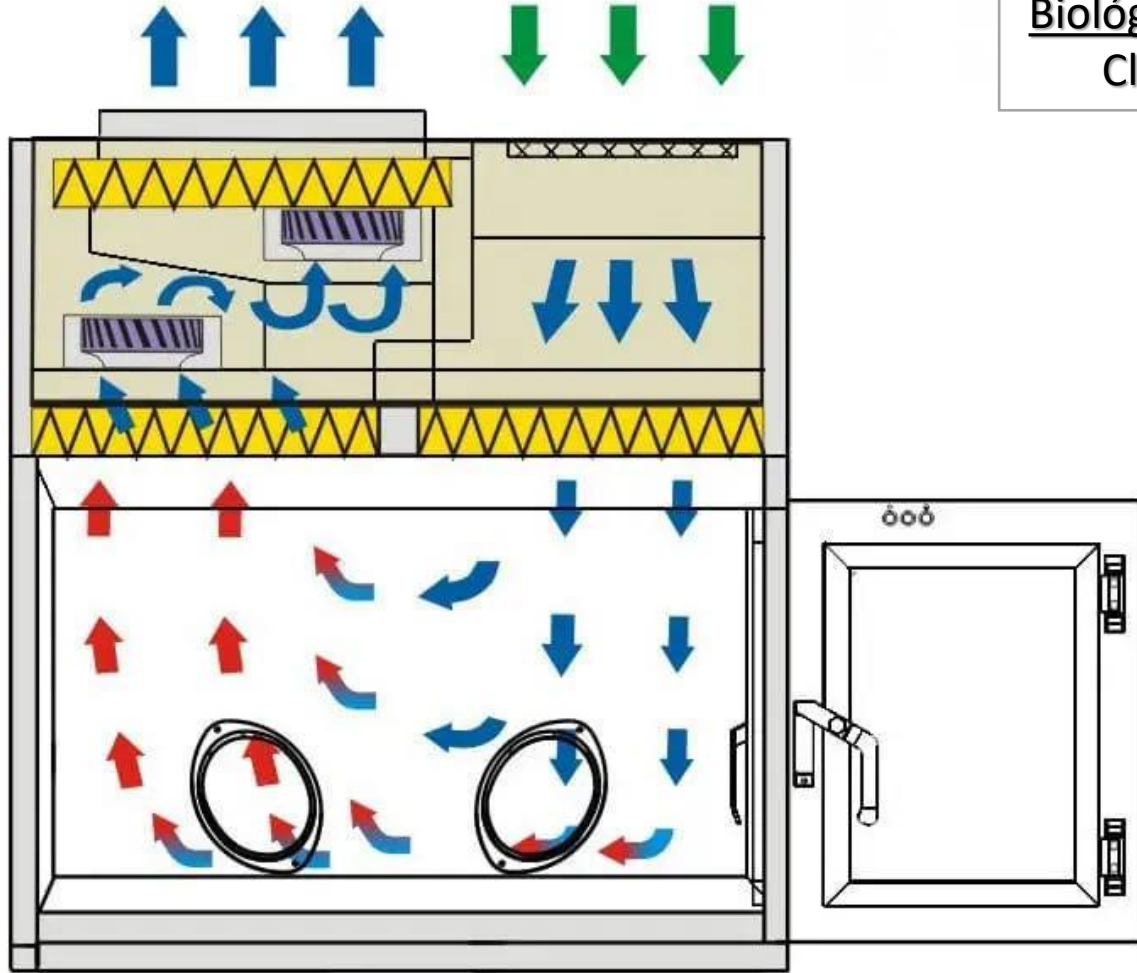
-  ar da sala
-  ar potencialmente contaminado
-  ar filtrado com filtro HEPA (*High Efficiency Particulate Air*)

Cabine de
Segurança
Biológica (CSB) -
Classe II -
Tipo A1

Velocidade
de entrada
do ar =
0,38 m/s



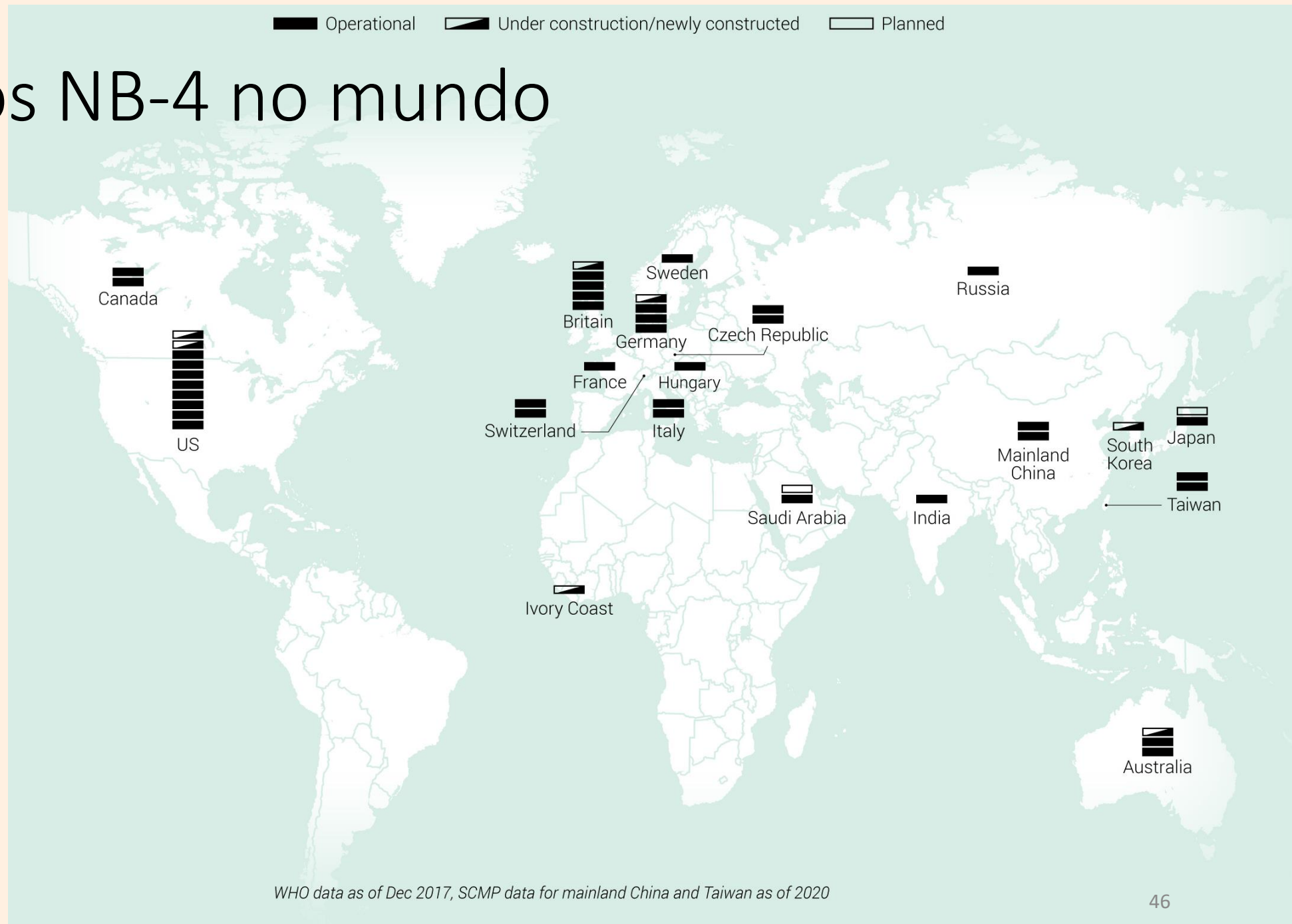
Cabine de
Segurança
Biológica (CSB) -
Classe III



-  ar da sala
-  ar potencialmente contaminado
-  ar filtrado com filtro HEPA



Laboratórios NB-4 no mundo



Laboratórios no Brasil

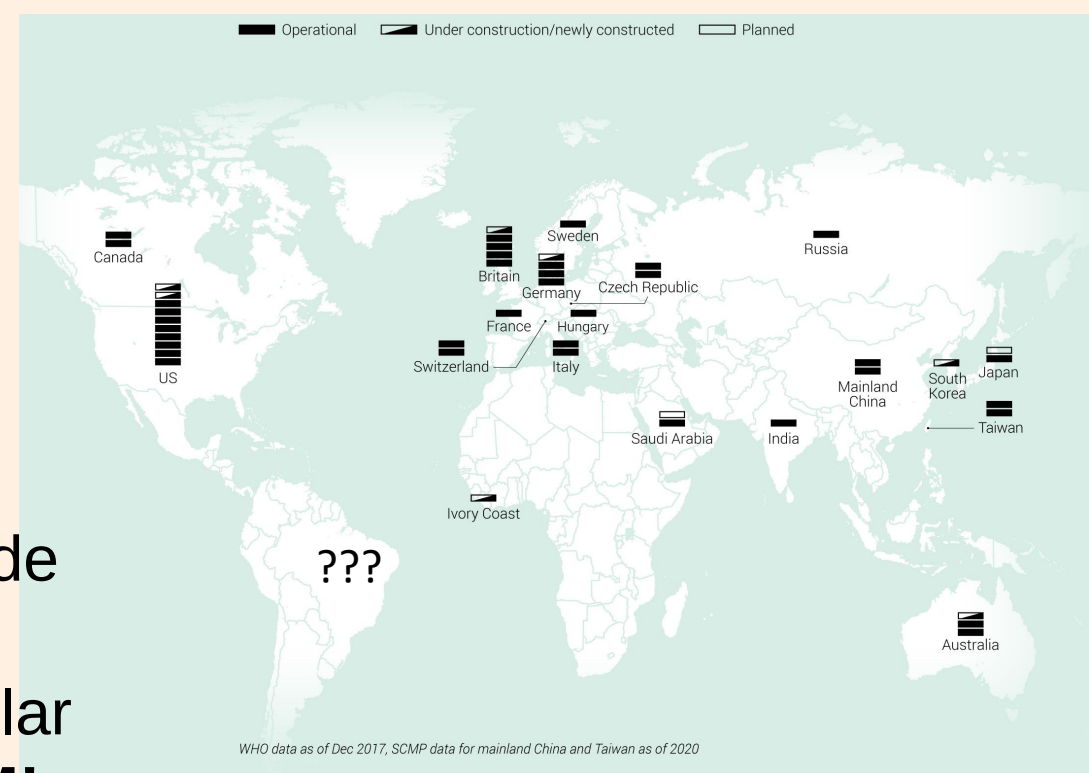
O Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (Lanagro/MG), em Pedro Leopoldo, recebeu, em 2014, autorização pela Comissão de Biossegurança do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), para manipular o vírus da febre aftosa viável (vivo). **Não é OGM!**

- As instalações biosseguras cumprem os requisitos de Segurança Biológica Nível 4, (NB4) estabelecidos pela OMS. **Não está claro se está em funcionamento para NB4.**

Fontes:

<https://www.ruralcentro.com.br/noticias/lanagro-mg-e-o-primeiro-do-brasil-com-nivel-de-biosseguranca-maximo-78224>

<https://www.paginarural.com.br/noticia/254317/lanagro-mg-destaca-titulo-concedido-pela-fao>



COVID-19 – Mesmo NB para
diagnóstico e
pesquisa/produção?

Orientações de biossegurança laboratorial relativa à doença do coronavírus (COVID-19)

Orientação provisória

19 de março de 2020

OPAS/BRA/COVID-19/20-019



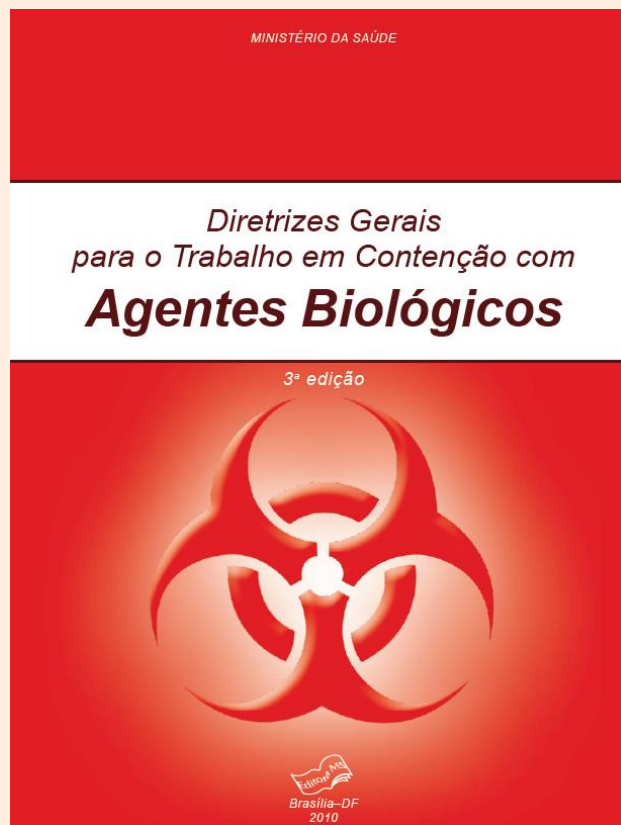
O trabalho laboratorial de diagnóstico **não-propagativo** (por exemplo, sequenciamento, teste de amplificação de ácidos nucleicos [NAAT]) deve ser realizado em um local com procedimentos equivalentes ao **Nível de Biossegurança (NB2)**.

O trabalho **propagativo** (por exemplo, culturas virais, isolamento viral ou testes de neutralização) deve ser realizado em um laboratório de contenção com fluxo de ar direcional para dentro do recinto **(NB3)**.

Como avaliar o local de trabalho,
caso você seja o responsável pelo
laboratório?

Checklist

Brasil, 2010.



FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO DIAGNÓSTICA DAS CONDIÇÕES DE BIOSSEGURANÇA EM AMBIENTES DE CONTENÇÃO A AGENTES BIOLÓGICOS

1 DADOS GERAIS

Instituição/Unidade: _____

Localização: _____

Pesquisador Principal: _____

Nível de Biossegurança: _____

Agente Biológico Manipulado: _____

Classe de Risco: _____

2 PRÁTICAS E PROCEDIMENTOS

Símbolo do Risco Biológico e Identificação do Nível de Biossegurança no Laboratório:

Presente () Ausente ()

Acesso ao laboratório:

Livre acesso () Apenas aos profissionais identificados ()

Registro de acesso ao laboratório:

Com registro () Sem registro ()

Manual de Biossegurança do Laboratório:

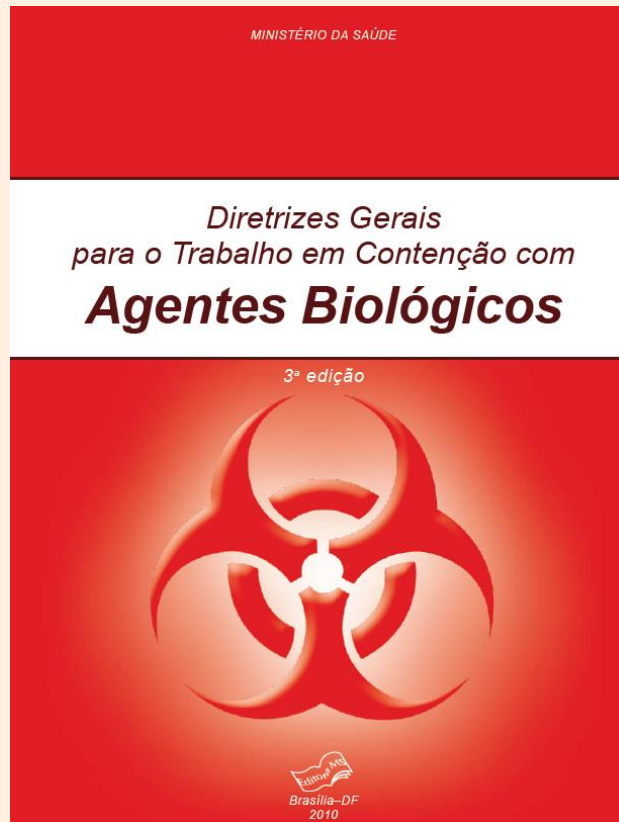
Presente () Ausente ()

Kit primeiros socorros:

Presente () Ausente ()

Checklist

Brasil, 2010.



Plano de Contingência:

Presente () Ausente ()

Avaliação médica dos profissionais:

Anual () Semestral () Não é realizada ()

Imunização dos profissionais:

Realizada () Não realizada ()

3 EQUIPAMENTOS DE CONTENÇÃO

3.1 Listar EPIs existentes no laboratório:

- () Jaleco tecido
- () Jaleco descartável
- () Luvas de procedimento
- () Luvas para produtos químicos
- () Máscara descartável
- () Óculos de Proteção
- () Touca/gorro descartável
- () Propé descartável

3.2 Listar EPCs existentes no laboratório:

() Cabine de Segurança Biológica

Qual? _____

Está certificada? () Sim – Validade _____ () Não

() Autoclave

Localização: _____

() Capela química

() Chuveiro de emergência

Onde? _____

() Lava olhos

Onde? _____

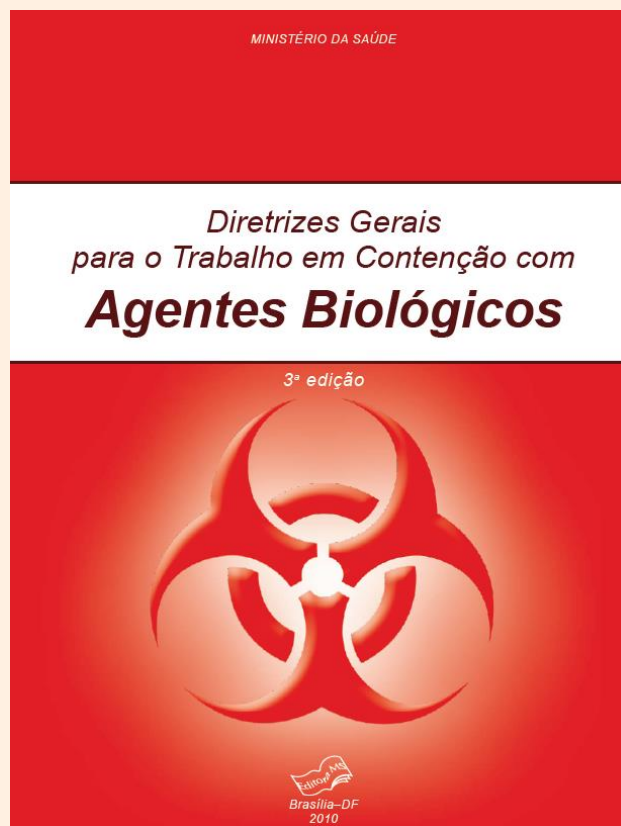
() Extintor de incêndio

Onde? _____

() Outros. Especificar: _____

Checklist

Brasil, 2010.



Cortina: _____
Portas: _____
Ralos: _____
Teto: _____
Divisórias: _____

4.11 Verificar a presença de alimentos em geladeiras, *freezers*, micro-ondas e estufas no laboratório:

() Sim () Não

4.12 Observações:

BIOSSEGURANÇA NO BRASIL

SENDO ESTRITO / LEGAL

...Regulada pela CTNBio*

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...



*Criada oficialmente em dez/95 (Decreto 1.752).

CTNBio – composição

CTNBio: colegiado Multidisciplinar

27 Membros (titulares e suplentes), sendo:

- 18 especialistas (áreas: Saúde Humana, Animal, Vegetal, Meio Ambiente, Agricultura familiar, Biotecnologia, Defesa do consumidor, Saúde do trabalhador)
- 09 Representantes de Ministérios (Ciência e Tecnologia; Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Saúde; Meio Ambiente; Desenvolvimento Agrário; Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior; Defesa; Aquicultura e Pesca; Relações exteriores)

Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005 (revoga a Lei nº 8.974 de 1995 - Lei Biossegurança)

- Estabelece *normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados;*

...define

Organismo geneticamente modificado - OGM: organismo cujo material genético – ADN/ARN tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética;

Derivado de OGM: produto obtido de OGM e que não possua capacidade autônoma de replicação ou que não contenha forma viável de OGM;

Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005 (revoga a Lei nº 8.974 de 1995 - Lei Biossegurança)

- Estabelece *normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados;*
- Cria o *Conselho Nacional de Biossegurança* – CNBS, órgão assessor superior do Presidente da República para a formulação e implementação da **Política Nacional de Biossegurança**.
- Reestrutura a **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio**, assessora do Governo Federal e vinculada ao MCT.
- Dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança .

A Lei de Biossegurança dispõe:

“ toda instituição que utilizar técnicas e métodos de engenharia genética deverá criar uma **Comissão Interna de Biossegurança – CIBio**, além de indicar um técnico principal responsável pelo projeto específico”.

A CIBio do IFSC foi Instituída em 1997.

Sistemas USP UOL Google Tradutor NCBI Submission P... Submissions : Subm... EIC - Espaço Interat... Cer

CIBio - IFSC

Comissão Interna de Biossegurança IFSC/USP

- Home
- Atribuições e Responsabilidades**
- Membros da CIBio-IFSC
- Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB)
- Submissão de projetos a CIBio-IFSC
- Treinamento em Biossegurança
- Legislação e Manuais
- Glossário
- Links Úteis
- Contato
- Relatório Anual

Atribuições da CIBio

- zelar internamente pelas normas que regem os trabalhos relacionados à manipulação, produção, transporte e descarte de OGMs;
- difundir essas normas no âmbito do IFSC;
- analisar e aprovar projetos sob responsabilidade de docentes/pesquisadores do IFSC que preveem a utilização de OGMs;
- encaminhar um relatório anual à CTNBio descrevendo as atividades desenvolvidas no IFSC que utilizam OGMs, indicando os responsáveis pelos mesmos.

Responsabilidades da CIBio, segunda Instrução Normativa no. 1 da CTNBio 6/9/1996 (Anexo II)

Responsabilidade da CIBio

CQB - Requisição e autorização de uso

- **Certificado de Qualidade em Biossegurança**
- Necessário às entidades nacionais, estrangeiras ou internacionais para desenvolverem atividades relativas a OGM e derivados, devendo ser requerido pelo proponente e emitido pela CTNBio (cf. art. 8º do decreto 1.752 de 20/12/1995).
- **Quem exige?** Agências financiadoras ou patrocinadoras de atividades ou de projetos que preveem o uso de OGMs.
- O CQB do IFSC permite o uso de [OGMs do Grupo I](#)
- Os pesquisadores do IFSC participantes em projetos com OGMs podem utilizar o CQB-IFSC somente após a análise prévia dos projetos submetidos à CIBio.

Relatório anual à CTNBio

- Roteiro padrão para elaboração do relatório no *site* da CIBio-IFSC
- Cada pesquisador que utiliza OGM e o CQB do IFSC é responsável pela elaboração do relatório.
- Entrega: anual, em 31/03 à CTNBio.
- Deve incluir:
 - Nome dos Genes (acesso no GenBank)
 - Organismo de origem
 - Vetores ou sistemas de expressão
 - Objetivos do projeto
 - Resultados relevantes
 - Relato de acidentes e medidas de proteção.



CIBio - IFSC

Comissão Interna de Biossegurança IFSC/USP

Home

Atribuições e Responsabilidades

Membros da CIBio-IFSC

Certificado de Qualidade em
Biossegurança (CQB)

Submissão de projetos a CIBio-
IFSC

Treinamento em Biossegurança
Legislação e Manuais

Glossário

Links Úteis

Contato

Relatório Anual

Membros da CIBio-IFSC

Profa. Dra. Ilana Lopes Baratella da Cunha Camargo - Presidente

Prof. Dr. Otavio Henrique Thiemann

Renata Krogh Andricopulo

Dermina Isabel de Moraes

Susana Andrea Sculaccio Beozzo

Composição do membros 2018-2020

<http://www.ifsc.usp.br/cibio/membros-cibio.php>

NÃO são atribuições da CIBio

- **Ética em pesquisa envolvendo seres humanos ou experimentação animal**
 - Comitê de Ética / humanos / IFSC não tem
 - Comissão de Ética no Uso de Animais / CEUA-IFSC
- **Ética ambiental** (produção de resíduos químicos e riscos ambientais)



Classes de Risco e NB de OGM

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA

RESOLUÇÃO NORMATIVA Nº 18, DE 23 DE MARÇO DE 2018

- **Republica** a Resolução Normativa nº 2, de 27 de novembro de 2006, que "Dispõe sobre a **classificação de riscos de Organismos Geneticamente Modificados** (OGM) e os níveis de biossegurança a serem aplicados nas atividades e projetos com OGM e seus derivados em contenção".

CAPÍTULO I

DISPOSIÇÕES GERAIS

Art. 1º A classificação de risco de OGM e os níveis de biossegurança a serem aplicados nas atividades e projetos em contenção com OGM e seus derivados, que envolvam a construção, o cultivo, a produção, a manipulação, o transporte, a transferência, o armazenamento, a pesquisa, o desenvolvimento tecnológico, o ensino, o controle de qualidade, o descarte, a importação e exportação, obedecerão ao disposto nesta Resolução Normativa.

Nomenclatura

- **Classe de risco de OGM à saúde humana e dos animais, ao meio ambiente e aos vegetais** – é o grau de risco associado ao organismo doador, ao organismo receptor, bem como ao OGM resultante;
- **Organismo doador** - organismo doador da sequência de ADN/ARN que será introduzida por engenharia genética no organismo receptor;
- **Organismo receptor** - organismo no qual será inserida a construção obtida por engenharia genética;
- **Nível de Biossegurança (NB)** - nível de contenção necessário para permitir as atividades e projetos com OGM de forma segura e com risco mínimo para o operador e para o meio ambiente;

Nomenclatura

- **Grande escala** - cultivo e/ou manipulação de OGM em contenção cujo volume de cultivo, no caso de microrganismos, seja superior a **100 litros** para **OGM** pertencente a Classe de **Risco 1**, e **10 litros** para **OGM** pertencente às Classes de **Risco 2, 3 e 4**. Para outros OGM e alguns casos específicos de microrganismos, quando justificados, a definição de grande escala será determinada caso a caso pela CTNBio;
- **Pequena escala** - cultivo e/ou manipulação de OGM em contenção cujo volume de cultivo, no caso de microrganismos, seja igual ou inferior a 100 litros para OGM pertencente a Classe de Risco 1, e igual ou inferior a 10 litros para OGM pertencente às Classes de Risco 2, 3 e 4. Para outros OGM, e alguns casos específicos de microrganismos, quando justificados, a definição de grande escala será determinada caso a caso pela CTNBio;

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA

RESOLUÇÃO NORMATIVA Nº 18, DE 23 DE MARÇO DE 2018

CAPÍTULO IV DA CLASSIFICAÇÃO DE RISCO

Art. 7º Os OGM serão classificados em **quatro Classes de Risco**, adotando-se como critérios o **potencial patogênico** dos organismos doador e receptor, a(s) **sequência(s) nucleotídica(s)** transferida(s), a expressão desta(s) no organismo receptor, o potencial patogênico da(s) proteína(s) codificadas pelo(s) gene(s) do organismo doador, quando conhecido, o OGM resultante e seus efeitos adversos à saúde humana e animal, aos vegetais e ao meio ambiente.

§ 1º 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.**

§ 2º Todo organismo geneticamente modificado deverá possuir um marcador capaz de identificá-lo dentre uma população da mesma espécie.

Art. 8º 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 sequências de ADN/ARN 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 sequências de ADN/ARN 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 sequências de ADN/ARN, 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 sequências de ADN/ARN 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.

Art. 8º As Classes de Risco dos OGM serão assim definidas:

§ 4º Para a classificação de risco, deve-se também considerar:

- a) a possibilidade de recombinação de sequências inseridas no OGM, levando à reconstituição completa e funcional de genomas de agentes infecciosos;
- b) outros processos que gerem um genoma infeccioso;
- c) genes que codifiquem substâncias tóxicas ao homem, aos animais, aos vegetais ou que causem efeitos adversos ao meio ambiente;
- d) genes de resistência a antibióticos de amplo uso clínico.

CAPÍTULO V DOS NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA

- Art. 10 São quatro os Níveis de Biossegurança: **NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4**, crescentes no maior grau de contenção e complexidade do nível de proteção, de acordo com a Classe de Risco do OGM.

No IFSC temos CQB para OGM da
Classe de Risco 1 ●● NB-1

I - NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA 1 – (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, casa de vegetação ou tanque de aquicultura;

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;

h) todo **resíduo** líquido ou sólido contaminado deve ser **descontaminado por autoclavagem** ou outro método comprovado de descontaminação que assegure a inviabilização da capacidade de replicação ou multiplicação do OGM antes de ser descartado, assim como todo material ou equipamento que tiver entrado em contato com o OGM;

n) 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, à exceção daquelas previstas no art. 18, III, desta Resolução Normativa;

r) todo material proveniente de OGM e seus derivados deverá ser descartado após descontaminação, 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 pela CTNBio;

Trabalhos de manipulação genética que envolvem o uso de animais

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

Instrução Normativa 12 CTNBIO
“Trabalho em regime de contenção com AnGM”

Instrução Normativa 15 CTNBIO
“Trabalho em regime de contenção com animais não geneticamente modificados com OGM”

Bibliografia

- BRASIL. Lei no 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB, revoga a Lei no 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória no 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5o, 6o, 7o, 8o, 9o, 10 e 16 da Lei no 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 28 de março de 2005. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/l11105.htm>.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com agentes biológicos** / Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. 3ª edição. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde. **Classificação de risco dos agentes biológicos** / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde. – 3. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 48 p.
- FIOCRUZ. **Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ**. Rio de Janeiro, 2005.
- HIRATA, M.H.; MANCINI FILHO, J.B. **Manual de biossegurança**. Barueri, SP: Manole, 2002. 495p.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Manual de segurança biológica em laboratório**. 3ª edição. 2004. Disponível em: <https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/BisLabManual3rdwebport.pdf>. Acesso em 23/11/2020.
- SANGIONI, L.A.; PEREIRA, D.I.B.; VOGUE, F.S.F.; BOTTON, S.A. Princípios de biossegurança aplicados aos laboratórios de ensino universitário de microbiologia e parasitologia. **Ciência Rural**, v.43, n.1, jan, 2013.

Sugestões de sites

- <http://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/StartBIS.htm>
- <https://absa.org/tools-resources/>
- <https://www.who.int/ihr/publications/biosafety-video-series/en/>
(vídeos da OMS sobre boas práticas em microbiologia, vale ver!)