

ARTIGO DE REVISÃO

BIOSSEGURANÇA: UMA REVISÃO

**P.M.M. Penna^{1*}, C.F. Aquino², D.D. Castanheira², I.V. Brandi³, A.S.R. Cangussu²,
E. Macedo Sobrinho², R.S. Sari², M.P. da Silva^{4**}, Â.S.M. Miguel⁵**

¹Universidade Estadual de Montes Claros, CP 126, CEP 39401-089, Montes Claros, MG, Brasil. E-mail: pmpenna@gmail.com

RESUMO

A biossegurança é o conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos que possam comprometer a saúde do homem e dos animais e o meio ambiente. Os primeiros debates sobre a biossegurança tiveram início na década de 1970, devido a preocupações com a segurança nos espaços laboratoriais e com as consequências que os constantes avanços tecnológicos na área de engenharia genética poderiam significar para o homem, bem como para os sistemas ecológicos. No Brasil, a regulamentação para atividades relacionadas a essas áreas teve início em 1995, com a criação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Suas funções são fiscalizar a manipulação de organismos geneticamente modificados (OGM) e certificar a segurança dos espaços laboratoriais. Este trabalho tem como finalidade disseminar os conceitos de biossegurança e proporcionar informações que auxiliarão na segurança do homem e do meio ambiente em aspectos relacionados às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços.

PALAVRAS-CHAVE: Riscos, meio ambiente, OGMs.

ABSTRACT

BIOSAFETY: A REVIEW. Biosafety is a set of actions directed to the prevention, minimization or elimination of risks that could jeopardize the human's and animal's health and of the environment. The first debates about biosafety were held in the early 1970's due to the outbreak of transmissible diseases and to the concern to the safety in laboratory arenas. In Brazil, the regulations to activities related to these areas began in 1995 with the formation of the National Technical Biosafety whose functions are the inspection of the manipulated Genetically Modified Organisms (GMO) and of the laboratory arena safety. This review describes the biosafety concepts and their applicability known in order to improve the human safety as well as the environment in related issues to the research activities, production, teaching, technological development and given service.

KEY WORDS: Risks, environment, Genetically Modified Organisms.

INTRODUÇÃO

Biossegurança é o conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação dos riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços. Estes riscos podem comprometer a saúde do homem e animais, o meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos (TEIXEIRA; VALLE, 1996). Há ainda outros conceitos para a biossegurança, como

o que está relacionado à prevenção de acidentes em ambientes ocupacionais, incluindo o conjunto de medidas técnicas, administrativas, educacionais, médicas e psicológicas (COSTA, 1996). O tema abrange ainda a segurança no uso de técnicas de engenharia genética e as possibilidades de controles capazes de definir segurança e risco para o ambiente e para a saúde humana, associados à liberação no ambiente dos organismos geneticamente modificados (OGMs) (ALBUQUERQUE, 2001).

²Vallée S.A. Montes Claros, MG, Brasil.

³Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, Brasil.

⁴Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.

⁵Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Montes.

**Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa.

A biossegurança envolve a análise dos riscos a que os profissionais de saúde e de laboratórios estão constantemente expostos em suas atividades e ambientes de trabalho. A avaliação de tais riscos engloba vários aspectos, sejam relacionados aos procedimentos adotados, as chamadas boas práticas em laboratório (BPLs), aos agentes biológicos manipulados, à infraestrutura dos laboratórios ou informacionais, como a qualificação das equipes (BRASIL, 2006b).

O corrente interesse em biossegurança é manifestado no crescente número de regulamentações nacionais e internacionais para controle dos procedimentos de biotecnologia. A biossegurança tem várias normas que preconizam a diminuição da exposição de trabalhadores a riscos e a prevenção de contaminação ambiental (HAMBLETON *et al.*, 1992). As novas tecnologias de biossegurança e guias associados têm melhorado significativamente a segurança em ambientes laboratoriais, principalmente no que diz respeito ao manuseio de materiais microbiológicos. Os guias de biossegurança são uma combinação de controle de engenharia, políticas de gerenciamento, práticas e procedimentos de trabalho, tanto quanto intervenções médicas (COICO; LUNN, 2005). Cabe salientar que os princípios, guias e recomendações são basicamente os mesmos para patógenos naturais e geneticamente modificados (KIMMAN *et al.*, 2008).

Segundo SANT'ANA (1996), a experiência internacional e certos princípios de regulamentação aceitos em outros países são uma referência para a definição de regras no Brasil, propiciando a adoção de novos procedimentos de avaliação e gerenciamento de riscos ligados às biotecnologias avançadas. As conclusões dos primeiros trabalhos internacionais merecem atenção, principalmente por já reconhecerem a visão de que o risco da aplicação das novas tecnologias está relacionado às características dos produtos em questão e não ao uso da modificação genética por si só.

Apesar das medidas de contenção e guias, infecções de laboratório usualmente envolvendo organismos não geneticamente modificados ocorrem comumente, sugerindo que as regras de biossegurança nem sempre são eficientes ou aplicadas corretamente. Há necessidade, portanto, de um maior número de trabalhos informativos acerca do tema (KIMMAN *et al.*, 2008). Este trabalho tem como finalidade disseminar os conceitos de biossegurança, suas regras e sua aplicabilidade, de forma clara e objetiva, de modo a contribuir para o aumento das práticas preventivas relacionadas aos riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços.

REVISÃO DA LITERATURA

Histórico

O conceito de biossegurança começou a ser mais fortemente construído no início da década de 1970, após o surgimento da engenharia genética. O procedimento pioneiro utilizando técnicas de engenharia genética foi a transferência e expressão do gene da insulina para a bactéria *Escherichia coli*. Essa primeira experiência, em 1973, provocou forte reação da comunidade mundial de ciência, culminando com a Conferência de Asilomar, na Califórnia em 1974. Nesta conferência foram tratadas questões acerca dos riscos das técnicas de engenharia genética e sobre a segurança dos espaços laboratoriais (ALBUQUERQUE, 2001; BORÉM, 2001). Foi sugerido também que a contenção deveria ser uma consideração essencial no programa experimental e que a eficiência da contenção deveria estar ligada ao risco estimado (KIMMAN *et al.*, 2008). Do ponto de vista prático, foi a partir da Conferência de Asilomar que se originaram as normas de biossegurança do National Institute of Health (NIH), dos EUA. Seu mérito, portanto, foi o de alertar a comunidade científica, principalmente quanto às questões de biossegurança inerentes à tecnologia de DNA recombinante. A partir de então, a maioria dos países centrais viu-se diante da necessidade de estabelecer legislações e regulamentações para as atividades que envolvessem a engenharia genética (ALMEIDA; VALLE, 1999).

Na década de 1980 a Organização Mundial de Saúde conceituou a biossegurança como práticas de prevenção para o trabalho em laboratório com agentes patogênicos, e, além disto, classificou os riscos como biológicos, químicos, físicos, radioativos e ergonômicos. Na década seguinte, observou-se a inclusão de temas como ética em pesquisa, meio ambiente, animais e processos envolvendo tecnologia de DNA recombinante em programas de biossegurança (COSTA; COSTA, 2002).

No Brasil, desde a instituição das escolas médicas e da ciência experimental, no século XIX, vêm sendo elaboradas noções sobre os benefícios e riscos inerentes à realização do trabalho científico, em especial nos ambientes laboratoriais (ALMEIDA; ALBUQUERQUE, 2000). No entanto, a biossegurança no país só se estruturou, como área específica, nas décadas de 1970 e 1980, em decorrência do grande número de relatos de graves infecções ocorridas em laboratórios, e também de uma maior preocupação em relação às consequências que a manipulação experimental de animais, plantas e micro-organismos poderia trazer ao homem e ao meio ambiente (SHATZMAYR, 2001).

Com os constantes avanços tecnológicos na área de engenharia genética e OGMs houve a necessidade de uma regulamentação para atividades relaciona-

das a essas áreas. Em 1995 foi criada a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) para estabelecer normas às atividades que envolvam construção, cultivo, manipulação, uso, transporte, armazenamento, comercialização, consumo, liberação e descarte relacionados a OGMs em todo o território brasileiro (SCHOLZE, 1999). Tais normas, além de tratarem da minimização dos riscos em relação aos OGMs (BRASIL, 1995), envolvem os organismos não geneticamente modificados e suas relações com a promoção de saúde no ambiente de trabalho, no meio ambiente e na comunidade (GARCIA; ZANETTI-RAMOS, 2004). Operacionalmente vinculada ao Ministério da Ciência e Tecnologia, a CTNBio é composta por membros titulares e suplentes, das áreas humana, animal, vegetal e ambiental (SCHOLZE, 1999).

Para educar e promover a consciência em biossegurança, membros selecionados da CTNBio visitam instituições públicas e privadas uma ou duas vezes ao ano. Durante essas visitas, os membros apresentam seminários e discutem, com a equipe técnica das instituições, artigos atuais em biossegurança, problemas relacionados à aplicação de guias e outros assuntos relevantes (FONTES, 2003).

Em 19 de fevereiro de 2002 foi criada a Comissão de Biossegurança em Saúde (CBS) no âmbito do Ministério da Saúde. A CBS trabalha com o objetivo de definir estratégias de atuação, avaliação e acompanhamento das ações de biossegurança, procurando sempre o melhor entendimento entre o Ministério da Saúde e as instituições que lidam com o tema (BRASIL, 2006b).

Manipulação de agentes biológicos

A partir dos anos 1980 o número de guias e regulações que afeta a segurança para operação em laboratórios clínicos, de pesquisa e industriais, nos quais agentes infecciosos são manipulados, aumentou dramaticamente. Esses guias e regulações afetam todos os aspectos da operação do laboratório, como a licença para se trabalhar com diversos agentes infectantes, descarte do lixo contaminado e também a prevenção contra a exposição dos manipuladores aos patógenos. A prevenção contra infecções em laboratórios e unidades de saúde deve ser feita de modo a garantir que os riscos ocupacionais e as consequências de uma infecção sejam compreendidos por todos os envolvidos (SEWELL, 1995).

Segundo WAISSMAN; CASTRO (1996), os agentes biológicos apresentam um risco real ou potencial para o homem e para o meio ambiente, por esta razão, é fundamental montar uma estrutura laboratorial que se adapte à prevenção de tais riscos.

As manipulações de agentes microbianos muitas vezes patogênicos pelos trabalhadores de laboratório fazem da natureza do seu trabalho um perigo ocupacional. Uma melhor compreensão dos riscos as-

sociados a manipulações desses agentes que podem ser transmitidos por diversas rotas tem facilitado a aplicação de práticas de biossegurança apropriadas (COICO; LUNN, 2005).

As infecções mais comumente adquiridas pelos profissionais em laboratório são provenientes de agentes bacterianos, no entanto, agentes patogênicos pertencentes a todas as categorias de micro-organismos também podem causar infecções (COICO; LUNN, 2005).

Para minimizar os riscos inerentes à manipulação dos agentes microbiológicos é importante conhecer as suas características peculiares, dentre as quais se destacam o grau de patogenicidade, o poder de invasão, a resistência a processos de esterilização, a virulência e a capacidade mutagênica (TEIXEIRA; VALLE, 1996).

Os agentes biológicos que afetam o homem, os animais e as plantas foram classificados pelo Ministério da Saúde por meio da Comissão de Biossegurança em Saúde (CBS). Os critérios de classificação têm como base diversos aspectos, tais como: virulência, modo de transmissão, estabilidade do agente, concentração e volume, origem do material potencialmente infeccioso, disponibilidade de medidas profiláticas eficazes, disponibilidade de tratamento eficaz, dose infectante, tipo de ensaio e fatores referentes ao trabalhador. Os agentes biológicos foram classificados em classes de 1 a 4, incluindo também a classe de risco especial (BRASIL, 2006a).

Classe de risco 1

Agentes biológicos que oferecem baixo risco individual e para a coletividade, descritos na literatura como não patogênicos para as pessoas ou animais adultos saudáveis. Exemplos: *Lactobacillus* sp., *Bacillus* (BRASIL, 2006a).

Classe de risco 2

Agentes biológicos que oferecem moderado risco individual e limitado risco para a comunidade, que provocam infecções no homem ou nos animais, cujo potencial de propagação na comunidade e de disseminação no meio ambiente seja limitado, e para os quais existem medidas terapêuticas e profiláticas eficazes (BRASIL, 2006a). Alguns exemplos estão descritos na Tabela 1.

Classe de risco 3

Agentes biológicos que oferecem alto risco individual e moderado risco para a comunidade, que possuem capacidade de transmissão por via respiratória e que causam patologias humanas ou animais, potencialmente letais, para as quais existem usualmente medidas de tratamento e/ou de prevenção. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de pessoa a pessoa (BRASIL, 2006a). Alguns exemplos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Micro-organismos e suas respectivas classes de risco.

Classe de risco	Bactérias	Parasitas	Fungos	Vírus
1	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Actinomyadura madurae</i> ; <i>Bartonella bacilliformis</i> ; <i>B. henselae</i> ; <i>B. quintana</i> ; <i>B. vinsonii</i> ; <i>Campylobacter</i> sp.; <i>Chlamydia pneumoniae</i> ; <i>C. trachomatis</i> ; <i>Enterobacter aerogenes</i> ; <i>E. cloacae</i> ; <i>Helicobacter pylori</i> ; <i>Leptospira</i> ; <i>Mycobacterium</i> sp.; <i>Mycoplasma caviae</i> ; <i>M. hominis</i> ; <i>M. pneumoniae</i> ; <i>Salmonella</i> sp.; <i>Shigella</i> sp.; <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Streptococcus</i> sp.	<i>Acanthamoeba castellanii</i> ; <i>Ancylostoma</i> (humano e animal); <i>A. duodenale</i> ; <i>Ascaris</i> sp.; <i>A. suum</i> ; <i>Cryptosporidium</i> sp.; <i>Echinococcus</i> sp.; <i>Enterobius</i> sp.; <i>Giardia</i> sp.; <i>Leishmania</i> sp.; <i>Shistosoma</i> sp.; <i>Strongyloides</i> sp.; <i>Taenia saginata</i> e <i>solium</i> ; <i>Toxoplasma</i> sp.; <i>Trichuris trichiura</i> ; <i>Trypanosoma</i> sp.; <i>Wuchereria bancrofti</i> .	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>A. fumigatus</i> ; <i>Blasotryces dermatitidis</i> ; <i>Candida albicans</i> ; <i>C. tropicalis</i> ; <i>Penicillium marneffei</i> ; <i>Aphanascus fulvescens</i> ; <i>Cladosporium cladosporioides</i> .	<i>Adenovirus</i> humanos, caninos e de aves; Dengue tipos 1, 2, 3 e 4; Febre Amarela vacinal; <i>Hantavirus</i> ; <i>Hepatitis</i> ; <i>Herpesvirus</i> ; <i>Papilloma-virus</i> ; <i>Parovirus</i> ; <i>Adenovirus</i> 1 aviário; <i>Adenovirus</i> 7; <i>Simian virus</i> 40; <i>Polyoma</i> vírus; Vírus do Sarcoma Murino e Felino.
2	<i>Bacillus anthracis</i> ; <i>Bartonella</i> , exceto os listados na classe de risco 2; <i>Brucella</i> sp.; <i>Chlamydia psittaci</i> (cepas aviárias); <i>Clostridium botulinum</i> ; <i>Escherichia coli</i> , cepas verotoxigênicas como 0157:H7 ou O103; <i>Francisella tularensis</i> (tipo A); <i>Mycobacterium bovis</i> , exceto a cepa BCG; <i>M. tuberculosis</i> ; <i>Pasteurella multocida</i> tipo B, amostra buffalo e outras cepas virulentas; <i>Rickettsia akari</i> ; <i>R. rickettsii</i> .	<i>Coccidiodios immitis</i> , culturas esporuladas; <i>Histoplasma capsulatum</i> , todos os tipos, inclusive a variedade <i>duboisii</i> e variedade <i>capsulatum</i> .		Febre Amarela não vacinal; príons - incluindo agentes de encefalopatias espongiformes transmis-síveis; encefalopatia espongiforme bovina (BSE), <i>Retrovirus</i> , incluindo os vírus da imunodeficiência humana (HIV-1 e HIV-2), vírus linfotrópico da célula T humana (HTLV-1 e HTLV-2) e vírus da imunodeficiência de símios (SIV); <i>Lyssavirus</i> .
3	<i>Cowdria ruminantium</i>	<i>Theileria annulata</i> ; <i>T. bovis</i> ; <i>T. hirci</i> ; <i>T. parva</i> e agentes relacionados		<i>Arenavirus</i> agentes de febres hemorrágicas (Guanarito, Junin, Machupo e Sabiá); encefalites transmitidas por carrapatos; <i>Filovirus</i> (vírus Marburg, Ebola e outros relacionados); <i>Herpesvirus</i> do macaco (vírus B); vírus da febre catarral maligna de bovinos e cervos; vírus da doença hemorrágica de coelhos.
4				

Fonte: BRASIL (2006b).

Classe de risco 4

Agentes biológicos que oferecem alto risco individual e para a comunidade, com grande poder de transmissibilidade por via respiratória ou de transmissão desconhecida. Nem sempre está disponível um tratamento eficaz ou medidas de prevenção contra esses agentes. Causam doenças humanas e animais de alta gravidade, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no meio ambiente. Esta classe inclui principalmente os vírus (BRASIL, 2006a). Alguns exemplos estão descritos na Tabela 1.

Classe de risco especial

Agentes biológicos que oferecem alto risco de causar doença animal grave e de disseminação no meio ambiente de doença animal não existente no país e que, embora não sejam obrigatoriamente patógenos de importância para o homem, podem gerar graves perdas econômicas e/ou na produção de alimentos. Alguns exemplos: Vírus da cólera suína, Vírus da doença de Borná, Vírus da doença de New Castle (amostras asiáticas), Vírus da doença de Teschen, Vírus da doença de Wesselbron, Vírus da influenza A aviária (amostras de epizootias), Vírus da peste aviária, Vírus da peste bovina (BRASIL, 2006a).

Medidas de contenção e níveis de biossegurança dos laboratórios

É necessário que todo laboratório forneça barreiras de contenção e um programa de segurança cujo objetivo seja a proteção dos profissionais de laboratório e outros que atuem na área, bem como a

proteção do meio ambiente, eficiência das operações laboratoriais e garantia do controle de qualidade do trabalho executado (SILVA, 1996).

Além das técnicas microbiológicas de segurança, as barreiras primárias (equipamentos de segurança e equipamentos de proteção individual e coletiva) e barreiras secundárias (facilidades de salvaguardas) são agora consideradas como elementos vitais de medidas de contenção (KIMMAN *et al.*, 2008).

Os equipamentos de proteção individual, conhecidos como EPIS (Tabela 2), são utilizados para minimizar a exposição aos riscos ocupacionais e evitar possíveis acidentes no laboratório. Os equipamentos de proteção coletiva (EPCs) são utilizados com a finalidade de minimizar a exposição dos trabalhadores aos riscos e, em casos de acidentes, reduzir suas consequências. Exemplos: lava-olhos, chuveiro, extintor e cabines de proteção biológica (TEIXEIRA; VALLE, 1996).

As barreiras secundárias dizem respeito à construção do laboratório, localização e instalações físicas. As instalações físicas são importantes para proporcionar uma barreira de proteção para pessoas dentro e principalmente fora do laboratório, bem como para o meio ambiente. Os tipos de barreiras secundárias dependerão do risco de transmissão dos agentes específicos manipulados no laboratório. São alguns exemplos de barreiras secundárias: a localização distante do acesso público, a presença de sistemas de ventilação especializados em assegurar o fluxo de ar unidirecionado, sistemas de tratamento de ar para a descontaminação ou remoção do ar liberado e câmaras pressurizadas como entradas de laboratório (BRASIL, 2006c).

Tabela 2 - Equipamentos de proteção individual, risco evitado e características de proteção.

Equipamento	Risco evitado	Características de proteção
Jalecos e aventais de pano	Contaminação do vestuário	- Cobrem o vestuário pessoal
Aventais plásticos	Contaminação do vestuário	- Impermeáveis
Calçado	Impactos e salpicos	- Fechados à frente
Óculos de proteção	Impactos e salpicos	- Lentes resistentes a impactos.
		- Proteções laterais
Óculos de segurança	Impactos	- Lentes resistentes a impactos
		- Proteções laterais
Viseira de proteção facial	Impactos e salpicos	- Proteção total da face
		- Fácil de tirar em caso de acidente
		- Há diversos modelos: descartável, completa ou meia máscara purificadora de ar, de capuz com ar filtrado à pressão e com abastecimento de ar
Aparelhos e máscaras de respiração	Inalação de aerossóis	
		- Em látex, vinilo ou nitrilo microbiologicamente aprovados, descartáveis
Luvas	Contato direto com micro-organismos e cortes	- Malha de aço

Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION (2004).

Estudos sobre infecções adquiridas em laboratório concluíram que a rota primária de transmissão dos agentes causadores foi por aerossol (KIMMAN *et al.*, 2008). Aerossóis são partículas ultrapequenas de líquido ou soluções dispersas em gás que podem conter agentes infectantes, apresentando riscos se inaladas, ingeridas e/ou entrarem em contato com pele e mucosas. Numerosos procedimentos de laboratório podem gerar os aerossóis, como a pipetagem realizada com rapidez, a abertura brusca de culturas liofilizadas, a centrifugação de tubos mal vedados, a variação abrupta de pressão ou temperatura de uma solução, dentre outros (UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA, 2001). Com a finalidade de minimizar os riscos relacionados aos aerossóis, foi desenvolvido o aparelho de fluxo laminar (KIMMAN *et al.*, 2008). O fluxo laminar, ou cabine de segurança biológica (CSB), é o dispositivo principal utilizado para proporcionar a contenção de borrifos e aerossóis infecciosos provocados por inúmeros procedimentos microbiológicos (BRASIL, 2006c). Os equipamentos utilizados em laboratório podem oferecer diversos tipos de proteção aos usuários e ao meio ambiente (TEIXEIRA; VALLE, 1996), conforme a Tabela 3.

Os laboratórios são divididos respeitando os níveis de biossegurança (NB) em que se enquadram, denominados NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4. Tais níveis estão relacionados aos requisitos crescentes de segurança para o manuseio dos agentes biológicos, terminando no maior grau de contenção e de complexidade do nível de proteção. O NB exigido para um ensaio será determinado pelo agente biológico de maior classe de risco envolvido no ensaio.

As classificações são as seguintes (BRASIL, 2006a)

Nível de Biossegurança 1 (NB-1)

É o nível necessário ao trabalho que envolva agentes biológicos da classe de risco 1. Representa um nível básico de contenção, que se fundamenta na aplicação das BPLs, na utilização de equipamentos de proteção e na adequação das instalações. O trabalho é conduzido, em geral, em bancada.

Nível de Biossegurança 2 (NB-2)

É o nível exigido para o trabalho com agentes biológicos da classe de risco 2. O acesso ao laboratório deve ser restrito a profissionais da área, mediante autorização do profissional responsável.

Nível de Biossegurança 3 (NB-3)

Este nível é aplicável aos locais onde forem desenvolvidos trabalhos com agentes biológicos da classe de risco 3.

Nível de Biossegurança 4 (NB-4)

Este nível é necessário a trabalhos que envolvam agentes biológicos da classe de risco 4 e agentes biológicos especiais. Nesse tipo de laboratório o acesso dos profissionais deve ser controlado por sistema de segurança rigoroso.

Na Tabela 4 observa-se um resumo dos requisitos básicos exigidos em cada nível de biossegurança laboratorial, incluindo estrutura, equipamentos e práticas.

Tabela 3 - Tipos de equipamentos de contenção e suas aplicações.

Tipo	Aplicação
Caixas de animais	Contenção de aerossol parcial ou total, providencia proteção de contaminação cruzada e do meio ambiente
Autoclaves	Esterilização por calor úmido
Cabine de proteção biológica	
- classe I	Proteção para o operador e o ambiente. Não há proteção para o experimento.
- classe II	Proteção do operador, do meio ambiente e do experimento ou produto.
- classe III	Máxima proteção ao pessoal, meio ambiente e produto.
Misturadores	Alguns tipos dão proteção contra aerossóis
Centrífuga	Recipientes selados dão contenção de aerossóis
Exaustor de gás	Proteção pessoal e meio ambiental
Filtros HEPA	99,975 de remoção das partículas de no mínimo 0,3 µm
Microincinerador	Elétrico ou a gás com braço lateral para conter respingos dos circuitos
Containers	Autoclaváveis, com tampas de encaixe que podem transportar materiais infectantes para a autoclave
Aparelhos de pipetagem	Eliminam a necessidade de pipetar com a boca
Indicadores de esterilidade	Usados para determinar a eficácia da esterilização por calor

Fonte: LABORATORY BIOSAFETY GUIDELINES (1996); BRASIL, 2004.

Tabela 4 - Requisitos para os diversos níveis de segurança biológica.

Atributo	Níveis de segurança biológica			
	1	2	3	4
Isolamento do laboratório	N	N	S	S
Sala selada para descontaminação	N	N	S	S
Ventilação:				
- Adução do ar	N	D	S	S
- Sistema de ventilação controlada	N	D	S	S
- Exaustor com filtro HEPA	N	N	S	S
Entrada com porta dupla	N	N	S	S
Sistema de portas com tranca	N	S	S	S
Câmara de vácuo	N	N	S	S
Câmara de vácuo com ducha	N	N	N	S
Antecâmara	N	N	S	-
Antecâmara com ducha	N	N	S	N
Tratamento dos efluentes	N	N	S	S
Autoclave:				
- <i>in loco</i>	N	D	S	S
- numa sala do laboratório	N	N	D	S
- de duas portas	N	N	D	S
Câmaras de segurança biológica				
- classe I	D	D	N	N
- classe II	N	D	S	S
- classe III	N	N	D	S
Circuito interno de imagem	N	N	D	S
Registro em autoridades sanitárias nacionais	N	N	S	S
Roupas de proteção com pressão positiva e ventilação	N	N	N	S
Uso EPI's	S	S	S	S
Realização das BPL's	S	S	S	S
Incineração dos resíduos após esterilização	N	N	N	S

N- Abstenção de necessidade; S- Uso obrigatório; D- Uso desejável. Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION (2004).

Boas práticas de laboratório

O maior problema relacionado aos riscos em laboratório não está nas tecnologias disponíveis para eliminar ou minimizar tais riscos e sim no comportamento dos profissionais. É indispensável relacionar o risco de acidentes às boas práticas cotidianas dentro de um laboratório. Não basta haver sistemas modernos de esterilização do ar ou câmaras de desinfecção das roupas de segurança, por exemplo, se o profissional não lavar suas mãos com a frequência adequada ou o lixo for descartado de maneira errada (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2005).

As Boas Práticas de Laboratório (BPLs) tratam da organização, do processo e das condições sob as quais estudos de laboratório são planejados, executados, monitorados, registrados e relatados. As BPLs têm como finalidade avaliar o potencial de riscos e toxicidade de produtos objetivando a proteção da saúde humana, animal e do meio ambiente. Outro objetivo das BPLs é promover a qualidade e validação dos resultados de pesquisa através de um sistema de qualidade aplicado a laboratórios que desenvolvem estudos e pesquisas que necessitam

da concessão de registros para comercialização de seus produtos e monitoramento do meio ambiente e da saúde humana (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2008).

Fazem parte de algumas das BPLs as seguintes considerações, de acordo com SALGADO-SANTOS (2001) (Tabela 5).

Com relação às matérias-primas, padrões, reagentes e demais insumos, estes devem ser devidamente armazenados, avaliando-se o grau de risco, compatibilidades, incompatibilidades (Tabela 6), bem como as condições ideais de luz, umidade e temperatura de armazenamento (SALGADO-SANTOS, 2001).

Biossegurança e OGMs

Os OGMs foram desenvolvidos a partir do avanço da engenharia genética, através da técnica de DNA recombinante. Esta técnica possibilita o isolamento de um gene de um dado organismo e sua transferência para outro organismo, transpondo barreiras de cruzamento entre as diversas espécies de organismos. O resultado é um indivíduo semelhante ao utilizado para receber a molécula de DNA recombinante,

porém acrescido de uma nova característica genética, proveniente de outro, que não é da mesma espécie. Esse indivíduo é chamado transgênico (AZEVEDO *et al.*, 2000). A criação de OGMs deu origem a discussões científicas, éticas, econômicas e políticas (NODARI; GUERRA, 2003).

A técnica de transgenia pode contribuir de forma significativa para o melhoramento genético de plantas, visando à produção de alimentos, fármacos e outros produtos industriais. No entanto, o cultivo de plantas transgênicas e seu consumo requerem análises de risco (NODARI; GUERRA, 2003).

Tabela 5 - Boas Práticas de Laboratório relacionadas aos equipamentos, profissionais envolvidos, material e ambiente.

Equipamentos	Profissionais envolvidos
<ul style="list-style-type: none"> - Geladeiras do laboratório devem ser usadas apenas para armazenar amostras, soluções e reagentes, nunca para alimentos; - Uso de EPIs como luvas, jaleco, calçado fechado, óculos, máscara, touca, entre outros, adequados a cada procedimento; - Equipamentos devem ser configurados regularmente e estar em locais apropriados. 	<ul style="list-style-type: none"> - É proibido o preparo e o consumo de alimentos no ambiente laboratorial; - Profissionais não devem usar maquiagem; - Pipetar com a boca é imperiosamente proibido; - Profissionais devem ter atenção especial à lavagem das mãos, cuidados com unhas, cabelos, barba e roupas, a fim de evitar contaminações cruzadas; - Devem ser utilizadas roupas adequadas às substâncias manuseadas no laboratório; - Mãos enluvadas não devem tocar áreas limpas, tais como teclados, telefones e maçanetas; - Acidentes ocorridos devem ser documentados e avaliados para correções e prevenções; - Os trabalhadores devem ser devidamente treinados e informados.
Material	Ambiente
<ul style="list-style-type: none"> - Os frascos devem conter rótulos com as informações principais do seu conteúdo; - O descarte do material perfurocortante deve ser realizado em recipiente de paredes rígidas, com tampa e devidamente identificado; - No descarte, as agulhas usadas não devem ser dobradas, quebradas, reutilizadas, recapeadas, removidas das seringas ou manipuladas antes de desprezadas. Seu descarte deve ser feito em recipiente adequado a material perfurocortante. 	<ul style="list-style-type: none"> - Visitas ao ambiente laboratorial devem ser reduzidas e é desaconselhável a presença de crianças; - Não é recomendado que haja plantas no interior do laboratório; - Os procedimentos de limpeza dos laboratórios devem ser os mais rigorosos possíveis, sendo realizadas técnicas de desinfecção; - O descarte de resíduos deve ser feito de maneira que não comprometa a saúde dos profissionais e do meio ambiente; - O ambiente deve ser devidamente sinalizado de forma clara e objetiva; - A bancada de trabalho deve ser descontaminada ao final de cada turno de trabalho e sempre que ocorrer derramamento de agente biológico; - Deve ser mantida uma rotina de controle de artrópodes e roedores.

Fonte: SALGADO-SANTOS (2001).

Tabela 6 - Regras gerais sobre incompatibilidades químicas.

Categoria	Incompatibilidade
Metais alcalinos como sódio, potássio, célio e lítio Halogêneos	Dióxido de carbono, hidrocarbonetos clorados, água Amoníaco, acetileno, hidrocarbonetos
Ácido acético, sulfito de hidrogênio, anilina, hidrocarbonetos, ácido sulfúrico	Agentes oxidantes como ácido crômico, ácido nítrico, peróxido, permanganatos

Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION (2004).

O principal aspecto considerado na avaliação dos riscos dos transgênicos são os possíveis efeitos, sobre outros organismos, da característica introduzida no OGM, principalmente quando a característica está relacionada com a produção de uma nova proteína como, por exemplo, a proteína Bt em algumas espécies. Esta proteína já é usada no controle biológico por ser nociva às pragas de lavouras e tem sido induzida a sua produção em cultivares de milho, o chamado milho Bt. A preocupação em relação à produção desta proteína por espécies transgênicas é em relação ao prejuízo aos insetos não-alvos, quando em contato com estas variedades por tempo prolongado. Os principais benefícios obtidos com o uso de transgênicos na agricultura são o aumento da produtividade e da qualidade nutricional, além da redução dos custos de produção. Os riscos são relacionados ao aumento da capacidade invasora das plantas daninhas, aos efeitos nocivos sobre insetos não-alvo e à segurança alimentar. Acredita-se, no entanto, que no balanço risco-benefício os riscos sejam controláveis e os benefícios sejam maiores (BORÉM, 2001).

Um exemplo importante de ameaça relacionada aos OGMs decorre de sua liberação no meio ambiente e a possível transferência do novo gene inserido, chamado transgene, e sua expressão em outras espécies. A adição de um novo genótipo numa comunidade de plantas pode proporcionar vários efeitos indesejáveis, como o deslocamento ou eliminação de espécies não domesticadas, a exposição de espécies a novos patógenos ou agentes tóxicos, a erosão da diversidade genética e a interrupção da reciclagem de nutrientes e energia (NODARI; GUERRA, 1999).

A ameaça à espécie humana está relacionada ao consumo de alimentos oriundos de plantas transgênicas. As consequências podem ir desde manifestações de hipersensibilidade alérgica a reações metabólicas anormais. Um exemplo específico de risco é o fato de a maioria das plantas transgênicas de primeira geração conter genes de resistência a antibióticos. Pode ocorrer de tais genes serem transferidos para bactérias humanas, que poderão adquirir a característica de resistência ao antibiótico (NODARI; GUERRA, 1999).

No Brasil, OGM é considerado por lei o organismo cujo material genético tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética. Esta última é definida como atividade de manipulação de moléculas de RNA e DNA recombinantes. Segundo o anexo I da Lei 8.974 (BRASIL, 1995), os OGMs são classificados em Grupo I e Grupo II, sendo determinadas as seguintes características para cada grupo:

Grupo I

- Receptor ou parental: não patogênico, não apresenta agentes adventícios, histórico de utilização segura, sobrevivência e multiplicação limitadas, sem efeitos negativos para o meio ambiente.

- Vetor/inserto: deve ser caracterizado quanto a todos os aspectos, sendo principais os aspectos que representem riscos ao homem e ao meio ambiente. Deve ser desprovido de sequências genéticas nocivas, ter tamanho limitado, não deve incrementar a estabilidade do organismo modificado no meio ambiente, deve ser pouco mobilizável, não deve transmitir nenhum marcador de resistência a organismos.

- Micro-organismo Geneticamente Modificado: não deve ser patogênico, deve oferecer a mesma segurança que o organismo receptor ou parental, pode ser composto por sequências genéticas de diferentes espécies que troquem tais sequências mediante processos fisiológicos conhecidos.

Grupo II

Fazem parte deste grupo os OGMs resultantes de organismo receptor ou parental classificado como patogênico para o homem e animais, como agentes incluídos nas classes de risco 2, 3, 4 ou classe de risco especial.

De acordo com a Instrução Normativa nº 1 da CT-NBio, toda entidade que utilizar técnicas e métodos de engenharia genética deverá criar uma Comissão Interna de Biossegurança (CIBio), com as atribuições de promoção de programas de educação, criação de programas de prevenção e inspeções, registro e notificação de projetos, investigação de acidentes e tudo o que se diz respeito ao cumprimento da regulamentação de biossegurança (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA, 2006).

Atualmente, no Brasil, 292 instituições ligadas às áreas de pesquisa humana e animal possuem o certificado de qualidade em biossegurança (CQB), sendo credenciadas a trabalhar com produtos transgênicos; isto representa uma rede de competências consolidada na área de Biotecnologia de OGM's. Os produtos ou espécies agrícolas objetos de pesquisa transgênica no país são: milho, soja, algodão, fumo, batata, feijão, eucalipto, mamão, estilosante, braquiária, cana-de-açúcar, alface, cenoura, trevo, jurubeba roxa, milheto, pimentão, citros, maracujá, crisântemo, tomate, berinjela, alfavaca, alho, abóboras, entre outros (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA COMISSÃO, 2002; 2009).

Para que haja a liberação no ambiente de um OGM é necessário que se cumpram as exigências preconizadas pela CTNBio. O questionário técnico a ser respondido é composto por questões acerca do tipo de OGM a ser liberado. Entre as questões pode-se citar: a origem do DNA inserido e habitat e ecologia do organismo. São exigidas também informações sobre o mapa genético da construção, caracterização da modificação genética, dados sobre estabilidade do organismo e mecanismos de fluxo gênico (MONQUERO, 2005). A CTNBio exige ainda informações sobre plantas, micro-organismos que vivem associados a

este OGM, micro-organismos utilizados como vacina de uso veterinário, micro-organismos que modificam propriedades do solo, entre outras. Somente após a análise dessas informações e dados técnicos pela CTNBio é que o OGM poderá ou não ser liberado no ambiente (BRASIL, 2000).

CONCLUSÃO

A biotecnologia e seus avanços, além de suas colaborações nas diversas áreas como a medicina, a agricultura e a economia, inclui a presença de riscos. A existência de tais riscos indica a necessidade de haver normas de segurança destinadas à análise e desenvolvimento de estratégias para minimizá-los, principal função da biossegurança. A biossegurança se faz importante tanto no controle dos riscos ocupacionais quanto no controle dos riscos de prejuízo ambiental provenientes das novas tecnologias científicas. Para que as ações de biossegurança sejam efetivas é necessário que todos os envolvidos em atividades de risco estejam devidamente informados acerca das diretrizes atuais, bem como aptos a colocá-las em prática de maneira correta. No entanto, é preciso ressaltar que o fato de haver manuais e normas de biossegurança não implica no afastamento total dos riscos. Segundo ALMEIDA; VALLE (1999), um acidente envolvendo técnicas de engenharia genética, por exemplo, poderá ocorrer e, como em toda análise previsionista prudente, não se pode prever quando nem em que intensidade.

Com o objetivo de tornar acessível a toda a sociedade as informações relativas ao desenvolvimento científico e suas implicações, é importante que sejam discutidos aspectos não só relativos à biossegurança, mas também relacionados à ética, sociedade, política e religião, que poderiam ser debatidos por diferentes representantes da sociedade.

AGRADECIMENTOS

À Vallée S.A., pelo apoio fundamental à realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). *Segurança e controle de qualidade no laboratório de microbiologia clínica* (Módulo II). Brasília: ANVISA, 2004.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA (Brasil). Biossegurança. *Revista de Saúde Pública*, v.39, n.6, 2005.
- ALBUQUERQUE, M.B.M. Biossegurança, uma visão da história da ciência. *Biotechnologia, Ciência & Desenvolvimento*, v.3, n.18, p. 42-45, 2001.
- ALMEIDA, A.B.S.; ALBUQUERQUE, M.B.M. Biossegurança: um enfoque histórico através da história oral. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos*, v.7, n.1, p.171-183, 2000.
- ALMEIDA, J.L.T.; VALLE, S. Biossegurança no ano 2010: o futuro em nossas mãos? *Bioética*, v.7, n.2, p.199-203, 1999.
- AZEVEDO, J.L.; FUNGARO, M.H.P.; VIEIRA, M.L.C. Transgênicos e evolução dirigida. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos*, v.7, n.2, p.451-464, 2000.
- BORÉM, A. *Escape genico & transgenicos*. Rio Branco: Suprema, 2001.
- BRASIL. Lei nº 8974, de 5 de janeiro de 1995. "Regulamenta os incisos II e V do parágrafo 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas para o uso das técnicas de engenharia genética e liberação no meio ambiente de Organismos Geneticamente Modificados, autoriza o Poder Executivo a criar, no âmbito da Presidência da República, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, e dá outras providências". *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 6 jan. 1995.
- BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. *Biossegurança CTNBio, Transgênicos*. 2000. Disponível em: <<http://www.mct.org.br>>. Acesso em: 1 dez. 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Classificação de risco dos Agentes Biológicos*. Brasília: Editora MS, 2006a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com Agentes Biológicos*. Brasília: Editora MS, 2006b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia*. 3.ed. Brasília, 2006c.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Laboratory biosafety guidelines*. 2. ed. Ottawa: CDC, 1996. 66p.
- COICO, R.; LUNN, G. Biosafety: guidelines for working with pathogenic and infectious microorganisms. *Current Protocols in Immunology*, cap.1A, unid.1A, 2005.
- COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA (Brasil). *CIBio*. 2006 Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/143.html>>. Acesso em: 21 abr. 2010.
- COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA (Brasil). *Relatório Anual da CTNBio 2002*. Dis-

ponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/1146.html>>. Acesso em: 1 dez. 2008.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA (Brasil). *Relatório Anual da CTNBio 2009*. Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/14606.html>>. Acesso em: 21 abr. 2010

COSTA, M.A.F. *Biossegurança: segurança química básica para ambientes biotecnológicos e hospitalares*. São Paulo: Ed. Santos, 1996.

COSTA, M.A.F.; COSTA, M.F.B. Biossegurança: elo estratégico de SST. *Revista CIPA*, v.21, n.253, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. *Boas práticas de laboratório*. Disponível em: <<http://www.ctaa.embrapa.br/projetos/bplapresentacao.php>>. Acesso em: 25 set. 2008

FONTES; E.M.G. Legal and regulatory concerns about transgenic plants in Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.83, n.2, p.100-103, 2003.

GARCIA, L.P.; ZANETTI-RAMOS, B.G. Health services waste management: a biosafety issue. *Cadernos de Saúde Pública*, v.20, n.3, p.744-752, 2004.

HAMBLETON, P.; BENNETT, A.M.; LEAVER, G. Biosafety monitoring devices for biotechnology processes. *Tibtech*, v.10, p.192-199, 1992.

KIMMAN, T.G.; SMIT, E.; KLEIN, M.R. Evidence-Based Biosafety: a Review of the Principles and Effectiveness of Microbiological Containment Measures. *Clinical Microbiology Reviews*, v.21, n.3, p.403-425, 2008.

MONQUERO, P.A. Plantas transgênicas resistentes aos herbicidas: situação e perspectivas. *Bragantia*, v.64, n.4, p.517-531, 2005.

NODARI, R. O.; GUERRA, M.P. Plantas Transgênicas: avaliação e biossegurança. In: SEMINÁRIO ESTADUAL DE BIOTECNOLOGIA E PRODUTOS TRANSGÊNICOS, 1999, Santa Maria, RS. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1999. v. único, p.1-10.

NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Plantas transgênicas e seus produtos: impactos, riscos e segurança alimentar

(biossegurança de plantas transgênicas). *Revista de Nutrição*, v.16, n.1, p.105-116, 2003.

SALGADO-SANTOS, I.M.N.R. Boas Práticas de Laboratório (Parte 1). *Fármacos & Medicamentos*, v.2, 2001.

SANT'ANA, A. Biossegurança no Brasil: A necessidade de uma política consistente. In: TEIXEIRA, P.; VALLE, S. (Ed.). *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1996. p.27-40.

SCHOLZE, S.H. Biossegurança e alimentos transgênicos. *Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, v.2, n.9, p.32-34, 1999.

SEWELL, D.L. Laboratory-associated infections and biosafety. *Clinical Microbiology Review*, v.8, n.3, p.389-405, 1995.

SHATZMAYR, H.G. Biossegurança nas infecções de origem viral. *Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, v.3, n.18, p.12-15, 2001.

SILVA, F.H.A.L. Equipamentos de contenção. In: TEIXEIRA, P.; VALLE, S. (Ed.). *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1996. p.163-189.

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

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA. Instituto de Ciências da Saúde. *Manual de biossegurança*. Salvador, 2001. cap.17.

WAISSMAN W.; CASTRO, J.A.P. A evolução das abordagens em saúde e trabalho no capitalismo industrial. In: TEIXEIRA, P.; VALLE, S. (Ed.). *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1996. p.15-25.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Laboratory biosafety manual*. 3.ed. Geneva: WHO, 2004.

Recebido em 19/2/09
Aceito em 21/4/10