

Organizadora:  
Silvia Mara Haluch

# BIOSSEGURANÇA E BIOTECNOLOGIA MODERNA

Autores:  
Flávia Caroline Haluch  
Henrique Vilas Boas  
Silvia Mara Haluch

Organizadora:  
Silvia Mara Haluch

# BIOSSEGURANÇA E BIOTECNOLOGIA MODERNA

Autores:  
Flávia Caroline Haluch  
Henrique Vilas Boas  
Silvia Mara Haluch

**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira

**Assistente editorial**

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto gráfico**

Camila Alves de Cremo

Ellen Andressa Kubisty

Luiza Alves Batista

Nataly Evilin Gayde

Thamires Camili Gayde

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Luiza Alves Batista

2024 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2024 Os autores

Copyright da edição © 2024 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo do texto e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

## Conselho Editorial

### Ciências Biológicas e da Saúde

Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso

Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Camila Pereira – Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto

Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí

Profª Drª Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes

Prof. Dr. Davi Oliveira Bizerril – Universidade de Fortaleza

Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina

Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília

Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina

Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco

Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra

Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Guillermo Alberto López – Instituto Federal da Bahia

Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia

Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr

Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. José Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Kelly Lopes de Araujo Appel – Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal

Profª Drª Larissa Maranhão Dias – Instituto Federal do Amapá

Profª Drª Livia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Luciana Martins Zuliani – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas

Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará

Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Max da Silva Ferreira – Universidade do Grande Rio

Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª Drª Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará

Profª Drª Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Taísa Ceratti Treptow – Universidade Federal de Santa Maria

Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí

Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

## Biossegurança e biotecnologia moderna

**Diagramação:** Ellen Andressa Kubisty  
**Correção:** Jeniffer dos Santos  
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga  
**Revisão:** Os autores  
**Organizadora:** Silvia Mara Haluch  
**Autores:** Flavia Caroline Haluch  
 Henrique Vilas Boas  
 Silvia Mara Haluch

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
B616	<p>Biossegurança e biotecnologia moderna / Organizadora                      Silvia Mara Haluch. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2024.</p> <p>Autores                      Flavia Caroline Haluch                      Henrique Vilas Boas                      Silvia Mara Haluch</p> <p>Formato: PDF                      Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader                      Modo de acesso: World Wide Web                      Inclui bibliografia                      ISBN 978-65-258-2355-3                      DOI: <a href="https://doi.org/10.22533/at.ed.553242602">https://doi.org/10.22533/at.ed.553242602</a></p> <p>1. Biossegurança. 2. Biotecnologia. I. Haluch, Silvia Mara (Organizadora). II. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 363.15</p>
Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166	

**Atena Editora**  
 Ponta Grossa – Paraná – Brasil  
 Telefone: +55 (42) 3323-5493  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao conteúdo publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que o texto publicado está completamente isento de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



Primeiramente a Deus.

Dedicamos a todas as pessoas e circunstâncias boas e más, que moldaram nosso modo de captar e entender as situações da vida e nos impulsionaram a desenvolver a ciência para todas as pessoas.

Nossos sinceros agradecimentos aos Pastores Samuel Coelho e Michel Piragine por participar ativamente na melhoria pessoal e espiritual dos autores.

Agradecemos ao Pablo Marçal pelas palavras de força e motivação, de forma que fomos impulsionados a escrever, mesmo errando, mas aprendendo, buscando novos horizontes e troca de ideias com os demais cientistas que se assemelham ao assunto abordado.

Por fim, de suma importância ao trabalho desenvolvido, nosso grande amigo Marcelo Araújo Saladini, por patrocinar a publicação desse livro.

Como esquecer a pandemia de covid19 nos anos de 2020 e 2021? O isolamento, as dúvidas, os novos procedimentos, o desconhecido...

Nesse contexto a Biossegurança emerge e ganha força. A Biotecnologia é a ciência mais importante naquele momento, sendo a ferramenta da conquista de vacinas, medicamentos e diagnósticos precisos. E o que falar dos profissionais da saúde? Guerreiros e guerreiras no combate.

E assim, marcamos a histórica e separamos o clássico, o convencional para uma nova era da Biotecnologia e Biossegurança. E onde encontramos no nosso dia a dia? A Biotecnologia é nosso cotidiano, é o que consumimos, são nossos exames médicos e até mesmo as vacinas que estão disponíveis nos postos de saúde. Garante alimentos para as mesas de diversos cidadãos, reduzindo o uso de pesticidas, dando eficiência ao plantio, evitando perda de florestas. Porém, sua existência traz riscos desconhecidos, podendo ser gravíssimos para o homem, animal e natureza.

A Biossegurança é a garantia de ambientes seguros e sustentáveis em diversas organizações. Além do respeito à vida, qualidade e condutas sustentáveis para o futuro, também envolvem ações para evitar bioterrorismo e contenção de riscos que possam impactar a vida do planeta.

Guerras biológicas, pandemias, resistência microbiana a fármacos, mudanças climáticas, como tudo isso pode nos afetar e qual a função da biossegurança nesse contexto? É nesse livro que vamos contar onde tudo começou e onde estamos.

Por Cilene Priscila de Melo

Cientista da Goldlab Ciência e Tecnologia Ltda

A Biossegurança nasceu de acidentes ocupacionais em serviços de saúde e ao longo dos tempos se tornou uma ciência multidisciplinar de grande importância de forma individual e coletiva. Sua base está construída na saúde, segurança e meio ambiente convergindo para ambientes com segurança e riscos controlados, saúde coletiva e meio ambiente protegido e sustentável.

Condutas individuais e coletivas, regras, princípios são as ferramentas de ações que buscam mitigar, anular, controlar, evitar e gerenciar riscos que possam afetar animais, humanos e a Natureza. A melhoria constante por ambiente seguro em todas as funções trabalhistas e nos locais de concentração de pessoas conduzem qualidade de vida, saúde coletiva e ambiente saudável.

Boas práticas de higiene, boas práticas de produção e boas práticas laboratoriais são normas aplicáveis em todos os empreendimentos, inclusive no ambiente doméstico, o que evidenciamos durante o evento de 2020, com a Pandemia de SARS-Covid19.

E ao longo dos anos, com aprendizado em doenças virais, bacterianas, fúngicas e zoonoses, o contexto da Biossegurança migrou para ações contra a Biotecnologia moderna e bioterrorismo. Com as mudanças climáticas, organismos até então dados como esquecidos, ressurgem com o derretimento das geleiras e os corpos contendo microrganismos de outras eras, trazem a tona, novo impacto mundial e riscos de novas pandemias, em conjunto com possíveis armas biológicas e novas espécies de microrganismos altamente adaptados e resistentes a todos os tipos de medicamentos.

Isso somado com a produção de Organismos geneticamente modificados (OGM) e o bioterrorismo transformaram a Biossegurança clássica em um novo evento moderno, com ações de contenção, bloqueio, proteção dos organismos nativos, proteção da flora e fauna remanescente, proteção da vida humana e animal contra armas biológicas letais, conduzindo essa ciência para a modernidade, se tornando a ciência do século, que estará em constantes mudanças a fim de acompanhar o ambiente hostil e poluído, ao qual se encontra o planeta Terra.

Portanto, você acredita que as pandemias pararam por aqui?

Por Dominique dos Santos

Cientista e Responsável técnico da Goldlab Ciência e Tecnologia Ltda

<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO À BIOSSEGURANÇA.....</b>	<b>1</b>
1.1 Histórico e abrangência.....	1
1.2 Conceitos e definições .....	3
1.2 Aspectos legais .....	5
1.2.1 Requisitos legais .....	5
1.2.2 Requisitos do Trabalho .....	6
1.2.3 Principais Legislações em Biossegurança.....	7
1.2.4 Política nacional em Biossegurança.....	9
1.2.5 Biotecnologia e Biossegurança moderna.....	11
<b>CAPÍTULO 2 - MEDIDAS DE BIOSSEGURANÇA.....</b>	<b>13</b>
2.1 Classificação de riscos .....	13
2.1.1 Riscos biológicos .....	13
2.1.2 Riscos químicos .....	14
2.1.3 Riscos físicos .....	15
2.1.4 Riscos ergonômicos.....	16
2.1.5 Riscos de acidente .....	17
2.1.6 Riscos robóticos e inteligência artificial .....	18
2.1.7 Mapeamento de Risco e gestão de riscos .....	18
2.2 Níveis de Biossegurança .....	20
2.3 Organismos geneticamente modificados (OGMs) .....	21
<b>CAPÍTULO 3 - AGENTES DE CONTROLE MICROBIANO .....</b>	<b>23</b>
3.1 Higiene e limpeza .....	23
3.2 Controle microbiano.....	23
3.2.1 Desinfecção .....	24
3.2.2 Esterilização .....	25
3.2.3 Antissepsia, degerminação, sanitização e assepsia. ....	27
3.3 Agentes de controle microbiano .....	28

3.3.1 Métodos químicos.....	29
3.3.2 Métodos físicos .....	30
<b>CAPÍTULO 4 - MICRORGANISMOS DE INTERESSE EM BIOSSEGURANÇA.....</b>	<b>32</b>
4.1 Conhecendo os procariontes .....	32
4.1.1 Estrutura celular de bactérias e classificação .....	33
4.1.2 Fenômeno da resistência microbiana .....	36
4.1.3 Principais doenças bacterianas.....	42
4.2 Conhecendo os Vírus.....	46
4.2.1 Natureza e características dos vírus .....	46
4.2.2 Diversidade e genoma.....	47
4.2.3 Principais doenças virais .....	49
4.3 Conhecendo os Fungos.....	54
4.3.1 Natureza dos fungos .....	54
4.3.2 Principais doenças fúngicas.....	55
4.4 Hospedeiros de importância em Biossegurança .....	57
<b>CAPÍTULO 5 - ATAQUES BIOLÓGICOS E BIOTERRORISMO.....</b>	<b>61</b>
5.1 Identificar e prevenir bioterrorismo .....	62
5.2 Agentes escolhidos e Toxinas letais .....	64
5.3 Inteligência estratégica e Inteligência artificial.....	66
5.4 Órgãos de Responsabilidades no Brasil .....	67
<b>CAPÍTULO 6 - PRÁTICAS SEGURAS.....</b>	<b>71</b>
6.1 Boas práticas profissionais e boas práticas de laboratório .....	71
6.1.1 Condutas seguras e unidades de isolamento .....	73
6.1.2 Prevenção contra infecções hospitalares .....	74
6.1.3 Simbologia .....	75
6.2 Equipamentos de proteção individual (EPI) .....	76

6.3 Equipamentos de proteção coletiva (EPC).....	77
<b>CAPÍTULO 7 - BIOSSEGURANÇA AMBIENTAL.....</b>	<b>79</b>
7.1 Resíduos.....	79
7.1.1 Classificação e tipologia .....	80
7.1.2 Gerenciamento de resíduos .....	84
7.2 Sistemas de tratamentos de efluentes .....	86
7.2.1 Estações de tratamento de resíduos .....	86
7.2.2 Tipos de tratamento .....	87
7.3 Indicadores de desenvolvimento sustentável.....	89
<b>CAPÍTULO 8 - BIOTECNOLOGIA MODERNA .....</b>	<b>92</b>
8.1 Paleomicrobiologia forense .....	92
8.2 Biologia Molecular.....	93
8.2.1 DNA e genes .....	94
8.2.2 RNA e síntese de proteínas.....	95
8.2.3 Transferência genética e recombinação .....	95
8.3 Nanotecnologia e biotecnologia humanitária .....	97
8.3.1 Técnicas modernas .....	98
8.3.2 Vacinas .....	99
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>101</b>
<b>SOBRE OS AUTORES .....</b>	<b>106</b>
<b>SOBRE A ORGANIZADORA .....</b>	<b>107</b>

## INTRODUÇÃO À BIOSSEGURANÇA

### 1.1 HISTÓRICO E ABRANGÊNCIA

A história da Biossegurança começa na descoberta do mundo invisível através dos estudos de Louis Pasteur em 1862, quando foram apresentados ao mundo, os chamados de micróbios, algo novo e preocupante, que mudou a concepção da ciência. Porém, apenas em 1970 o termo “segurança biológica” começou a ser referenciado como uma ciência voltada para engenharia genética, sendo consolidada no ano seguinte, por causa de um novo experimento que tomou proporções gigantescas, a produção de insulina através de microrganismos alterados, ou seja, por um gene inserido em uma bactéria Gram negativa, que foi denominada posteriormente de *Escherichia coli*, que atualmente, causa diversas enfermidades e óbitos em ambientes hospitalares, mas faz parte da história.

Nesse período entre 1870 até 1970, o mundo passava pela crise da tuberculose, hepatites, sarampo, vírus da gripe espanhola, varíola, que assolavam todos os países no globo terrestre. O mundo estava adormecido para as questões ambientais e saúde coletiva. No Brasil, nos anos 80, além das doenças mundiais, a dengue fazia parte de boa parcela da mortalidade. Em 1979 a AIDS surge com altos índices de mortalidade por doenças infectocontagiosas.

Portanto, o início da Biossegurança remete doenças, atentados, fome e a AIDS, e assim os moldes dessa ciência, iniciou na busca da ética, melhoramento do plantio e agropecuária e na segurança ocupacional. Esse é o grande marco da Biossegurança, pois o foco era a ética social, ética nas pesquisas e projetos laboratoriais, regulamentação de experimentos em melhoramento genético, programas de células-tronco e proibição de armas biológicas. Foi implantado pela primeira vez, nos meados de 1990, um grupo de pessoas familiarizadas com o assunto, que posteriormente virou uma Comissão de Ética na pesquisa em biossegurança, com diretrizes, regulamentos e normas no que tange seres humanos, animais, microrganismos e plantas.

Em 1998, o termo biotecnológico começa a ser citado, ou seja, técnicas em biologia, técnicas de DNA recombinante, bioprocessos e biotecnologia, nome que aliados ao início da cultura em segurança e medicina do trabalho, deu-se o, portanto, o nome Biossegurança. Mesmo sendo algo tão tecnológico, acarretam uma das ciências mais interdisciplinares comparadas com várias outras, necessitando de diversas profissões para integrar uma equipe, comissões, regulamentos e assessoria governamental.

A Biossegurança moderna deve ser interpretada, como uma área da ciência focada na saúde social, ambiental, educacional e profissional. Seu nascimento herdou de falhas em condutas em segurança dos profissionais envolvidos nos ambientes hospitalares. Então sua história se resume na necessidade de impor condutas e regras para evitar acidentes de trabalho e evitar que os resíduos hospitalares produzidos diariamente, disseminassem nos rios e solo e conseqüentemente, o surgimento de novas doenças, bem como regras no agronegócio e bioética.



O conceito ao longo dos anos foi ampliado e se consolidando lado a lado com o crescimento da Biotecnologia e as manipulações genéticas. O conceito veio da harmonia entre o homem, os processos do trabalho, da sociedade e dos estabelecimentos da saúde. O acidente de trabalho passou a ter um caráter grave, pois além do próprio trabalhador, suas condutas atingiam os pacientes, animais e meio ambiente. E assim a Biossegurança era vista como uma ferramenta de gestão.

Com o crescimento do fenômeno do surgimento de bactérias multirresistentes, novas linhagens de microrganismos de alta virulência, crescente uso dos Organismos geneticamente modificados (OGMs), “bebês de proveta”, termo comum usado na época, ou seja, aumento de clínicas de fertilização, a Biossegurança precisou ser ampliada e reformulada. Nesse período, ocorreu grande ênfase aos OGMs e praticamente os anos de 1990 até 2012, as leis eram por quase totalidade, impondo normas para esse fim.

No novo conceito dos anos de 2013, após alguns eventos de terrorismo no mundo, as políticas nacionais e internacionais conduziram uma reformulação voltada um conjunto de ações e medidas para mitigar, anular, evitar ou controlar riscos que afetam o bem-estar humano, ambiental, animal e vegetal, bem como, a bioproteção de utilização e disseminação não intencional ou intencional de patógenos completos ou em partes, aos quais incluem suas toxinas, contra atos dolosos ou bioterrorismo.

Logo, os estabelecimentos da saúde abraçaram a oportunidade de negócios e lançaram de forma estratégica, medidas que garantam a segurança em seus estabelecimentos, certificando ambientes em prol de aumento de clientes e garantir a procura dos melhores colaboradores nas suas instituições.

A Biossegurança abrange os ambientes de ensino, pesquisa, laboratórios em geral, Instituições dos Estabelecimentos da saúde, aos quais se incluem todos os tipos de clínicas, atendimento ao público, hospitais, consultórios, veterinárias, biotério, empresas privadas, indústrias em geral, Administração Pública e Segurança Pública, aos quais se incluem militares, civil e científica em todos os níveis tecnológicos e todos os aspectos que consequentemente gerem impacto ambiental, impacto na flora e fauna, e impacto social.

Em 2018, a China anuncia estudos de manipulação gênica em humanos, de forma inédita, o primeiro humano geneticamente modificado, e essa notícia repercutiu dentro das comissões em biossegurança, pois novos cenários em riscos biológicos sobre mutações e passagens para outros descendentes.

Porém, em 2019, o mundo passa por nova pandemia do SARS/ Covid-19 e a Biossegurança precisou evoluir novamente, com nossas condutas e sistemas de higiene, desinfecção, novos protocolos hospitalares, distanciamento social e bloqueio de aglomeração de pessoas, estudos rápidos de medicamentos, vacinas e métodos biotecnológicos, em prol da saúde coletiva. Em resumo, a Biossegurança se torna uma das ciências mais importantes naquele ano e nos anos seguintes, e um apelo a todos os cientistas e profissionais da área da saúde, como médicos, biomédicos, fisioterapeutas,

biotecnólogos, farmacêuticos, nutricionistas, psicólogos, terapeutas e especialistas, veterinários, enfim, todos os profissionais da área da saúde foram convocados e altamente necessários em todos os estabelecimentos da saúde. Depois desse cenário até os dias atuais, a rotina de higiene mudou no mundo.

Com todo histórico se conclui que essa ciência deve estar em constante evolução e acompanhando as tendências, como bioterrorismo, tráfico de fauna e flora, crimes ambientais, alteração genômica, surgimento de novas linhagens de microrganismos de alta relevância médica, condutas em descarte adequado de resíduos radioativos, infectantes e medicamentosos, evitando, portanto, contaminação ambiental e da saúde coletiva, bem como indução de mecanismos de resistência microbiana que segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) será um dos principais eventos catastróficos dos próximos anos.

É de extrema importância estar preparado para novas pandemias. Os exemplos de 2014 com o Ebolavírus na África com a letalidade de 90%, bem como a persistência de 2019 até 2021 do Sars Covid-19, demonstraram para o mundo que a Biossegurança não é apenas uma disciplina universitária e sim uma ferramenta de alta relevância em gestão interdisciplinar.

## 1.2 CONCEITOS E DEFINIÇÕES

Com as primeiras notificações e relatos de casos de AIDS, em 1979, as autoridades públicas perceberam que microrganismos invisíveis se tornaram um problema mundial e que não existiam protocolos a serem seguidos, tanto de condutas ao paciente, quanto regras de higiene e limpeza, até que o primeiro acidente com uma trabalhadora de um hospital nos Estados Unidos com uma agulha exposta e contaminada causou mudança imediata no cenário internacional.

Para que se padronizasse e regulamentasse ações em Biossegurança, foi necessário adequar conceitos, siglas e definições.

No Brasil, em 2005, foram padronizadas as siglas e suas definições no intuito de convergir os termos a serem utilizados no território nacional, ao encontro com o vocabulário internacional.

A sigla CTNBio que indica a Comissão técnica Nacional de Biossegurança que é formada por especialistas com a missão de controlar pesquisas de modificação genética e avaliar riscos envolvidos dos resultados alcançados em Biotecnologia. A CNBS é o Conselho Nacional de Biossegurança com o objetivo de julgar se os OGMs são favoráveis e de relevância econômica para o país. A CIBio que é uma Comissão Interna de Biossegurança da própria entidade que possua métodos de engenharia genética e tem a responsabilidade de elaborar documentação e implantar procedimentos de segurança em consonância com as normas da CTNBio.

**Para integração das informações entre as políticas nacionais e entidades, foram padronizadas as seguintes definições na Lei 11.105:**

Organismo: toda entidade biológica capaz de reproduzir ou transferir material genético, inclusive vírus e outras classes que venham a ser conhecidas;

Ácido desoxirribonucleico (ADN) e ácido ribonucleico (ARN): materiais genéticos que contêm informações determinantes dos caracteres hereditários transmissíveis à descendência;

Moléculas de ADN ou ARN recombinante: a molécula manipulada fora das células vivas, mediante a modificação de segmentos de ADN ou ARN natural ou sintético e que possam multiplicar-se em uma célula viva, ou ainda as moléculas de ADN ou ARN resultantes dessa multiplicação; consideram-se também os segmentos de ADN ou ARN sintéticos equivalentes aos de ADN ou ARN naturais;

Engenharia genética: atividade de produção e manipulação de moléculas de ADN ou ARN recombinante;

Organismo geneticamente modificado (OGM): organismo cujo material genético ADN ou 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;

Clonagem: processo de reprodução assexuada, produzida artificialmente, baseada em um único patrimônio genético, com ou sem utilização de técnicas de engenharia genética;

Clonagem para fins reprodutivos: clonagem com a finalidade de obtenção de um indivíduo;

Clonagem terapêutica: clonagem com a finalidade de produção de células-tronco embrionárias para utilização terapêutica; • Células-tronco embrionárias: células de embrião que apresentam a capacidade de se transformarem em células de qualquer tecido de um organismo (BRASIL, 2005 pg 1).

**É nítida a forte relação entre OGM e Biossegurança no Brasil, pois éramos e somos o celeiro do mundo, estamos em primeiro lugar em diversos grãos e outros produtos para exportação. Porém, sabemos que a Biossegurança é muito mais ampla, tendo um contexto de segurança laboral e meio ambiente. Para tanto muitas regulamentações e normas estão bem estruturadas em Ministérios e outros órgãos.**

**Um dos conceitos que definem a Biossegurança no contexto brasileiro publicado em 2005 pela Fundação Instituto Osvaldo Cruz (FIOCRUZ), segundo a CTBio (2005):**

A biossegurança é um processo tanto funcional quanto operacional, de importância capital nos diferentes serviços de saúde e deve ser vista como um mecanismo de proteção, tanto para o paciente, quanto para os atores envolvidos nos cuidados de saúde. Além disso, tem um papel fundamental no despertar de uma consciência sanitária coletiva, seja na redução dos riscos e danos potenciais à saúde, seja na proteção do meio ambiente pela manipulação e descarte de resíduos químicos, tóxicos e infectantes. Pode ainda ser conceituada como "um conjunto de ações voltadas à prevenção,

minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de: pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, capazes de comprometer a saúde do homem, dos animais, das plantas, do ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos” (CTBio-FIOCRUZ, 2005, pg 12 e 13).

## 1.2 ASPECTOS LEGAIS

A legislação brasileira foi formatada nas tendências internacionais e nacionais, com um viés na manipulação de organismos geneticamente modificados e nas práticas de células-tronco. A Biossegurança Legal regulamentou vários itens em conjunto com o Ministério do Trabalho e Emprego (MTE), com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e com o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

A primeira legislação sobre Biossegurança foi a Resolução N.01 do Conselho Nacional de Saúde no ano de 1988. Entretanto, só em 1995 ela foi publicada legalmente sob o número Lei 8.974: 1995 e Decreto-lei 1752. Foram através dessas leis que foi criado a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), que alinha assuntos de biotecnologia, saúde do trabalhador e meio ambiente, bem como mecanismos de fiscalização do uso das técnicas agrícolas da engenharia genética, transporte, comercialização, consumo, liberação e descarte de OGMs.

A discussão acerca dos OGMs, segundo a Biossegurança Legal, está na introdução de espécimes resistentes, alteradas, com alta resiliência e capazes de persistir a diversas intempéries estão focadas apenas na alta produção e benefício humano, diferente da Ecologia clássica com seus mecanismos naturais. Na época, existia uma lacuna do conhecimento científico quando se trata ao consumo humano, principalmente nas questões do uso contínuo, tanto na alimentação humana quanto na alimentação animal desses produtos alterados, bem como a possível eliminação de uma ou várias espécies nativas, pela predação e dominação de espécimes mais adaptadas.

A Lei mais importante no Brasil é a 11.105:2005 a “Lei de Biossegurança” em vigor até os dias atuais e foi através da mesma, que foi liberado o cultivo, manipulação e venda de OGMs e a utilização de células-tronco e estudos genéticos. A Lei formalizou o Conselho Nacional de Biossegurança e a Comissão Técnica de Biossegurança que publicam constantemente regulamentos, portarias e projetos-lei. Foi nessa fase histórica que ocorreu a proibição do uso de célula, zigoto, e embrião humano em estudos genéticos, bem como a clonagem humana.

### 1.2.1 Requisitos legais

A Biossegurança é comparada com um sistema pleno de gestão da Qualidade, Meio Ambiente e Segurança do trabalho, e como toda ferramenta de gestão, possui critérios e requisitos que devem ser cumpridos visando o atendimento a normas, leis, decretos e condutas nacionais e internacionais.

Com o novo formato estratégico da gestão de riscos e gestão de mudanças dos sistemas da qualidade, as situações devem ser encaradas no intuito de prevenção. Dessa forma a nova caricatura da Biossegurança deve visar ações de bloqueio, de minimização de acontecimentos que até então eram desconsiderados e provenientes de qualquer fonte, como por exemplo, anomalias, falhas em equipamentos, acidentes em laboratórios, mudança comportamental de doenças, migração de hospedeiros, resistência microbiana e outros.

### 1.2.2 Requisitos do Trabalho

O Ministério do Trabalho e Emprego publica suas normas focadas na integridade física e mental dos trabalhadores, com a introdução de programas de capacitação, competência e treinamento no âmbito da segurança ocupacional e impõe controles, monitoramentos e registros que contemplem uma série de atividades que as empresas necessitam implantar a fim de garantir requisitos legais cada vez mais apertados. Um desses itens de grande importância são os Programas de saúde ocupacional, Mapeamento de risco, Brigada de incêndio, Perfil Profissionográfico Previdenciário (PPP), Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA), Resposta a emergência e outros.

Cabe ao Ministério do Trabalho, segundo a Lei N. 6.514:1977 nos artigos 154 aos 201, definir medidas e por isso, foi aprovado em 1978 a Lei N. 3.214 que instituiu as Normas Regulamentadoras (NRs) pertinentes a todo e qualquer atuação em Segurança e Medicina do Trabalho.

Uma importante Norma Regulamentadora é a NR 23, proteção contra incêndios, que traz medidas e procedimentos que asseguram prevenção e rotas organizadas e ensaiadas em situações de risco e emergências e padroniza sistemas de combate, sinalização e rotas de movimentação de pessoas. De suma importância deixar evidentes telefones de emergência em locais apropriados.

O PPP é um histórico individual laboral do trabalhador e deve ser elaborado com base nas informações de risco oriundo do Programa de Gerenciamento de Riscos (PGR), antigo termo Programa de Prevenção de Riscos Ambientais (PPRA) da NR-9. Além do PGR, de igual importância, temos o Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (PCMSO) da NR-7.

A NR-9 traz o dever da prevenção da saúde e integridade física, tendo como objetivo, antecipar e reconhecer os riscos ocupacionais do ambiente dos processos da empresa e adoção de medidas segundo os riscos identificados. A NR-5 é relativa à Comissão Interna de Prevenção de acidentes (CIPA) e tem como principal objetivo a prevenção de acidentes de modo, a tornar um ambiente compatível com segurança e preservação da vida.

Para garantir o cumprimento dos requisitos de segurança ocupacional, o Atestado de saúde ocupacional (ASO), oriundo da NR-7, é um documento que é emitido por empresa

capacitada em Medicina do Trabalho e reflete o estado e condições de saúde de cada trabalhador através de exames clínicos, médicos, físicos e análise de matrizes biológicas que se relacionam com os riscos do ambiente de trabalho. Esse documento vem desde a admissão, mudança de atividade e saída da atividade e quando o mesmo se encontra inapto, significa que o trabalhador não está em condições para atuar no serviço a ser executado e pode ser alocado em outras áreas da mesma empresa.

Temos ainda os requisitos do Ministério da Saúde e Agência Nacional de vigilância em saúde (ANVISA), que traz diretrizes para o trabalho seguro, em todos os ambientes de sua atuação, bem como as diretrizes em locais de agentes biológicos e risco à saúde coletiva e ambiental.

### **1.2.3 Principais Legislações em Biossegurança**

Um marco muito importante para a Legislação no Brasil é a Resolução CONAMA N.01: 1988, regulamentada pela Lei N. 8.974:1995 e pelo Decreto N. 1.752:1995. Essa lei fomentou os assuntos relacionados à saúde dos trabalhadores inclusive os expostos a agentes patogênicos.

Em 1992 ocorreu a Conferência das Nações Unidas no Rio de Janeiro dando ênfase as questões de biotecnologia e meio ambiente com resultado final o protocolo de Cartagena de Biossegurança. Um dos temas abordados era a movimentação e comercialização de OGM entre fronteiras e o cuidado na proteção da diversidade natural.

Em 2005 foi criada a Lei N. 11.105 conhecida como a Lei de Biossegurança que contempla a fiscalização, a criação da CNBS e a CIBio, que regularia e desenvolve questões biotecnológicas no país.

A Biossegurança emerge em questões multidisciplinares necessitando de apoio de diversos órgãos como Ministério de saúde, Ministério do Trabalho, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Renováveis, Ministério da Agricultura, Ministério de Ciência e Tecnologia, fundações e entidades sem fins lucrativos, instituição de ensino e pesquisa, que regulamentam as principais legislações descritas no quadro a seguir:

Tipo	Código	Assunto
Lei	N. 11.460 de 21/03/2007	Dispõe sobre o plantio de organismos geneticamente modificados em unidades de conservação
Lei	Lei n. 11.105 de 24/03/2005	Lei da Biossegurança
Lei	Lei n. 10.603 de 17/12/2002	Art. 1º Esta Lei regula a proteção, contra o uso comercial desleal, de informações relativas aos resultados de testes ou outros dados não divulgados apresentados às autoridades competentes, como condição para aprovar ou manter o registro para a comercialização de produtos farmacêuticos de uso veterinário, fertilizantes, agrotóxicos seus componentes e afins.
Lei	Lei nº 10.196, de 14.02.2001	Altera e acresce dispositivos à Lei nº 9.279, de 14 de maio de 1996, que regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial, e dá outras providências.
Lei	Lei nº 9.782, de 26.01.99	Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências.
Lei	Lei nº 9.456 de 25.04.97	Institui a Lei de Proteção de Cultivares, e dá outras providências.
Lei	Lei nº 8.078, de 11.09.90	Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências.
Lei	Lei nº 6.938, de 31.08.81	Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências.
Resolução	RDC Nº 222, de 28 de março de 2018	Regulamenta as Boas Práticas de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde e dá outras providências.
Resolução	CTNBio Nº 1, de 20 de Junho de 2006	Dispõe sobre a instalação e o funcionamento das Comissões Internas de Biossegurança (CIBios) e sobre os critérios e procedimentos para requerimento, emissão, revisão, extensão, suspensão e cancelamento do Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB).
Resolução	CTNBio Nº18, de 23 de Março de 2018	República 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
Resolução Normativa	Nº 38, de 27 de Setembro de 2023	Estabelece os procedimentos para o trâmite de processos entre a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio e instituições congêneres à CTNBio de outros países com as quais a CTNBio possui instrumentos de cooperação em biossegurança de produtos da biotecnologia moderna para fins de liberação comercial de organismos geneticamente modificados (OGM) e seus derivados e para a avaliação do enquadramento de produtos gerados por meio de Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão (TIMP).
Resolução Normativa	Nº 37, de 18 de Novembro de 2022	Dispõe sobre a instalação e o funcionamento das Comissões Internas de Biossegurança (CIBios) e sobre os critérios e procedimentos para requerimento, emissão, revisão, extensão, suspensão e cancelamento do Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB).

Resolução Normativa	Nº 35, de 15 de Outubro de 2021	Dispõe sobre a concessão de autorização pela CIBio para liberação planejada no meio ambiente de organismos geneticamente modificados e seus derivados da classe de risco 1 que já tenham sido aprovados anteriormente na CTNBio para fins de avaliações experimentais em liberações planejadas, com subsequente notificação à CTNBio
Resolução Normativa	Nº 32, de 15 de Junho de 2021	Dispõe sobre as normas para liberação comercial e monitoramento de animais e vegetais Geneticamente Modificados - OGM e seus derivados de origem vegetal e animal.
Resolução Normativa	Nº 31, de 20 de Novembro de 2020	Dispõe sobre o cadastramento das instituições detentoras de Certificado de Qualidade em Biossegurança – CQB no Sistema de Informações em Biossegurança – SIB.
Instrução Normativa	CTNBio n. 19, de 19/04/2000	Considerando o crescimento, no País, dos debates sobre a liberação no meio ambiente, especialmente para plantio em escala comercial, de variedades vegetais geneticamente modificadas.
Instrução Normativa	CTNBio n. 8, de 09/07/97	Dispõe sobre a manipulação genética e sobre a clonagem em seres humanos
Instrução Normativa	CTNBio n. 9, de 10/10/97	Art. 1º A intervenção genética em seres humanos obedecerá às normas constantes da presente Instrução Normativa.

Fonte: Autores.

Ainda temos no Brasil, o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) que padroniza o uso de símbolo e cores, como a NBR 6.493 e NBR 7.195, de forma a prevenir acidentes, delimitando áreas, advertindo, identificando processos e sinalizando riscos. As normas mais importantes são a ABNT NBR 5311 – Código em cores para resistores fixos; ABNT NBR 6493 – Emprego das cores para identificação de tubulações; ABNT NBR 7195 – Cores para segurança; ABNT NBR 7500 – Identificação para o transporte terrestre, manuseio, movimentação e armazenamento de produtos; ABNT NBR 12176 – Cilindros para gases; ABNT NBR 13193 – Emprego de cores para identificação de tubulações de gases industriais; ABNT NBR 13434 – Sinalização de segurança contra incêndio e pânico; ABNT NBR 14725 – Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ).

### 1.2.4 Política nacional em Biossegurança

A Política Nacional em Biossegurança (PNB) ainda está em construção, mas seu esboço nasceu no intuito de delinear competências, estabelecer e construir de mecanismos seguros, incentivo a pesquisa científica e diretrizes nacionais. Inserida na Lei N. 11.105:2005 e está regulamentada nos incisos II, IV e V, § 1º, artigo 225 da Constituição Federal.

O Decreto nº 6.041:2007 instituiu a chamada Política de Desenvolvimento da Biotecnologia (PDB) com o viés para Organismos transgênicos e ações em biossegurança, focados na produção, monitoramento e comercialização de produtos alimentícios oriundo de OGMs. Essa Política menciona diretrizes da biotecnologia, correlacionando com a



Declaração Universal de Bioética e Direitos humanos. Foi no ano de 2007 que ocorreu um apelo à Casa Civil da Presidência da República, para que novos rumos sobre a PNB sejam adotados no tocante a biotecnologia, mesmo com tamanha complexidade da temática, interesses conflitantes, temas transversais e tendências científicas e bioterrorismo.

Essa Política da Biotecnologia introduz os princípios bioéticos e ações de precaução e questões ligadas à escolha consciente e uso protegido de Organismos transgênicos (OT). A construção da Política Nacional está fundamentada em condutas éticas, busca de um ambiente natural equilibrado com olhos para próximas gerações, sustentabilidade, ações responsáveis e equidade social e ambiental. Nesse contexto, temos a importância de melhoria genética em confronto com o impacto ambiental de agrotóxicos, a busca científica em prol do bem-estar social, ou seja, beneficência contra a maleficência, sendo o último, oriundo do uso inadequado, geração de prejuízos ambientais e bioterrorismo.

O Ministério do Meio Ambiente busca ações em conjunto pelo conhecimento da Biotecnologia, OGM/OT e engenharia genética, realidade atual e futura, publica e mantém conteúdos em Biossegurança, com posicionamento que levam em conta os interesses de proteção do meio ambiente e da saúde humana, mas busca o equilíbrio dos interesses tecnológicos e comerciais.

Em relação ao Ministério da Saúde, essas questões são coordenadas pela Comissão de Biossegurança em Saúde (CBS), regulamentadas pela Portaria GM/MS 1.683:2003 e mantida pela Secretaria de Ciência e Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE). É a CBS que elabora e reformula as normas, realiza o levantamento e análise de dados, identifica impacto e suas correlações em questões de saúde organizam debates públicos, estimula a integração dos órgãos, ministérios e governo nas questões em Sistema Único de Saúde (SUS). É o Ministério da Saúde que assessora as atividades de atualização e ações oriundas da Política Nacional de Biossegurança. Essa comissão contribui ainda com instituições que desenvolvem ações em Biossegurança e atua no desenvolvimento de laboratórios oficiais.

A Política Nacional, em sua origem, estava bem concentrada em ações de cunho ambiental, como por exemplo, reduzir o consumo de agrotóxicos pelo melhoramento genético de plantas, na intenção de criar espécimes resistentes a pragas, aumentar o valor nutritivo e ampliar a produção de sementes, com normas e regulamentos de riscos e níveis de biossegurança a serem adotados nas empresas correlatas.

Nos moldes atuais, conceitos de bioproteção, bioética, bioterrorismo, medidas e práticas seguras, são necessários não só mais em ambientes hospitalares, órgão de defesa, ou em empresas de manipulação de OGMs, nos tempos modernos, as regras valem para todos os estabelecimentos que possuem concentrações de pessoas, sobretudo aeroportos, fronteiras e escolas.

A Bioproteção tomou força no ano de 2000, no Protocolo de Cartagena, com rigidez na questão de proteção à Biodiversidade e em 2005, a Organização Mundial da Saúde, trouxe aspectos relativos às respostas às emergências internacionais para combater

doenças. Em 2016 ocorre um evento com a Organização Pan-Americana de Saúde em conjunto com o Ministério da Ciência e Tecnologia, Inovações e Comunicações com o intuito de construir uma Política Nacional integrada na conversão para Saúde única. Em 2017 ocorre o III Seminário Nacional de Biossegurança e Bioproteção com a participação do Ministério da Defesa, construindo de uma nova Política: Política Nacional de Biossegurança e Bioproteção.

Nota-se que ao passar dos anos, há necessidade de uma integração conjunta de órgãos que se relacionam com a saúde humana, animal, meio ambiente, políticas estratégicas e órgãos de defesa. A Biossegurança moderna conta com a somatória de diversos profissionais e diversas entidades com o propósito coletivo e protecionista.

### **1.2.5 Biotecnologia e Biossegurança moderna**

A Biotecnologia moderna busca inovação, melhorias, ciência e tecnologia e a Biossegurança moderna é regida no princípio da precaução e prevenção.

A Biotecnologia moderna é uma ciência multidisciplinar em busca de novas tecnologias, novos medicamentos, novos diagnósticos, agronegócio, maiores eficiências na produção de alimentos e produtos industriais e outros negócios. O objetivo é manipular agentes biológicos e aperfeiçoá-los no foco de prestação de serviços para melhorar a qualidade de processos já existentes ou geração de inovações tecnológicas. Convém esclarecer que uma tecnologia vem da ação humana diretamente sobre coisas, pessoas e animais que não se restringem a apenas eventos contemporâneos e sim consequências futuras e fins imprevisíveis.

É importante frisar a diferença entre a biotecnologia clássica com a moderna. A clássica veio da antiguidade de forma acessível, focada no princípio da fermentação e técnicas laboratoriais simples. Normalmente ligada ao aprimoramento de um bem ou serviço com técnicas físico-químicas e biológicas naturais. Diferente da biotecnologia moderna, que conta com intervenções genéticas e técnicas restritas a cientistas e pesquisadores formados para tal finalidade com sólidos conhecimentos científicos.

Para uns a biotecnologia moderna é vista como uma atividade perigosa e antinatural. Para outros, é vista como uma intervenção necessária visando a resoluções de problemas. Seu uso vai desde a alteração de um genoma animal para produção de mais leite ou carne, na indústria alimentícia, na recuperação de área degradada e na fabricação de novos medicamentos e vacinas.

Dessa forma, os riscos biotecnológicos das atividades são pautados na facilitação da vida do ser humano que podem levar a grandes desastres ou não, de forma imediata ou futura.

A Biossegurança moderna é um conjunto de regulamentos políticos e ações públicas e privadas que convergem com atos jurídicos e focados nos riscos conhecidos e nos riscos

potenciais. A tendência moderna da Biossegurança precisa levar em conta a ignorância relacionada ao ambiente de trabalho e novas tecnologias modernas, com o propósito de evitar danos graves e até irreversíveis para o meio ambiente, saúde humana e animal e fatores de hereditariedade.

Nesse contexto de riscos potenciais, a Biossegurança moderna tem ressaltado a questão da ignorância, do desconhecido e dos riscos desacompanhados. Um bom exemplo é a introdução da Inteligência Artificial nas fábricas modernas, gerando um novo risco chamado de robótico. Constantemente notícias de robôs atuando em atividades antes de mão humana são constantes e alguns acidentes fatais ocorrem com essa nova tendência. Outra questão está no largo uso de produtos de derivados de OGMs que tomam espaço na rotina alimentar da população, com as dúvidas de transferência horizontal de genes alterados.

Visando o avanço da Biotecnologia moderna, em outubro de 2023, o Brasil em conjunto com Argentina, Uruguai e Paraguai criam a Rede e Agência Internacional de Biossegurança de Produtos Derivados da Biotecnologia Moderna (ABRE-Bio), que estabelece procedimentos para redução de custos e avaliação de riscos de OGMs e a regulação de produtos derivados de Novas Tecnologias de Melhoramento (NBTs) e de produtos da biotecnologia moderna.

MEDIDAS DE BIOSSEGURANÇA

2.1 CLASSIFICAÇÃO DE RISCOS

Com a Revolução Industrial de 1970 somado com as pandemias virais de 1979, eventos que impactaram o planeta e atingiram milhares de trabalhadores de diversas atividades em todo o planeta, inicia uma nova política de riscologia. Nos ambientes fabris eram comuns registros de mortes e acidentes com incapacidade permanente, obrigando aos governos intercederem e imporem normas focadas na saúde do trabalhador. Assim, nasceram os órgãos de apoio aos trabalhadores, sendo no Brasil, o Ministério do Trabalho e Emprego (MTE) responsável por regulamentar e fiscalizar atividades de trabalho.

Uma das funções do MTE é elaborar diretrizes e políticas, fiscalizar, profissionalizar, impor regras e dar assistência. Uma das questões mais importantes oriundas da atuação desse órgão é a normalização de riscos.

Os riscos do trabalho é um dos pilares da Biossegurança e foram divididos segundo a natureza química, biológica, física, ergonômica e fatores que culminam de forma acidental, inclusive psicológica. Essa classificação auxiliou a compreensão do ambiente de trabalho padronizou cores através de cada risco.

O Grupo 1 foi padronizado a cor verde que trata de riscos físicos, o Grupo 2 recebeu a cor vermelha e trata de riscos químicos, o Grupo 3 possui a cor marrom que trata de riscos biológicos, o Grupo 4 com a cor amarela que se refere aos riscos ergonômicos e por último, o Grupo 5 da cor azul que trata dos riscos de acidente. As cores e os grupos de risco estão normalizados e descritos na Portaria n. 25: 1994 do MTE e agrupados no Quadro 1 a seguir:

Grupo 1 Riscos físicos	Grupo 2 Riscos químicos	Grupo 3 Riscos biológicos	Grupo 4 Riscos ergonômicos	Grupo 5 Riscos de acidentes
Ruído, radiação, vibração, calor e frio, pressão e umidade.	Poeira, névoa, gases, vapores, neblinas, entre outros.	Bactérias, fungos, vírus, protozoários e outros.	Postura inadequada, levantamento de peso, trabalho repetitivo, estresse físico e psicológico, entre outros.	Iluminação, incêndio, explosão, maquinário desprotegido, entre outros.

Fonte: Autores

2.1.1 Riscos biológicos

Os riscos biológicos deram início a Biossegurança clássica e é considerado como a probabilidade da exposição ocupacional a algum agente biológico. Para fins de normalização, a NR 32: 2005 – Segurança no Trabalho em Serviços de saúde considera-

se agentes biológicos: culturas de células, microrganismos, organismos geneticamente modificados, parasitas e suas toxinas, código ou partes do código genético como os príons (NR 32, 2005).

O risco então é relacionado no teor do impacto de um agente agressor contra a saúde do trabalhador. Assim foram classificados níveis de riscos e as condutas a serem seguidas de acordo com a classificação através do Ministério da Saúde em integração com o MTE. A classificação do Ministério da Saúde (Brasil, 2010) é distribuída em:

Classe de risco 1 (baixo risco individual e para a comunidade): inclui os agentes biológicos conhecidos por não causarem doenças no homem ou nos animais adultos sadios. Exemplos: *Lactobacillus sp.* e *Bacillus subtilis*. • Classe de risco 2 (moderado risco individual e limitado risco para a comunidade): 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 terapêuticas e profiláticas eficazes. Exemplos: *Schistosoma mansoni* e Vírus da Rubéola. • Classe de risco 3 (alto risco individual e moderado risco para a comunidade): inclui os agentes biológicos 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. Exemplos: *Bacillus anthracis* e Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). • Classe de risco 4 (alto risco individual e para a comunidade): inclui os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade 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 os vírus. Exemplos: Vírus Ebola e Vírus Lassa (BRASIL, 2010, pag 17).

### 2.1.2 Riscos químicos

Os riscos químicos são praticamente oriundos do uso de substâncias químicas no ambiente de trabalho, ou o lançamento de despejos e resíduos contendo contaminantes que gerem impacto ambiental. A vida moderna traz a necessidade de processos industriais que contêm esses químicos, o uso de agrotóxicos, geração de resíduos sólidos e líquidos de diversas fontes, que isolado ou em misturas, podem acarretar riscos para o trabalhador, vida humana e animal e meio ambiente.

Podem se apresentar como gases, vapores, neblinas, fumos, poeira, sais, líquidos, etc, induzindo risco de explosão, asfixia e morte. A exposição pode ser de efeitos diretos e indiretos, trazendo ações deletérias das quais se incluem, irritação, asfixia, anestesia, efeitos respiratórios agudos e crônicos, incapacidade reprodutiva, indução de câncer e outras doenças, corrosão, abrasão e perda de visão e muitos outros quadros.

As substâncias corrosivas como ácidos e álcalis podem atingir pele, mucosas, pulmões gerando feridas extensas e perdas graves de conteúdo celular e até a morte.

Poeiras totais e respiráveis causam diversas doenças de obstrução dos alvéolos pulmonares e brônquicos como, por exemplo, sílica que induz a doença silicose e pneumonia.

O ambiente de trabalho pode trazer exposição a compostos orgânicos diversos, sendo alguns classificados como carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos, citotóxicos e compostos inorgânicos que atingem diversos órgãos, que obstruem os alvéolos pulmonares, como poeiras e metais pesados. Alguns compostos possuem efeitos sedativos, alucinógenos e viciantes, além de bloquear metabolismo ou ciclos fisiológicos importantes, como cianetos e monóxido de carbono.

Alguns solventes orgânicos causam impacto diretamente no sistema nervoso central de forma alucinógena e viciante ou bloqueios de reações importantes para a manutenção da vida, como por exemplo, os compostos de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX) que fazem parte do grupo da química orgânica, hidrocarbonetos monoaromáticos, são oriundos do petróleo, e responsáveis por severos danos à saúde e bem-estar do trabalhador.

Nesse contexto, o benzeno, enquadrado como uma substância orgânica aromática de alta periculosidade, perdendo apenas para polônio, cianetos, estricnina e metais radioativos, sendo o composto com as maiores ações no organismo, citotóxico, mutagênico, carcinogênico, teratogênico, acumulativo, analgésico e viciante sendo, portanto, proibida em qualquer ambiente ocupacional, segundo o MTE, a partir de 1997, exceto para uso em laboratórios, combustíveis e derivados e síntese química.

O controle desse risco está em medidas minimizadoras como utilização de equipamentos de proteção individual (EPI) e equipamentos de proteção coletiva (EPC), bem como treinamentos para manuseio, transporte, armazenamento e descarte, respeitando a incompatibilidade, sistemática de identificação, sinalizações, simbologia e descarte adequado dos mesmos, são medidas de segurança adequadas e necessários em ambientes que possuam químicos.

### **2.1.3 Riscos físicos**

Esses riscos são oriundos, por exemplo, de fontes de energia, temperatura, ruído, pressão anormal, vibrações, radiações, luminosidade e umidade.

O ruído, contínuo ou pontual, pode ser produzido por equipamentos, maquinários, veículos, construção, ou qualquer fonte de poluição sonora que ao atingir níveis excessivos, causam severos prejuízos de forma gradual ou imediata, levando a perdas auditivas.

As vibrações são comuns em ambientes fabris, mas podem estar presentes na maioria dos laboratórios e empresas menores. O impacto ao organismo gerado pela

vibração abrange principalmente complicações neurovasculares, dores crônicas, lesões neurodegenerativas, câncer, osteoporose e morte.

As radiações são bem comuns em usinas nucleares, centros de diagnósticos por imagens e nos estabelecimentos de radioterapias. As radiações são oriundas de núcleos de elementos químicos contendo alto peso molecular ou de forma induzida de forma a liberar partículas, ondas eletromagnéticas e os raios-X.

Dessa forma, os riscos físicos da radiação são divididos em não ionizantes e ionizantes. As radiações não ionizantes são amenas e altamente utilizadas em diversas áreas de produção, como por exemplo, o infravermelho, micro-ondas, ultravioleta e laser. Esses riscos causam conjuntivites, cataratas e queimaduras, porém, a radiação ultravioleta pode ocasionar mudanças de DNA. A radiação ionizante, como por exemplo, raios-X e emissão gama, tem caráter agressivo e provocam deformidades, mutações e desenvolvem câncer.

Temperaturas altas e baixas são comuns em fábricas de alimentos, indústrias de medicamentos, setores de pinturas em veículos, fornalhas, construção, e muitos outros processos, e são extremamente danosos para a saúde do trabalhador. O calor causa fadiga, desidratação, ocorrências cardio/circulatórias, distúrbio psiconeurótico, insolação e sonolência. A baixa temperatura causa hipotermia, necrose, artrose, reumatismo, doenças respiratórias e até perda de membros.

Serviços com pressões anormais são aquelas que estão fora da normalidade atmosférica, sendo baixa e alta. A pressão baixa ocorre em serviços que estão em grandes altitudes e as altas pressões são aquelas relacionadas a mergulhos, escavações e tubulações. A mudança de pressão ocasiona o rompimento do tímpano e em casos graves, a liberação do gás nitrogênio pela solubilidade, descrita na Lei de Henry, tornando o mergulho um risco a ser controlado, pois pode ocasionar à morte.

Ambientes com altas umidades normalmente acomete fungos patógenos, como por exemplo a aspergilose e micoses de pele e também doenças respiratórias como bronquites, asma, rinites e desenvolvimento de doenças pulmonares obstrutivas construtivas (DPOC).

#### **2.1.4 Riscos ergonômicos**

Ergonomia e seus riscos são os fatores mais comuns em todos os tipos de empreendimentos e é a maior causa de afastamento do trabalhador. Segundo o MTE (BRASIL, 1978):

As condições de trabalho incluem aspectos relacionados ao levantamento, transporte e descarga de materiais, ao mobiliário, aos equipamentos e às condições ambientais do posto de trabalho e à própria organização do trabalho. São considerados riscos ergonômicos: esforço físico, levantamento de peso, postura inadequada, controle rígido de produtividade, situação de estresse, trabalhos em período noturno, jornada de trabalho prolongada, monotonia e repetitividade, imposição de rotina intensa. Os riscos ergonômicos

podem gerar distúrbios psicológicos e fisiológicos e provocar sérios danos à saúde do trabalhador porque produzem alterações no organismo e estado emocional, comprometendo sua produtividade, saúde e segurança, tais como: LER/ DORT, cansaço físico, dores musculares, hipertensão arterial, alteração do sono, diabetes, doenças nervosas, taquicardia, doenças do aparelho digestivo (gastrite e úlcera), tensão, ansiedade, problemas de coluna. (BRASIL, 1978 pg1).

A visão na segurança ocupacional é adaptar as melhores condições de um ambiente para preservar as características psicofisiológicas do trabalhador exposto, propiciando o melhor conforto e segurança. A repetitividade de uma função determinada acarreta doenças levando à fadiga dos músculos e ossos gerando inflamações, conhecidas como bursites, tendinites e dores crônicas.

As maiores reclamações trabalhistas são lesões por esforço repetitivo (LER), distúrbios osteomusculares de repetição do trabalho (DORT) e dores crônicas na região do pulso, coluna e ombros ocasionados por posturas inadequadas. A desorganização e desordem de um local de trabalho também é uma questão ergonômica que causa irritabilidade, dores estomacais e cardiovasculares e dores de cabeça, bem como fatores psicológicos e ritmo excessivo de horas extras, que estão enquadrados como ergonômicos, porém, com a tendência mundial de crises de depressão e ansiedade, geradas pela tecnologia atual e vícios virtuais, a biossegurança moderna deve se atentar para um mundo novo e uma nova categoria de riscos virtuais será necessária a serem tratados em ambiente ocupacional.

### **2.1.5 Riscos de acidente**

Os riscos de acidentes são os capazes de causar danos imediatos e colocam o trabalhador em perigo, podendo ser a sua integridade física como moral. Segundo o MTE (1978):

São considerados como riscos geradores de acidentes: arranjo físico deficiente; máquinas e equipamentos sem proteção; ferramentas inadequadas; ou defeituosas; eletricidade; incêndio ou explosão; animais peçonhentos; armazenamento inadequado. Muitos são os fatores que causam acidentes, como condições ambientais e prediais, arranjo inadequado de maquinários, desorganização, equipamentos sem proteção ou sinalização de segurança, ferramentas inadequadas, falta de manutenção preventiva, instalação elétrica inadequada e sobrecarregada, armazenamento incompatível de produtos, ausência de sistemas de incêndio, entre outros. (Brasil, 1978 pg. 1).

Os riscos de acidentes são bem comuns e acometem desde o deslocamento do profissional até o ambiente de trabalho. Para tanto, a tendência atual quando se trata de gestão de riscos e oportunidades, prevenção é o foco das organizações, com implantação de programas internos visando ambientes seguros e saudáveis.



### 2.1.6 Riscos robóticos e inteligência artificial

Em um mundo moderno a robótica já está introduzida e faz parte da nova história nos locais de trabalho, principalmente em indústrias automobilísticas em que os robôs participam ativamente do setor de produção.

Os robôs já são largamente usados, fazendo parte dos riscos e dos aspectos de segurança ocupacional, porém atualmente novas tendências de tecnologias emergentes, trazem a nova realidade. Cada vez mais modernos as aeronaves, drones, exoesqueletos robóticos estão sendo usada em diversos empreendimentos integrada a inteligência artificial. Segundo a Federação Internacional de Robótica, em 2020, foram introduzidos 1,7 milhões de novos robôs em diversas fábricas.

Com essa introdução, consequentemente uma nova era de acidentes, fazem parte da biossegurança moderna. Os controles devem visar boas práticas de trabalho, manutenções rigorosas visando que essa nova tecnologia seja segura. Essa nova tendência traz a hibridização de ambientes com humanos e máquinas no mesmo espaço. Os maiores riscos estão em lesões por impacto seguido de lesões por esmagadura.

Na linha de frente internacional estão o Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH) nos Estados Unidos, Administração de Segurança e Saúde Ocupacional (OSHA) e Associação Industrial de robótica, de forma a unir conhecimentos no intuito de identificar e desenvolver procedimentos seguros associados a robôs e inteligência artificial no ambiente de trabalho. Atualmente os estudos estão no rastreamento e prevenção e próximos passos estão em regulamentação de medidas de segurança e prevenção de acidentes oriundos das novas tecnologias emergentes.
















### 2.1.7 Mapeamento de Risco e gestão de riscos

O gerenciamento de riscos ocupacionais tem o objetivo pautado na prevenção e a garantia de um ambiente seguro, sendo necessária, em atendimento a Norma Regulamentadora NR 01: 2022, a implantação do Programa de Gerenciamento de Riscos (PGR), que integra o gerenciamento de riscos em um ambiente ocupacional, com medidas e ações sistematizadas e multidisciplinares, sendo composto por dois documentos, o Inventário de riscos ocupacionais e o plano de ação, que são medidas de prevenção oriundo do levantamento de riscos.

O mapeamento de riscos, descrita na NR 5, compõe um documento gráfico, que representa de forma visual, os riscos existentes em um determinado ambiente, através de símbolos, que trazem as cores padronizadas e a probabilidade da ocorrência de um risco ocorrer. Nos mapas os círculos são representados com cores e em tamanhos diferentes, pequeno, médio e grande, transmitem os fatores do local para que o visitante ou trabalhador, tenha conhecimento e possa se preparar para situações de perigo, em função de agentes químicos, biológicos, físicos, ergonômicos e acidentes.

Tanto o PGR como o mapeamento de risco, é questão obrigatória pelos regulamentos do MTE, desde que a empresa tenha vários colaboradores internos e externos, em seu quadro de funcionários, ou quando o grau de riscos exija um controle mais rígido. Na mesma NR 5, descreve sobre a Comissão Interna de Prevenção de acidentes (CIPA) e da importância do Serviço especializado em engenharia de segurança do trabalho (SESMT), segundo regulamentos, sendo que em pequenas empresas, pode ser subcontratado serviços externos.

Os documentos devem estar prontamente disponíveis e em lugares visíveis, sendo comum a colocação dos mapas de riscos próximos as portas em conjunto com telefones de emergência e procedimentos internos.

Representação das cores e tamanho da probabilidade					
Tipo	Cor	Elevado	Médio	Pequeno	Exemplos
Biológico	Marrom				Bactérias Vírus Parasitas
Químico	Vermelho				Poeiras Ácidos Bases
Físico	Verde				Radiação Calor Umidade
Ergonômicos	Amarelo				Postura Sobrecarga Repetição
Acidentes	Azul				Incêndio Trânsito Eletricidade

Fonte: Autores

## 2.2 NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA

Devido ao histórico de letalidade de agentes infecciosos em diversos âmbitos empregatícios, principalmente nos estabelecimentos da saúde, os riscos biológicos foram separados e classificados em 5 tipos, a fim de atuar nas questões específicas e atribuindo um nível de biossegurança para cada uma. As classes de riscos são 1, 2, 3, 4 e classe especial e os níveis de biossegurança são 4 e de ordem crescente de virulência, de forma a organizar o grau de ação visando o operador, meio ambiente e comunidade. A classe de risco especial está mais relacionados aos OGMs.

O nível de Biossegurança 1 (NB-1), risco biológico 1, é a classe de baixo risco tanto para os operadores como para o meio ambiente. As atividades são realizadas sem nenhuma medida de contenção. Os treinamentos e competência profissional são para práticas de controle de qualidade, limpeza e higiene local. O acesso a esse laboratório não é restrito e as superfícies seguem o padrão de limpeza comum em empreendimentos. Os resíduos devem ser descartados de acordo com as normas de resíduos classe 2/ D/comum.

O nível de Biossegurança 2 (NB-2), risco biológico 2, já representa algum risco biológico para os operadores e baixo risco ao meio ambiente. É exigido treinamento mais rigoroso em boas práticas e condutas de segurança ocupacional, manejo e destinação de resíduos gerados. O nível de responsabilidade aumenta em controles e indicadores de gestão, bem como acesso restrito a algumas áreas. Procedimentos em biossegurança são obrigatórios e acessíveis ao pessoal operacional. Nesse nível de biossegurança devem ser contemplados aerossóis infecciosos ou químicos e por isso, é obrigatório o uso de equipamentos de proteção coletiva, bem como o uso de equipamentos de proteção individual. É obrigatório um responsável técnico que verifique as atividades e avalie a conduta dos colaboradores. É proibida a entrada de animais e os resíduos devem ser destinados em locais licenciados e seus certificados de destinação, devem ser apresentados para o órgão ambiental local. Quando ocorre derramamento, deve-se proceder à retirada com desinfetantes descritos no manual de biossegurança e todos os envolvidos devem ter ciência de todo o conteúdo dos procedimentos aplicados.

O nível de Biossegurança 3 (NB-3), risco biológico 3, representa um alto risco ao trabalhador e médio risco para o meio ambiente. Nesse nível, já se trata de doenças letais e o pessoal operacional deve ser vigorosamente treinado e com supervisão constante. É imprescindível a presença de cabines de segurança biológica. É restrito a entrada de pessoas, animais, crianças e menores de 18 anos, bem como alimentos. Outros requisitos obrigatórios pela CTNBio são descarte seguro de qualquer material produzido em empresas licenciadas através de incineração, rotina diária de limpeza e controles de fluxos de entradas e saídas, uso de lâmpadas germicidas, descontaminação rígida e uso de sabonetes germicidas, trocas de roupas, esterilização obrigatória, paredes rígidas e pintura lavável, uso de respiradores, filtração de correntes de ar, sistema de dupla porta

nas entradas e em corredores com dispositivos de fechamento automático. As bancadas e mesas devem ser rígidas, lavável e de fácil higienização e outros regulamentos específicos solicitados pela Vigilância Sanitária estadual e municipal.

O nível de Biossegurança 4 (NB-4), risco biológico 4, representa alto risco para o meio ambiente, comunidade, operador e nesse nível, é incluído o risco especial, aqueles que envolvem alto impacto ambiental para flora e fauna. Nesse nível nenhum objeto sai do ambiente de contenção sem que aja descontaminação e esterilização. O ambiente possui câmara de fumigação e um sistema antecâmara pressurizado. Apenas pessoas autorizadas possuem acesso às áreas de contenções e suas portas são fechadas e bloqueadas automaticamente. Nesses locais, possuem cepas de organismos letais e altamente infecciosos e apenas os pesquisadores, equipe de segurança e exército tem acesso às áreas. Todos são altamente treinados e protocolos de sinalização são seguidos à risca, com a presença de equipe médica constante e espaço para isolamento e quarentena, caso seja necessário. O sistema de respiração é externo, uso de cabines com filtração de ar, e todas as áreas, possuem sistemas de alarme e tanques de oxigênio.

## **2.3 ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS (OGMS)**

Os organismos geneticamente modificados são descobertas poderosas de manipulações genéticas, realizados em níveis laboratoriais e científicos. Os primeiros relatos foram em meados dos anos 70, pelos cientistas Boyer e Cohen, que inseriram genes de sapos em bactérias. Essa descoberta moldou, nos anos seguintes, a indústria de alimentos, que visou produzir mais sementes e frutos, na mesma planta e com resistência a pragas e insetos, e por consequências melhores colheitas a menores custos.

Desde então esses produtos modificados tomaram proporções planetárias e já estavam nas mesas de diversos países. Com isso, foram estabelecidos grupos contrários com hipóteses do potencial cancerígeno, novas doenças, alergias e possível eliminação da mata nativa. Em contrapartida, a redução do uso de pesticidas aliado com a crise mundial de falta de alimentos e miséria, fomenta o uso dos OGMs.

Essas discussões sobre biodiversidade fazem parte da biossegurança moderna e biotecnológica, sendo necessário apoio da ciência para estudos relacionados o longo e curto prazo. É necessário a compreensão dessa tecnologia de DNA recombinante e seus impactos na evolução das espécies, pois a engenharia genética origina organismos que não se formariam nas condições naturais e que essa manipulação busca apenas o benefício os seres humanos.

Na década de 80 mais de 50 plantas modificadas do tabaco eram comercializadas no Brasil. Atualmente o milho e a soja são os OGMs mais cultivados no mundo, com alteração na resistência a diversos insetos e isso justifica seu amplo comércio. Atualmente a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) atua na produção de espécies

de milho e outras sementes resistentes às mudanças climáticas e as pragas, e visando o programa de aceleração do país e melhoramento genético.

A biossegurança moderna atua na avaliação desses riscos alimentares e em seu Guia Internacional para a Segurança em Biotecnologia, documento disponível e de acesso ao público, traz os possíveis efeitos associados como alergias, assimilação nutricional, toxicidade para o organismo e uma remota transferência horizontal de genes. Os dados são levantados de forma confiável e contribuem para avaliação futura em longo prazo. Os dados já trazem baixo ou nenhum efeito ao organismo humano e alto risco para o meio ambiente, com a transferência de genes de resistência e eliminação de plantas naturais.

Os níveis de biossegurança são atrelados à classe de risco especial, pois os cuidados a serem tomados são de estabilidade genômica, chamada de atividade pleiotrópica, e os riscos são divididos em alimentar, ecológico e agro-tecnológico.

Os riscos alimentares são classificados como os imediatos, podendo ser causados por proteínas alergênicas ou tóxicas, efeitos pleiotrópicos das proteínas transgênicas da planta, efeito de superacumulação de pesticidas e seus metabólitos, transferências horizontais para animais, humanos e até vírus.

Os riscos ecológicos envolvem a diminuição de variedades de culturas, plantas ancestrais e perda de matriz genética natural, transferência através de polinização cruzada com plantas selvagens de proteínas tóxicas para insetos, impactando os níveis tróficos de toda cadeia alimentar e até a criação de um novo vírus oriundo de uma planta que recebeu cápsulas virais.

Os riscos agro-tecnológicos envolvem mudanças imprevisíveis de efeitos pleiotrópicos, disfunção do OGM ao longo do tempo, produção de sementes fora do programado ou que se tornem culturas exterminadoras de agentes polinizadores ou de outras culturas.

De acordo com os riscos específicos os níveis de biossegurança para OGMs foram divididos em nível 1 (NBGE-1), nível 2 (NBGE-2) e nível 3 (NBGE-3). Em todos os níveis o descarte dos experimentos deve ser realizado via incineração. O nível de biossegurança NBGE-1 é para pequenas culturas de contenção primária possuindo procedimentos adequados ao nível. O NBGE-2 o ambiente é projetado para que não ocorra nenhum vazamento de material. O ambiente possui sistema de ventilação com filtros altamente eficientes. Obrigatório uso de símbolos e possuir sistemas de contenções. Todo incidente e acidente é comunicado a CTNBio. O NBGE-3 segue todas as recomendações dos outros níveis, e com requisitos próprios, sendo que as áreas são pressurizadas e confinadas. Todas as áreas são delimitadas, com sistema dupla porta, antessala, antecâmara e diversas áreas restritas.

## AGENTES DE CONTROLE MICROBIANO

### 3.1 HIGIENE E LIMPEZA

A higiene e limpeza são práticas de extrema relevância para a Biossegurança e boas práticas profissionais e de laboratório em todos os níveis organizacionais. Com o crescimento da Microbiologia e consequentemente da Biossegurança, a higiene deixa de ser apenas algo pessoal e restrito, tomando proporções maiores e serem procedimentos regulamentados visando a saúde profissional, coletiva e ambiental.

Após o período pandêmico de 2019 de SARS-CoV-19 as regras de higiene objetivaram a proteção coletiva e as melhores condutas de limpeza, desinfecção e sanitização. As práticas se tornaram rigorosas e obrigatórias em todos os estabelecimentos mudando a criticidade e transformando a Biossegurança não como apenas atuação em ambientes de saúde, mas também para qualquer ambiente de circulação de pessoas. Os procedimentos usados em ambientes de instrumentos cirúrgicos, Unidades de tratamento intensivo, iniciaram seu uso em mercados, escolas, aeroportos e essas práticas de mantém até nos dias atuais, no intuito de evitar proliferação de microrganismos diversos. Até nos dias atuais o uso de máscaras, limpeza de pés e mãos, faz parte da nova rotina moderna.

Os métodos de higiene e limpeza mais utilizados são a desinfecção e esterilização de materiais, insumos, objetos, mãos e ambientes. A higienização das mãos é uma medida simples e mais eficaz na transmissão de doenças comuns, de acordo com o Ministério da Saúde. Entretanto, deve ser realizada de forma adequada para que seja eliminado o maior número possível de organismos indesejados, sendo divulgado pelas vigilâncias locais, demonstrativos, folders e cartazes no intuito de treinar a população para o correto procedimento.

### 3.2 CONTROLE MICROBIANO

O controle microbiano iniciou nas práticas de Louis Pasteur e significa a busca da redução de carga microbiana, através da morte, perda de reprodução, inativação, bloqueio celular, destruição de membranas, enzimas, proteínas, através de processos químicos e físicos e atualmente, enzimáticos e biológicos.

A morte microbiana está relaciona a múltiplos fatores como quantidade populacional, influências ambientais, disponibilidade de nutrientes, densidade e fluidez do meio, reserva energética, mecanismo de adaptação e resistência do microrganismo. A taxa de morte ou redução deve ser quantificada por números estatísticos através da contagem da população sobrevivente após o uso de um processo destrutivo. A consideração final foi padronizada pela contagem em culturas realizadas em laboratórios de microbiologia e a verificação objetiva que o agente agressor sofreu bacteriostase, que é o termo que reflete a inibição de crescimento e multiplicação.

Os métodos a serem adotados devem levar em conta sua rapidez e eficiência, com métodos atóxicos, estáveis, sem geração de impactos negativos e com melhores custos. Os procedimentos para redução de carga microbiana são amplamente utilizados em diversos empreendimentos e estão descritos na tabela a seguir.

Procedimento	Definição	Exemplos
Desinfecção	Redução do número celular, bloqueio de reprodução, conduz a microbiota na forma vegetativa.	Uso de métodos físicos e químicos. Uso de lâmpadas germicidas.
Esterilização	É a destruição ou remoção de qualquer forma de vida microbiana, na qual inclui os endósporos. Alguns príons podem suportar a esterilização a valor e calor seco.	Uso de ozônio, gás etileno e autoclavação sob pressão de vapor quente.
Antissepsia	Bloqueio de organismos vivos para a forma vegetativa em tecidos vivos.	Uso de antimicrobianos como por exemplo, álcool 70%, em coletas de sangue ou aplicação de injeções.
Sanitização	Limpeza e tratamento para reduzir a população microbiana em utensílios e objetos de uso coletivo a níveis seguros para a saúde pública.	Limpeza com água quente, uso de desinfetantes e sabões antimicrobianos de pratos e talheres.
Degerminação	Remoção de microrganismos através de limpeza de uma área específica utilizando produtos desinfetantes ou aplicação de produtos.	Aplicação de produtos com fricção em áreas específicas, uso de pesticidas, borrifamento de álcool 70% de paredes em escolas.
Assepsia	É um ambiente livre de agentes microbianos. O termo asséptico determina que um meio ou área esteja livre de patógenos.	Capelas de segurança biológica, câmeras assépticas, flambagem de materiais de microbiologia.

Fonte: autores.

### 3.2.1 Desinfecção

A desinfecção é uma prática constante em Biossegurança e eficiente na redução da contagem de células de um agente microbiano, ou seja, ela não elimina por totalidade, mas mantém em níveis seguros. A antissepsia visa inibir o crescimento em um tecido vivo para um procedimento específico e essa contenção se faz com agentes antissépticos e desinfetantes.

Dependendo do risco biológico em um ambiente, é necessário o uso de agentes de baixo, médio e alto nível de ação, sendo que os níveis de biossegurança 3 e 4, as medidas a serem adotadas devem impedir a disseminação de potenciais agressores biológicos no ambiente do trabalho, bem como o ambiente externo.

### 3.2.2 Esterilização

Alguns ambientes têm tanto rigor nos cuidados de higiene que são chamados de áreas limpas e áreas protegidas e normalmente, possuem lâmpada ultravioleta (UV), sistemas de filtração de ar de alta eficiência e uso de esterilização como meio de destruição de inclusive endósporos bacterianos. Os endósporos são formas de adaptação e resiliência de uma bactéria em resistir ao ambiente hostil, formado uma estrutura rígida resistente a intempéries, encontrada facilmente no grupo das bactérias Firmicutes, como por exemplo, o gênero *Clostridium*. A esterilização é eficiente contra endósporos, porém quando ocorre o uso de vapor e calor seco, não possui eficácia contra os príons, sendo relatada pela comunidade científica, que apenas a técnica de ozônio, possui efetividade de destruição.

Os príons são partículas proteicas infecciosas, não possuindo ácidos nucleicos como um agente infeccioso comum, é apenas uma proteína variada ou aberrante, formando uma isoforma da proteína PrP, que provoca as chamadas doenças priônicas, que quase pela totalidade, causam encefalopatias espongiformes, neurodegenerativas fatais em mamíferos e aves, como por exemplo a Encefalite bovina, conhecida como doença da vaca louca, que é inclusive transmitida para seres humanos.

O objetivo da esterilização é eliminar a microbiota de objetos, utensílios, materiais, equipamentos, meios de culturas, alimentos, matrizes biológicas em geral, chegando à probabilidade praticamente nula de sobrevivência de bactérias, fungos, vírus, protozoários, OGMs e esporos. Os tipos de esterilização são divididos em: esterilização com vapor, calor seco, gás e radiação ionizante.

A esterilização a vapor é a técnica de vapor saturado em alta temperatura e pressão em câmara conhecida como autoclave. Esse processo promove a desnaturação de enzimas inativando o microrganismo a uma temperatura padronizada de 121° C pelo tempo mínimo de 15 minutos.

A esterilização através do calor seco tem o objetivo de oxidar organelas e membranas celulares em altas temperaturas e tempo prolongados. Os equipamentos que usam esse processo usam técnicas de incineração, raio infravermelho, estufa de secagem e esterilização e a flambagem, que é o uso do fogo encandeceste em partes metálicas.

A esterilização a gás possui o princípio do uso de uma substância volátil que atinja as membranas, penetre na célula, desestruture o código genético, altere o potencial hidrogeniônico (pH) de forma a bloquear o crescimento em nível intracelular. O óxido de etileno e o ozônio são bons exemplos dessa técnica, com o mecanismo de penetração de suas moléculas ativas na membrana plasmática de forma a causar exposição e transbordamento do líquido intracelular e desmembra moléculas importantes para a sobrevivência do agente microbiano.

O ozônio (O<sub>3</sub>) é um gás altamente oxidante com capacidade de fragmentar moléculas diversas, de alto ou baixo peso molecular, possui a capacidade de clivar ligações duplas e



triplas entre carbonos de forma a dissociar elementos relevantes no ciclo de vida de todas as células existentes no planeta.

Essa capacidade foi percebida na primeira guerra mundial quando um hospital na Inglaterra iniciou o seu uso para curar as feridas dos soldados contra fungos, bactérias e vírus com excelentes resultados. Atualmente essa técnica é chamada de ozonioterapia, que é o método farmacológico e clínico de tratamento alternativo medicinal e desde os primeiros relatos, mostram a eficácia de feridas e infecções cutâneas por apenas alguns minutos de exposição.

A terapia de ozônio, atualmente conta com uma coletânea de formas e aplicações diversas, aos quais incluem várias estratégias de uso e tratamento em áreas complexas, infecções crônicas, micoses, feridas diabéticas, em aplicação direta ou líquidos aquosos ou até óleos.

No período pandêmico o ozônio tomou força e foi amplamente estudado e utilizado como agente para desinfecções rápidas de ambientes, ou processos mais elaborados como pulverização, equipamentos e câmaras para fins de esterilização. A eficiência medida mostra a ausência de crescimento garantida em 15 minutos de exposição e os efeitos de remoção de poluentes em efluentes industriais e domésticos em até 1 hora de contato, conforme a figura 01.

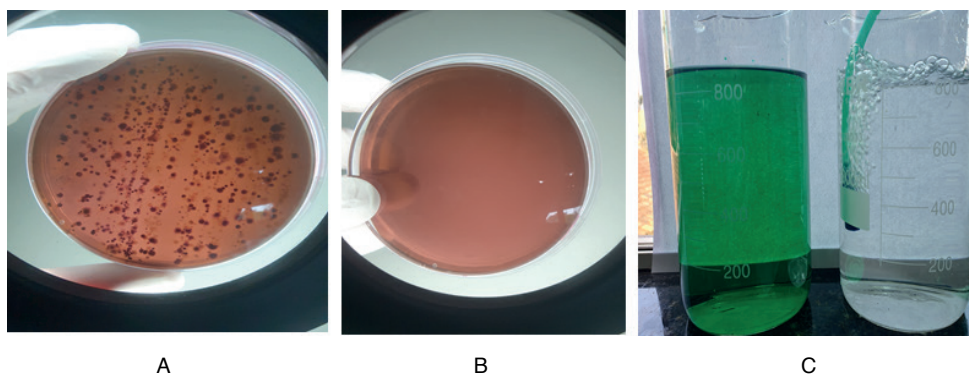


Figura 01: A: Placa microbiológica contendo bactérias do ambiente antes do contato com o ozônio. B: Placa microbiológica com ausência de crescimento após 15 minutos de exposição de ozônio. C: Cubas testes com a demonstração da eficiência de eliminação da cor e poluentes pela quebra de compostos químicos em apenas 1 hora.

Fonte: autores.

O Ozônio age na permeabilidade da membrana plasmática diretamente nas proteínas presentes, chamadas de porinas, que fazem a ponte entre o ambiente interno e externo, onde as substâncias entram e saem. Quando ocorre alteração a célula, ela perde seu conteúdo, ou entra em estado vegetativo, ou simplesmente não consegue assimilar os nutrientes necessários para seu ciclo de vida.

A principal característica do ozônio, que o conduz como melhor agente oxidante do planeta, está pelo fato de causar danos aos ácidos nucleicos DNA e RNA, que são a aparelhagem enzimática de todos os organismos e esse apetrecho é conquistado por ligações químicas covalentes que mantêm a estrutura quaternária, terciária e secundária de todas as proteínas, onde é o alvo dos íons ativos do ozônio, restando perda de estruturas e função e consequentemente, a morte celular.

A esterilização com radiação ionizante tem enorme vantagem por seu uma técnica de temperatura baixa, sendo usada em materiais sensíveis como alimentos e os OGMs. A radiação provém da emissão de núcleos instáveis de elementos químicos com número atômico maior ou igual a 83, liberando partículas e ondas eletromagnéticas ou por indução externa, como é o caso dos Raios-X.

As emissões mais usadas são a partícula beta, fótons, ondas gamas e raios-X de extrema eficácia e potência.

A esterilização, portanto é um dos melhores métodos, porém nem sempre necessário e substituído pela antisepsia, desinfecção, degerminação e sanitização.

### **3.2.3 Antisepsia, degerminação, sanitização e assepsia.**

A antisepsia é a destruição de germes na pele e tecidos sob o efeito de um agente químico com potencial germicida e que não cause alergia no local aplicado. Um dos antissépticos mais utilizados no mundo é o álcool 70%, e padronizado pelos protocolos da OMS para fins de biossegurança em tempos de pandemias, sendo de obrigação em todos os comércios, escolas, mercados, empreendimentos da saúde e os demais, banheiros de todas as atividades com aglomerações de pessoas, aeroportos e afins.

Outros antissépticos de amplo uso é o iodo, clorexidina e hexaclorofeno, pois são excelentes bactericidas e antifúngicos de efeito imediato tanto na desnaturação da proteína como coagulação externa.

A degerminação é uma antisepsia em um local delimitado que pode ou não ser um tecido vivo. Alguns sabões aniônicos possuem o desempenho chamado ação germicida e por isso são classificados como degermantes. Dessa forma, lavar as mãos com sabonetes aniônicos é uma degerminação que pode ser somada com o uso de antissépticos para uma antisepsia completa.

A sanitização é um procedimento posterior a uma desinfecção. A desinfecção visa à eliminação em superfícies em geral, móveis, utensílios, vidrarias, equipamentos, chão, paredes, tetos e todas as áreas dos serviços da saúde e dos ambientes controlados pela Vigilância Sanitária, mas não elimina na totalidade. A sanitização é a redução de vetores como ácaros, insetos, piolhos e germes que persistiram no local, visando o controle de doenças respiratórias, controle de infecção hospitalar, conservação laboratorial e de alimentos e outros. A técnica é aplicação de produtos químicos formando uma película,

tratando e protegendo por um tempo determinado. Normalmente são usados os compostos de dióxido de cloro, hipocloritos, quaternários de amônio e ácido peracético com o intuito de promover a oxidação e danos na membrana plasmática e até inibir a replicação de DNA.

A assepsia são medidas e ações que impeçam a chegada de qualquer germe em um ambiente limpo, ou seja, uma área asséptica significa que é isento de microrganismos. É diferente da antisepsia que ações de inibição de crescimento e remoção a assepsia é um bloqueador de qualquer contaminação. Áreas limpas são ambientes assépticos que visam manipulação de culturas e OGMs, soluções, vacinas, materiais e objetos estéreis e procedimentos microbiológicos e científicos.

### 3.3 AGENTES DE CONTROLE MICROBIANO

A ação de agentes de controle microbiano visa causar mudanças de proteínas e alterações no citoplasma ou organelas, inativação de proteínas e enzimas, bloqueio de sítio ativo, coagulação ou desnaturação de enzimas ou código genético RNA e DNA, atravessar membrana e promover o transbordamento intracelular ocasionando a lise celular, romper o equilíbrio osmótico promovendo perda de água ou sais ou até o bloqueio de entrada de nutrientes.

O crescimento microbiano é controlado também por fatores externos, como a disponibilidade de nutrientes, temperatura, umidade e fatores de pH.

A temperatura da maior parte dos organismos terrestres está entre -5° C até 80° C, sendo que os alvos da Biossegurança clínica, estão nos causadores de patologias, sendo quase pela totalidade, os mesófilos. Portanto, temperaturas acima de 60° C, normalmente já ocasionam danos severos nas paredes membranosas ou em temperaturas baixas, conservam e bloqueiam seu crescimento. Por isso, vacinas, medicamentos, bolsas de sangue são mantidos e transportados em temperaturas baixas a fim da garantia da qualidade do produto.

Em baixas temperaturas os microrganismos se tornam dormentes, sendo o processo de congelamento e descongelamento o fato mais nocivo para a boa parte das bactérias, pois a formação de cristais de gelo rompem estruturas membranosas e celulares. Porém, a grande maioria dos micróbios consegue resistir temperaturas negativas e ao descongelamento, como é o caso do gênero *Listeria* e *Salmonella* e a maioria dos vírus.

Produtos químicos são largamente utilizados em diversas áreas e são agentes ideais de controle microbiano em águas para consumo humano, limpezas de ambientes do ramo da saúde, controle de doenças de veiculação hídrica e alimentícia e outros, fazendo parte dos métodos químicos.

### 3.3.1 Métodos químicos

Os métodos químicos são compostos inorgânicos e orgânicos utilizados na redução da carga microbiana, classificada como agente antimicrobiano de origem natural ou sintética, que inibe ou inativa o crescimento do microrganismo. Biocidas são agentes que se ligam ou aderem de forma irreversível em alvos celulares inativando o germe; químicos biostáticos são substâncias ou medicações que inibem a síntese ou replicação ou metabolismo celular; químicos biolíticos são os que induzem a lise e extravasamento do citoplasma; bactericidas são os químicos que atingem as bactérias; esporocida são os químicos que inibem os esporos tanto fúngicos como de bactérias; fungicidas são os químicos que atingem de forma eficaz contra os fungos e leveduras; virucida são químicos eficazes contra vírus e amebicida são químicos eficazes contra protozoários em geral.

Os desinfetantes são os métodos químicos mais clássicos que visam reduzir ou transformar organismos ativos em células vegetativas. Devido à facilidade de aplicação são usados em aeroportos, hospitais, terminais de ônibus, em locais com grande fluxo e incidência de pessoas e em ambientes domésticos.

Compostos de iodo, idóforos, a base de iodo (I), halogênio da família 7A da tabela periódica, solúvel em álcoois e são largamente usados como bactericidas, esporocidas e fungicidas. Possui ação para alguns vírus em proporção de 1%. Mesmo sendo altamente eficaz tem baixa estabilidade, pois é oxidado com a luz e mesmo sendo armazenado em frascos âmbar, tem uma atividade de até uma semana. Em mistura com polivinilpirrolidona (PVP) formando o PVPI, reduz a ação alérgica, aumenta a ação germicida e amplia a estabilidade, sendo usado em hospitais e redes de saúde.

A clorhexedina é um composto da classe organoclorado do grupo biguanidas e tem excelente ação germicida, principalmente contra bactérias Gram positivas. Possui baixa toxicidade com ação imediata e baixa absorção pela pele e mucosas. São aplicados em detergentes e em misturas para destruição principalmente de *Pseudomonas spp.*

Os álcoois fazem parte dos compostos da química orgânica, que diluídos em proporção com água, exercem ação germicida, bactericida, virucida e fungicida e por esta razão, estão presentes em quase todos os antissépticos.

Os sabões e detergentes da classe surfactantes aniônicos são os mais utilizados para quebra de moléculas de carga negativa e largamente utilizados para antissepsias de mãos e utensílios. Alguns sabões são acrescentados de outras substâncias químicas para aumentar o poder de ação e assim seu uso em ambientes cirúrgicos. Detergentes são ideais na remoção de impurezas e sujidades fazendo parte da limpeza, desinfecção e sanitização.

O cloro e derivados são os métodos químicos mais utilizados em todo mundo, pelo poder oxidante e germicida desses compostos, sendo altamente tóxicos para diversas células microbianas. Os derivados de cloros estão envolvidos em todos os empreendimentos

de promoção de saúde, bem como até na potabilidade de água, laboratórios, indústrias alimentícias e afins. Podendo ser administrado em pó, solução, gás, com característica corrosiva, alcalinizante e em pequenas doses já traz grande eficiência. A eficácia está na formação do ácido hipocloroso e por isso é o principal agente de sanitização.

Os fenóis e seus derivados são compostos orgânicos aromáticos ligados à hidroxila  $\text{OH}^-$ , com característica tóxica para proteínas celulares. Usados como antissépticos e desinfetantes bacterianos, principalmente na fabricação de produtos de higiene doméstica. Tanto o fenol e cresol são evitados em utensílios hospitalares por causa da sua alta corrosividade.

Os aldeídos, também chamados de formaldeídos ou formol, são compostos orgânicos líquidos incolores extremamente irritantes para o sistema respiratório. É um dos desinfetantes mais potentes, pois promovem a oxidação de grupos nitrogenados bacterianos e assim, são usados para conservar cadáveres.

A nitrofurazona e seus derivados furânicos são usados como antibacterianos com o poder de interferir diretamente no arcabouço enzimático do metabolismo das bactérias e são usados em apenas alguns procedimentos hospitalares.

Os Quaternários de amônia são compostos de alta potência, pois sua estrutura química possui atividade germicida, virucida e fungicida e possui uma vantagem do baixo custo.

Benzoatos são sais orgânicos amplamente usados em alimentos embalados, refrigerantes e produtos de higiene pessoal e doméstico, devido à sua ação de inibir de fungos de forma altamente eficiente e com baixo custo.

### 3.3.2 Métodos físicos

Os métodos físicos para o controle microbiano são a secagem, dessecação, pressão osmótica, calor, radiação, oxidação e filtração. O calor é determinado como uma grandeza física mecânica, relacionada ao movimento na molécula ou átomo, com o resultado final a produção de energia.

Nesse contexto, a temperatura é a percepção de calor ou frio e a transferência desse calor se dá de um ponto de maior pressão para o ponto de menor pressão, segundo as formas de condução, convecção e radiação. A eficiência desse processo está baseada no ponto de morte térmica (PMT) que é a menor temperatura em que os germes em uma suspensão líquida serão destruídos, o tempo de morte térmica (TMT) que é o tempo requerido para que um material ou utensílio se torne estéril e o tempo de redução decimal (TRD) é o tempo que 90% de uma dada população foram destruídos.

O calor úmido, do tipo fervura, é um método que reduz uma pequena parcela de microrganismos. O calor úmido pressurizado, conhecido como autoclavação, sendo um dos mais eficientes na eliminação de taxas microbianas e esporos. O calor via pausteurização

é o aquecimento de conteúdo por alguns minutos e posterior resfriamento imediato, usado em larga escala em indústrias alimentícias.

O calor seco se baseia em carbonização de constituintes bacterianos podendo ser usada o método de chama direta, ou flambagem, usados rotineiramente em laboratórios de microbiologia. Também o calor seco em fornos e estufas que visam à esterilização de materiais e utensílios diversos. Outro método de calor seco é a incineração, que é a queima controlada com o intuito de oxidação e carbonização até a formação de cinzas. Esse método é usado para a destinação final de resíduos infecciosos e perigosos.

Um processo físico com grande simplicidade é a separação por filtração através de um meio filtrante, que tem a finalidade de reter partículas e microrganismos. Esse mecanismo pode ser usado em meios gasosos e líquidos para esterilizar vacinas, soluções, vacinas, câmaras limpas, através de um material poroso. As filtrações mais comuns são pelo uso da gravidade e promovida por bombas. Em fluxos laminares, cabines de segurança biológica e salas limpas, os filtros usados são conhecidos como HEPA, filtro de alta eficiência filtração de partículas, com porosidades médias de  $0,25\ \mu\text{m}$  de diâmetro de forma a reter microrganismos indesejáveis e mantendo o ambiente asséptico.

A radiação é um dos métodos físicos mais rápidos e tem uma excelente eficiência e os mais utilizados são os ionizantes como os raios – X e ondas eletromagnéticas dotadas de alta energia, como é o caso da radiação gama. Os efeitos são diretamente no código genético DNA e RNA e nas lesões tangenciais que ocorrem ao atravessar a célula, também conhecida como regiões de acertos que causam mutações e consequentemente levam à inativação celular.

As radiações não ionizantes, representados pela lâmpada ultravioleta – UV causam efeitos deletérios no código genético diretamente nas ligações das bases nitrogenadas e dessa forma, não ocorre à perfeita replicação do genoma e a expressão do organismo é prejudicada, se tornando uma célula em estado vegetal.

# MICRORGANISMOS DE INTERESSE EM BIOSSEGURANÇA

## 4.1 CONHECENDO OS PROCARIONTES

As bactérias são células procariontes de extrema relevância para a Biossegurança, pois além de estar envolvidas nos riscos biológicos, na manipulação genética, pode estar envolvido em armas letais se tornando um risco para a vida humana e animal.

Os procariontes podem ser definidos, de modo grosseiro, como células que não possuem envoltório nuclear e sim um nucleóide onde se encontra o código genético e não possuem citoesqueleto. Algumas espécies podem ocorrer parede celular formada por peptidoglicano, fímbrias ou pílus e flagelos.

O fato de uma célula possuir flagelo é de extrema importância para a Biossegurança moderna, pois a presença dessa organela envolve locomoção e assim, a disseminação desse organismo na natureza, em diversos compartimentos aquáticos e possíveis pandemias. A *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* são exemplos de bactérias que se locomovem e ambas são patógenos para animais e humanos.

As fímbrias ou pílus estão envolvidas em processos de aderência, dificultando processos de desinfecção e sanitização além de ser um facilitador de invasão aos tecidos e órgãos, como por exemplo, a *Salmonella spp.* Outra função das fímbrias é um canal de comunicação entre bactérias, nesse caso, é chamada de pílus sexuais, onde ocorrem trocas de informações entre diferentes gêneros e esse fato está relacionado com o fenômeno de resistência microbiana que é um assunto largamente discutido nos órgãos envolvidos com a promoção de saúde.

Além das bactérias, as cianobactérias ou cianofíceas ou algas azuis, fazem parte dos procariontes e também são de interesse na Biossegurança moderna, pois são questões de saúde pública, devido às toxinas também chamadas de cianotoxinas e são produzidas por esses organismos e expressam alta letalidade para animais e humanos, pois pequenas quantidades, ordem de nanogramas, levam a morte em curto tempo.

Essas substâncias tóxicas são classificadas como neurotoxinas (anatoxinas, saxitoxina e homoanatoxina), hepatoxinas (microcistinas e nodularina), citotoxinas (cilindrospermopsinas) e dematoxinas (lingbiatoxina). Os efeitos adversos são hepatoenterites, gastroenterites, irritações e reações de hipersensibilidade, conjuntivite, câncer, problemas de visão, respiração e muscular, asfixia, convulsões e morte. A tabela a seguir traz os gêneros produtores de toxinas.

Toxina	Gêneros produtores
Anatoxina	Planktothrix, Oscillatoria, Aphanizomenon, Anabaena, Cyndropermopsis
Microcistinas	Microcystis, Planktothrix, Anabaena, Nostoc
Cilindropermopsina	Cylindropermopsis, Aphanizomenon, Raphidiopsis
Homoanatoxina	Planktothrix
Lingbiatoxina	Lyngbya
Saxitoxinas	Planktothrix, Cylindropermopsis, Aphanizomenon, Anabaena, Lyngbya
Nodularinas	Nodularia

Fonte: autor

Um dos gêneros mais importantes produtores de toxinas está a *Planktothrix* encontrada em rios, lagos, açudes, mananciais e de fácil manutenção em laboratórios, podendo ser mantida, purificada e extraída em condições experimentais (figura 02), sendo um risco de agente de bioterrorismo.

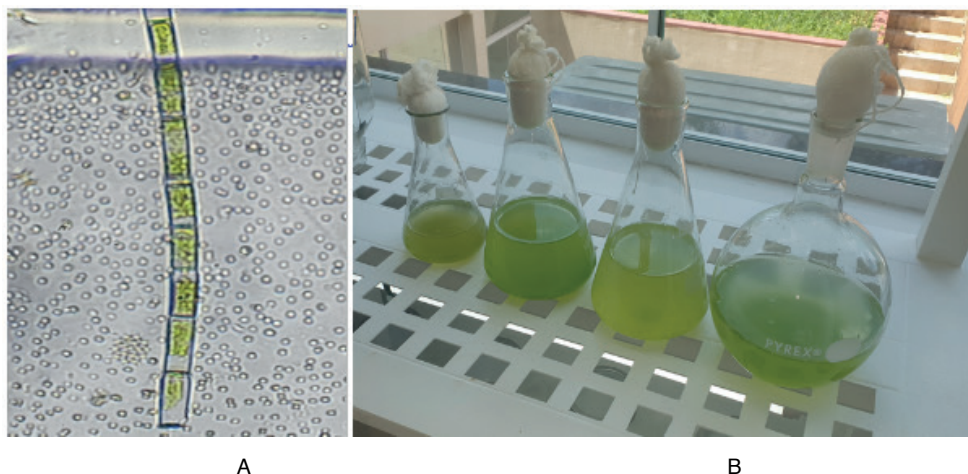


Figura 02: A: *Planktothrix* spp vista em microscópio óptico (400x). B: Cultivo de cianobactérias em laboratórios.

Fonte: autores.

#### 4.1.1 Estrutura celular de bactérias e classificação

A classificação universal das bactérias é de acordo com sua morfologia, tamanho, arranjo e formas e são: cocos, bacilos ou estreptobacilos, cocobacilos, espiralada e espiroquetas conforme figura 03.

Os cocos são bactérias que se apresentam de forma esférica e são divididas conforme seus arranjos em cocos isolados, diplococos que são agrupamento entre dois cocos, tétrades que são arranjo de quatro cocos, sarcinas que são agrupamentos de oito



cocos ou mais, estreptococos que são cocos arranjados em cadeias e estafilococos que são cocos agrupados como cachos de uvas.

Os bacilos têm a forma de um bastão e são divididos em bacilos isolados, diplobacilos, bacilos organizados aos pares e estreptobacilos que são bacilos organizados em cadeias.

Os cocobacilos é uma mutação que envolve cocos e bacilos em transição. E as bactérias espiraladas divididos em espirilos que possuem flagelos e espiroquetas que se locomovem por contrações do citoplasma.



Figura 03: Ilustração da classificação das bactérias. Fonte: Banco Schutterstock/free

O tamanho celular de uma bactéria varia entre 0,3 a 5 micrômetros e as suas formas e arranjos são essenciais para uma um diagnóstico rápido no ramo microbiológico, inclusive quando apresenta fímbrias que demonstra uma capacidade de virulência acentuada.

O envoltório externo da membrana plasmática de uma bactéria é chamado de glicocálice ou glicocálix e consiste em uma cobertura formada de glicolipídeos, ou seja, carboidratos associados a lipídeos, e glicoproteína que são carboidratos associados a proteínas, com uma espessura de 10 nm com a principal função de proteção mecânica e contra agressões químicas e físicas do ambiente externo. A glicocálice também possui função enzimática e sinaliza as condições do meio externo que inibem, por exemplo, a mitose.

Os flagelos e cílios são apêndices de locomoção constituídos por estrutura proteica, a flagelina para flagelos e dineínas para os cílios. As fímbrias são filamentos delicados formados por pilina e mesmo que sejam eliminadas não prejudicam o metabolismo bacteriano e são rapidamente regeneradas. As fímbrias são divididas em comuns que são curtas e com função de aderência e sexuais que tem função de canal de transferência de informações de códons genéticos em um processo chamado conjugação.

A parede celular é rígida e recobre toda membrana plasmática e formada por ácido diaminopimérico (DPA), e os ácidos murâmico, tecóico e lipotecóico que estão envolvidos da

classificação inclusive de Gram positivos e negativos em colorações laboratoriais. A parede ainda porta, aminoácidos, lipídeos, proteínas e carboidratos que forma uma rede polimérica de alta complexidade devido a uma macromolécula denominada peptídeoglicana, que dá a característica de rigidez. A função da parede celular é proteção, manutenção da pressão osmótica e bloquear entrada e saída de compostos indesejáveis e desejáveis. Muitos agentes de controle microbiano não tem eficiência, pois algumas bactérias desenvolveram resistência e suporte contra antígenos somáticos, sendo um dos mecanismos de ação de um bactericida é desestruturar as ligações finais de peptídeoglicanas e o rompimento da membrana plasmática.

A membrana plasmática é constituída de duas camadas, uma de fosfolípídio e outra de proteínas, o conhecido mosaico fluido. Essa formação possui dos componentes principais de colesterol, carboidratos, lipídeos, proteínas, glicerol e ácidos graxos possuindo regiões hidrofílicas, com afinidade de água e outra, hidrofóbicas que não possui afinidade por água.

No interior da célula se encontra o citoplasma, também chamado de citosol ou hialoplasma, preenchido por fluido viscoso e homogêneo que possui canais, bolsas e orgânulos, formados por água, sais minerais, proteínas e açúcares. É no citosol que ocorrem as principais reações de manutenção da célula, além de manter reservas de gorduras e glicogênio.

O nucleóide é onde se encontra a maior probabilidade de concentração do material genético das células procariontes, pois nessas células, não há uma membrana definida, sendo um contraste em relação às células eucariontes, que possuem uma membrana definida. Os genomas procarióticos geralmente encontram-se de forma circular de DNA de cadeia dupla e de fácil replicação sendo de milhões de pares de bases e por isso a versatilidade do aumento exponencial em poucas horas de células microbianas.

Os ribossomos são pequenas partículas compostos por duas subunidades, sem membrana e composta de RNA ribossômico e proteínas.

Os procariotos possuem diversas inclusões em seu citoplasma como depósitos de reserva que acumulam nutrientes. Algumas inclusões como os magnetossomos e os carboxissomos, que são complexos proteicos, podem ser usadas como forma de identificação da bactéria. Quando todas as reservas para o metabolismo se esgotam, algumas bactérias como *Clostridium sp* e *Bacillus sp* formam endósporos, que são células dormentes. Esses endósporos constituem um fator de virulência de grande importância para a Biossegurança, pois além de resistirem por anos sem nutrientes, essas bactérias são causadores de graves patologias, como gangrena, botulismo, tétano e intoxicação alimentar no caso do gênero *Clostridium*. O gênero *Bacillus* causam a doença antraz ou carbúnculo, usado como arma biológica nos anos de 2001 contra os Estados Unidos da América.

O endósporo é uma forma adaptativa de alta especialização, exclusivo de bactérias, chamados de endósporos verdadeiros, que representam uma sobrevivência a temperaturas

extremas, ausência de água, proteção contra substâncias tóxicas, inclusive contra radiação, por anos. Um bom exemplo é o lago de Elk em Minnesota nos EUA, que possui grande quantidade do endósporo de *Thermoactinomyces vulgaris* de milhões de anos de idade, que ao ser aquecido germinou e iniciou o ciclo normal de vida. Outro caso é os fósseis de insetos das eras pré-históricas, na qual o conteúdo gástrico de abelhas em resina âmbar germinou facilmente em ágar nutritivos em laboratórios.

Além dos endósporos verdadeiros, algumas espécies buscam mecanismos de sobrevivência, como é o caso da *Coxiella burnetii*, bactéria gram negativa, causador da Febre Q, zoonose mundial de notificação compulsória, acomete trabalhadores de abatedouros, fazendeiros, veterinários, militares e laboratoristas. Essa bactéria resiste ao calor e vários agentes de desinfecção devido a uma especialização próxima ao endósporo chamado de não verdadeiro.

#### 4.1.2 Fenômeno da resistência microbiana

O fenômeno da resistência ou de microrganismos resistentes é uma das questões de alta complexidade, importância e preocupação para a biotecnologia, biossegurança moderna e comunidade científica. Muitas organizações associadas ou não a OMS estudam as ferramentas de resistência e formas de combatê-las. Indústrias farmacêuticas agem na busca de novas drogas e para isso, exploram vários espécimes de vegetais, procariontes e eucariontes, como por exemplo, fungos e partes de plantas.

A busca para novos componentes com efeitos antimicrobianos já é vista como uma forma paliativa, visto que os mecanismos de adaptação e resiliência aos quais todos os organismos vivos buscam contra o ambiente hostil e poluído ao qual se encontra os compartimentos do ecossistema, cada vez mais robustos e eficientes.

Para que ocorram ações efetivas além de novos fármacos, são necessárias ações conjuntas de gestão em Biossegurança, iniciando com mudanças de culturas, por exemplo, de uso correto de medicamentos, descarte, manejo adequado, sistemas de tratamento de esgotos sanitários, com novas diretrizes e condutas voltadas ao desenvolvimento sustentável.

A Biossegurança moderna visa medidas de prevenção e não de correção quando uma patologia já está estabelecida. Uma forte tendência no mundo quando se trata em sistemas de gestão da qualidade e meio ambiente é gestão de riscos e mudanças. Esse novo viés é de extrema aplicação em todas as áreas da biossegurança.

A OMS atua firmemente nos riscos biológicos e definiu uma lista de bactérias de alta complexidade, sendo indicada de alta, média e baixa prioridade nos ambientes de serviços de saúde e afins.

Essa lista traz os microrganismos que atualmente são altamente resistentes a diversos tratamentos medicamentosos e são responsáveis por altos índices de mortalidade e infecções hospitalares.

A lista traz a categoria mais crítica de prioridade 1 que estão os gêneros: *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e a família Enterobacterias.

Dentro da família das Enterobactérias, que fazem parte do grupo gamaproteobactérias, estão aquelas resistentes à carbapenema e produtoras de Beta-Lactamase de Espectro Estendido (ESBL), representados pela <sup>KPC</sup>*Klebisella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia spp*, *Proteus spp*, *Providencia spp*, *Morganella spp*. Do gênero *Acinetobacter* é indicada a *Acinetobacter baumannii* resistente à carbapenema e do gênero *Pseudomonas* está a *Pseudomonas aeruginosa* resistente à carbapenema.

Na prioridade 2 estão o *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina, a *Staphylococcus aureus* resistente à metilina e vancomicina, *Helicobacter pylori* resistente à claritromicina, *Campylobacter spp* e *Salmonella spp* resistente à fluoroquinolonas e *Neisseria gonorrhoeae* resistente à cefalosporina e fluoroquinolonas.

Na prioridade 3 estão os *Streptococcus pneumoniae* resistente à penicilina, *Haemophilus influenzae* resistente à ampicilina e *Shigella spp* resistente às fluoroquinolonas.

Mesmo o *Staphylococcus aureus* estar no nível 2 de prioridade, essa bactéria é tida como a mais oportunista e com os maiores relatos em todos os estabelecimentos hospitalares, clínicas e em empreendimentos com riscos biológicos. É a maior causa de infecção hospitalar e relacionada à altos índices de letalidade. Essa bactéria iniciou a resistência à penicilina e posteriormente desenvolveu à metilina dificultando a melhora de pacientes hospitalizados.

Por esse fato, denominaram como MRSA - *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina e após o ingresso da biologia molecular, foi possível associar sua expressão pela alteração de uma proteína codificada pelo gene *mecA* e *PBP2* resultando da não ligação na parede celular de fármacos. Essa bactéria carrega esse gene *mecA* no cassete cromossômico que são responsáveis por modificar proteínas de ligação *PBP 1, 2, 3* e induz a produção de  $\beta$ -lactamase, que são enzimas produzidas pelas bactérias para combater os antibióticos betalactâmicos, por exemplo, cefalosporinas, cefamicinas, penicilinas e carbapenemas, traduzindo resistência aos fármacos  $\beta$ -lactâmicos, cefalosporinas de primeira até a quarta geração e aos carbapenêmicos. Apenas a vancomicina é a droga administrada contra a MRSA e atualmente, na maioria dos casos, não ocorre nenhum efeito, visto que já foi identificado genes de resistência nessa espécie de bactéria.

*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*, são os agentes etiológicos mais importantes, causadores de sepse, resistem aos glicopeptídeos por causa da espessura de sua parede celular, dificultando a penetração e isso se dá pelos genes envolvidos na síntese da parede celular. Também são resistentes aos macrolídeos devido a alteração do gene ribossomo metilase eritromicina (*ermA*) e pelo gene metionina sulfoxina redutase (*mrsA*).

*Enterococcus spp* de prioridade 2, é um patógeno comumente resistente a clindamicina, cefalosporinas, aztreonam, oxacilina, vancomicina e aminoglicosídeos.

O gênero *Klebsiella* possuem plasmídeos que mediam as enzimas  $\beta$ -lactamases de espectro estendido – ESBL e dessa forma conseguem inativar cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração e na *Enterobacter spp* e *Serratia marcescens* essa enzima inativa as cefamicinas e o ácido clavulânico.

A *Klebsiella pneumoniae* além do ESBL, também possui a enzima AmpC que age hidrolisando carbapenemases, cefoxitina, metalobetalactamase e carbapenemaseKPC e por essa razão é chamada de KPC, bacilo gram negativo multirresistente a todos os antimicrobianos de uso doméstico, tendo apenas certa sensibilidade na junção de gentamicina+ amicacina.

Porém, em 2023, foram publicados trabalhos científicos de estudos em matrizes ambientais de aterro hospitalares que evidenciaram outra bactéria do gênero *Klebsiella*, nomeada como *K<sub>KPC</sub> Klebsiella planticola*<sup>2019</sup> classificada como pan-resistente pela OMS, devido a resistir todos os antimicrobianos de uso doméstico e hospitalar, oriunda da recombinação genética da *K<sub>KPC</sub> Klebsiella pneumoniae* (78,84% 3.793.418 pb) contida no resíduo hospitalar com a *K<sub>KPC</sub> Raoultella planticola* (70% 4.229.810 pb), bactéria do solo (Haluch et al., 2023).

#### 4.1.2.1 Mecanismos de resistência microbiana

O principal fator para o fenômeno de resistência está atribuído ao contato entre fármaco e agente nocivo, pelo uso maciço de antibióticos em nível hospitalar e pela aplicação de compostos em larga escala no agronegócio. Outro fator de aceleração é concentrar pacientes em um único espaço, o que ocorre nos hospitais, pois as bactérias se disseminam de pessoa para pessoa que estão em tratamentos diferentes, gerando trocas de informações entre bactérias, conforme figura 04.



Figura 04: Pilus sexuais, canal de comunicação e trocas genéticas. Microscopia eletrônica Charles C. Brinton Jr.

Os fármacos, quando administrados ao paciente, não são totalmente metabolizados pelos organismos, sendo eliminados quase pela totalidade através dos líquidos urinários, chegando ao ecossistema e, conseqüentemente, os elementos traços moleculares entram em contato com a microbiota remanescente de um determinado compartimento aquático, e assim, inicia-se o mecanismo de proteção, com maquinários focados na defesa.

Além da ponte de comunicação entre bactérias ocorre também a incorporação de partes ou todo de um código genético de outra bactéria de qualquer gênero, DNA ou RNA, ou de plasmídeos ou de transposons extracromossômicos. Esse fenômeno é chamado de recombinação genética.

Quando um agente microbiano tem a capacidade de atingir alvos intracelulares e passar a membrana, as bactérias desenvolveram o mecanismo de bomba de efluxo, com a função de expulsar o antimicrobiano para fora da célula de imediato, evitando sua ação. Esse mecanismo é comum na *E. coli* quando ocorre a entrada de tetraciclinas, ela é imediatamente expulsa pelo efluxo ativo.

A permeabilidade da membrana microbiota é controlada pelas porinas e no caso das gram negativas, ainda possuem uma membrana externa de lipopolissacarídeo que são formas intrínsecas de resistir a algumas substâncias como, por exemplo, vancomicina, clindamicina, eritromicina e penicilina.

Outra forma é alterar o sítio ativo onde atua o antimicrobiano e essa forma é a mais comum de todas as bactérias e em segundo está à degradação enzimática, como por exemplo, as  $\beta$ -lactamases que hidrolisam compostos amida aos quais possuem, o anel  $\beta$ -lactâmico, sendo inativado.

Quando se trata de bactérias gram negativas, principalmente Enterobacteriae, os genes mutantes e as enzimas que hidrolisam fármacos estão espalhados em todo conteúdo periplasmático e em conjunto com a ação de permeabilidade, constituem as bactérias de maior taxa de resistência.

#### 4.1.2.2 Fármacos antimicrobianos

A *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) é o órgão responsável pelo acompanhamento dos fármacos e suas eficiências, de forma a publicar para a comunidade médica sobre a seleção de fármacos apropriados de acordo com o agente patológico. Através de estudos contínuos pela CLSI, de microrganismos resistentes isolados de pacientes e seus dados de teste em vitro de hospitais e estabelecimentos da saúde e têm a base para os melhores tratamentos medicamentosos.

As tabelas em vigor, publicadas pela CLSI, trazem os dados dos melhores fármacos frente a diversos microrganismos de interesse clínico e padroniza os testes de resistência nos laboratórios e com seus nomes oficiais e genéricos, facilitando a comunicação entre todas as partes envolvidas.

O fármaco da classe  $\beta$ -Lactâmicos possui um anel central chamado de lactâmico unido com quatro grupos de estruturas anelares formam a penicilina, cefens, monobactam e carbapenem.

As penicilinas são ideais para as bactérias gram positivas como, por exemplo, *Streptococcus spp* e *Neisseria gonorrhoeae*. As aminopenicilinas (ampicilina e amoxilina) evitam a multiplicação de alguns integrantes das Proteobacterias. As carboxipenicilinas (ticarcilina e carbenicilina) e Ureidopenicilinas (mezlocilina e piperacilina) são indicados para os Gram negativos como o gênero *Pseudomonas*. As penicilinas metilicina, cloxacilina, oxacilina e dicloxacilina são ideais para os Gram positivos como o gênero *Staphylococcus*.

Os cefens são excelentes agentes tanto para gram negativas como gram positivos, sendo as mais usadas as cefalosporinas e as subclasses carbacefens e oxacefen. As cefalosporinas são divididas em primeira, segunda, terceira e quarta geração e usadas para conter gram negativas altamente resistentes a diversos antibióticos. Os carbapenens são bem resistentes à hidrólise o que confere como excelente bactericida.

Os monobactams são agentes  $\beta$ -Lactâmicos monocíclico sendo o mais usado o aztreonam para em infecções de pele e administrado em pessoas que possuem alergias de outros fármacos.

Os glicopeptídeos são fármacos de estrutura química complexa e seu modo de ação é a inibição da síntese celular e ideal para bactérias gram positivas. A vancomicina é um agente antimicrobiano de estrutura peptidotricíclico glicosilado usado para gram positivos resistentes a  $\beta$ -Lactâmicos, como por exemplo, *Enterococos* e *Staphylococcus aureus* (MRSA). Os aminoglicosídeos têm a função de inibir a síntese de proteína no ribossomo e indicados para bactérias aeróbias gram negativas.

Os macrolídeos são fármacos bacteriostáticos que agem na síntese de proteínas, pois se ligam no ribossomo da mesma forma que os aminoglicosídeos, sendo os amplamente receitados a azitromicina, clarimicina e eritromicina.

As tetraciclinas também agem na síntese de proteínas do ribossomo e são ideais para gram negativas, gram positivas, alguns fungos e protozoários e as mais utilizadas são a doxiciclina e minociclina.

As quinolonas são substâncias com papel de inibir a ação do DNA-girase das bactérias em geral. O grupo das sulfonamidas são inibidores do metabolismo do folato em infecções do trato urinário. O sulfametoxazol e trimetoprim são usados em combinados com a função de inibir a via do folato.

Atualmente diversas empresas ligadas na confecção de novos fármacos estão em constantes estudos científicos em busca de uma nova droga. Recentemente foi publicado uma nova substância, a Zosurabalpin, peptídeo macrocíclico, com excelentes resultados contra bactérias multirresistentes do nível de prioridade 1 da OMS, incluindo a *Acinetobacter baumannii*.



#### 4.1.2.3 Antibiograma

Antibiograma é um teste laboratorial, conhecido internacionalmente como teste de resistência, validado pela *International Collaborative Study* (ICS) e *United States Food and Drug Administration* (U.S. FDA) e padronizado pela CLSI, que são referências em saúde, sendo a técnica de disco-difusão a mais utilizada e aceita em diversos laboratórios.

O teste de avaliação da resistência microbiana é baseado em formação de halo de sensibilidade em confronto com um disco de papel específico, contendo o fármaco teste, frente ao microrganismo a ser estudado em meio específico chamado de Müller-Hinton (MH). Essa medida do halo é chamada de concentrações inibitórias mínimas (CIM) na qual são reportados no laudo clínico e comparando com as tabelas de valores da CLSI, que constantemente avalia a tendência do perfil de resistência de cada organismo de prioridade da OMS, e confecção de novos valores de referência são propostos quando necessário.

O teste se inicia com o agente isolado (figura 5A), e sabendo de qual se trata, a CLSI também publica os perfil de resistência desse agente, sendo então selecionados apenas os fármacos ideais para o teste (figura 5B). Ao relatar os dados do antibiograma, é necessário citar todos os fármacos usados e se o microrganismo se apresenta sensível, ou seja, o fármaco testado terá efeito no agente e pode ser administrado; intermediário implica que ocorre uma zona tampão na qual o fármaco possui certas limitações e resistente que implica que o fármaco não terá efeito sob o agente testado.

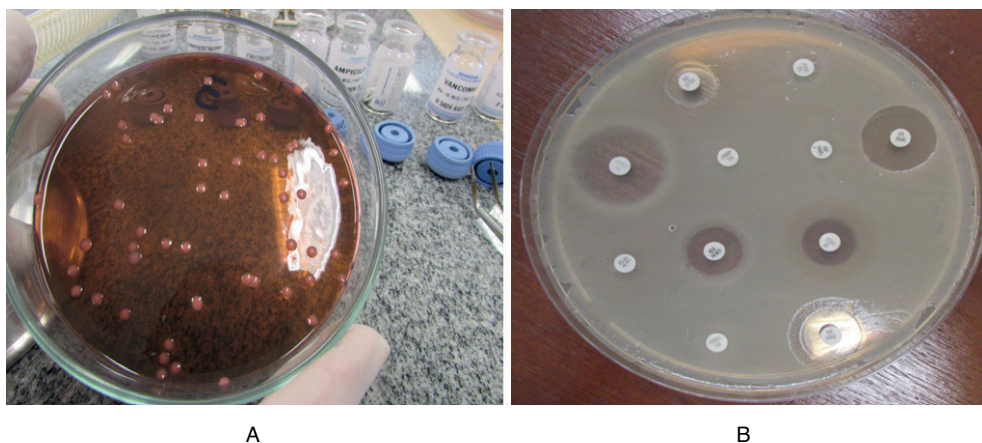


Figura 05: A – Bactéria isolada e escolha dos antibióticos. B – Placa final do teste da bactéria com halos de sensibilidade e resistência. Fonte: Autores



### 4.1.3 Principais doenças bacterianas

Bacterioses são as doenças causadas por bactérias e possuem diversas portas de entrada no organismo humano e animal, sendo a mais comum, pela ingestão de alimentos e água contaminada e depois, pelo contato com portadores doentes. Para a Biossegurança moderna, a prevenção principal reflete em cuidados, higiene, limpeza dos alimentos, consumo de água tratada, correta limpeza das mãos, distanciamento das pessoas doentes ou uso de bloqueadores de transmissão.

Devido à complexidade de sintomas as doenças foram divididas de acordo com o órgão alvo. As doenças microbianas do sistema digestório e intestinal estão normalmente relacionados a dores abdominais e diarreias. Essas doenças são comuns e frequentes principalmente em crianças, levando à morte mais de cinco milhões por ano segundo publicações do Ministério da Saúde. O maior índice ocorre em locais de baixo saneamento básico, impactando principalmente lactantes e idosos.

As síndromes bacterianas gastrointestinais possuem os sintomas clássicos de fezes líquidas com ou sem odor e dores abdominais, porém essas síndromes, também são causadas por fungos e leveduras, vírus, algas, protozoários, helmintos e envenenamento.

A microbiota fecal em níveis normais possuem em média, 1000 microrganismos por 1 g de fezes, sendo que 99% dos presentes são anaeróbios estritos, representados pelos gêneros *Eubacterium*, *Bacteróides*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* e outros. Se algo induz um desequilíbrio na flora normal, podem ocorrer casos de gastroenterites.

O calor excessivo aumenta o consumo de água e conseqüentemente ocorre aumento de veiculação hídrica e surtos são comuns, por exemplo, salmonelose causado pela bactéria *Salmonella typhimurium*, Enterobactéria que possui fatores de virulência, mobilidade e resistência microbiana, sendo essa doença de notificação para ações em vigilância sanitária.

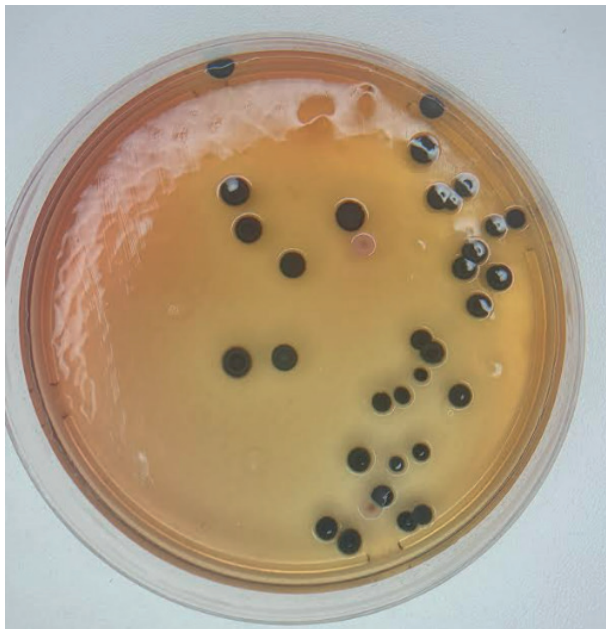


Figura 06: Bactéria *Salmonella typhimurium* em meio de cultura laboratorial SS ágar.

Fonte: Autores

Outra bactéria comum em que acomete paciente pós-hospitalizado é o *Clostridium difficile*, sendo uma gastroenterite comum em hospitais, pois o sistema imune está debilitado. O mesmo ocorre com paciente imunossuprimidos, como por exemplo, as doenças autoimunes e portadores de HIV e lúpus, devem receber ações e cuidados em Biossegurança, para que não ocorra transmissão horizontal entre pacientes.

Outros casos hospitalares com menor frequência estão as retocolites ulcerativas bacterianas, doença de Crohn, *Shigella spp* (shigelose), *Escherichia coli* enteropatogênica.

As doenças microbianas do sistema respiratório são classificadas em doenças respiratórias superiores e inferiores, sendo provocadas na grande maioria por bactérias e vírus. As infecções de vias aéreas superiores (IVAS) ocorrem na laringe, nariz, nasofaringe, ouvido médio e seios paranasais. As infecções de vias aéreas inferiores (IVAI) são as infecções bacterianas mais complexas devido à dificuldade de terapia, sendo a maior causa de morte, principalmente as pneumonias e acometem as demais partes do sistema respiratório.

Os principais agentes são os bacilos gram negativos, representados pelas Enterobactérias como *Klebsiella spp*, *Enterobacter* e *E. coli*; os bacilos gram negativos não fermentadores; *Acinetobacter spp* e *Pseudomonas spp*; cocos gram positivos como *Legionella pneumophila*, *Streptococcus spp* e *Staphylococcus aureus*.

Os maiores isolados tanto na via superior como inferior de grande importância clínica estão o *Streptococcus pyogenes* causador da amigdalite, faringite e escarlatina; *Streptococcus* beta hemolítico do grupo C causador da faringite e amigdalite; *Corynebacterium diphtheriae* causador da difteria; *Neisseriae gonorrhoeae* causador da faringite; *Arcanobacterium haemolyticum* causador da faringite; *Mycoplasma pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* e *Streptococcus pneumoniae* causador da pneumonia e faringite.

Os órgãos mais sensíveis do nosso corpo e sujeito a infecções, são a pele, olhos, tecidos e glândulas, sendo a porta de entrada para diversas patogenias bacterianas. Os olhos possuem um sistema imunológico refinado devido às glândulas lacrimais, que são barreiras importantes para bloqueio de entrada de microrganismos indesejáveis. As infecções de pele mais comuns cutâneas são causadas por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* beta hemolítico e *Streptococcus spp* do grupo A. A foliculite é causada por *Proteus sp*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

As doenças do sistema circulatório e sangue, quando ocorrem, são de alta gravidade, visto que o sangue e seu sistema deve ser totalmente isento de qualquer microrganismo e são patologias de importância clínica. O melhor exame para o diagnóstico é a hemocultura que identifica o episódio séptico e em hospitais, ocorrem tendências de alta resistência a diversos fármacos carreando em casos de sepsé de alta gravidade.

A chegada dos microrganismos no sangue normalmente ocorre de um ponto primário de infecção onde os vasos linfáticos carregam até o sangue ou pela via direta no sistema circulatório em acidentes com cortes, agulhas e cateteres. A infecção do sangue e linfa é causada por apenas um agente patógeno com muita raridade em situações de poli microrganismos. As maiores ocorrências estão às bactérias *S. aureus*, Estafilococos não coagulase, *E. coli*, *Klebsiella spp*, micobactérias, *Corynebacterium spp*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Propionibacterium acnes*. Quando se trata de pacientes imunossuprimidos e leucêmicos, normalmente são acometidos por *Bacillus spp*, *Aeromonas hydrophila*, *Campylobacter spp*, *Corynebacterium spp*, *L. monocytogenes*, *Mycobacterium spp*, *Rhodococcus equii*, *S. typhimurium* e *Streptococcus spp*.

Além das doenças do sistema circulatório e linfa ser de alta gravidade, porém as bacteremias do sistema nervoso central (SNC) são as de maiores relevância de importância médica pois recaem no cérebro, meninges, medula e nervos da espinha e crânio.

Os processos infecciosos do SNC mais comuns são as meningites agudas e crônicas seguidos de encefalites, mielites e neurites, empiema subdural e flebite intracraniana. As bactérias mais comuns são a *S. pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* grupo B, *Staphylococcus spp*, *N. meningitidis*, *Listeria monocytogenes*, *Borrelia burgdorferi*, Rickettsias, Enterobactérias e micobactérias da família Mycobacteriaceae que são bacilos e cocobacilos móveis, sem esporos, maioria aeróbio, sendo as *Mycobacterium leprae* e *Mycobacterium tuberculosis* que acometem o SNC.

As doenças bacterianas do sistema reprodutivo são divididas em masculino e feminino. O trato feminino possui uma larga quantidade de microrganismos que fazem parte da flora normal, sendo colonizado em grande parcela pelos lactobacilos e difteróides, seguidos pela *Gardnerella vaginalis*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Enterococcus spp*, *E. coli*. O trato masculino é colonizado por micrococcos, estafilococos, corynebactérias e estreptococos. Esses agentes estão em equilíbrio e quando ocorre alguma alteração ambiental ou fisiológica pode ocorrer uma infecção. Porém, o que mais ocorre, são microrganismos externos que causam patologia, sendo as mais comuns *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittai*, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum*. As bactérias *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus spp* são responsáveis pelos nascimentos prematuros.

As infecções do trato urinário (ITU) são os quadros mais comuns de âmbito hospital no tocante às crianças, mulheres e jovens sexualmente ativos, sendo divididos em doenças do trato baixo como uretrite, cistites, prostatites e epididimite e do trato alto são as uretrites e pielonefrites. A bactéria que causa 95% dos casos de ITU são *E. coli* e *Pseudomonas spp*.

As doenças bacterianas de interesse epidemiológico e de atenção em Biossegurança estão o botulismo, causado pelo *Clostridium botulinum*, com transmissão de alimentos contaminados; a brucelose causada por bactérias do gênero *Brucella*, com transmissão por animais infectados ou ingestão de alimentos; a cistite causada por Enterobactérias com transmissão ascendente; a cólera causada pela bactéria *Vibrio cholerae* transmitida por água contaminada; coqueluche causada pela *Bordetella pertussis*, Escarlatina causada pela *Streptococcus pyogenes* e difteria causada pela *Corynebacterium diphtheriae*, todas transmitidas de pessoa para pessoa; febre tifoide causada pela *Salmonella entérica Typhi* e a Salmonelose causada por *Salmonella spp* e outras enterobactérias, são transmitidas por água e alimentos contaminados.

A gonorreia causada pela *Neisseria gonorrhoeae* é enquadrada como uma Infecção sexualmente transmissível (IST) da mesma forma que as Clamídias. A hanseníase, popularmente chamada como lepra, é causada pela *Mycobacterium leprae*, e o Impetigo causada por estafilococos e estreptococos. A pneumonia causada por bactérias gram negativas e positivas. A meningite que é uma infecção séria nas membranas que protegem o cérebro e medula espinhal, são causadas por quase totalidade pelas bactérias meningococos, pneumococos e *Haemophilus*, todas essas são transmitidas de pessoa para pessoa.

A leptospirose causada pelo gênero *Leptospira* são transmitidas por contato com objetos contaminados e água contendo a bactéria. O tétano é causado pela bactéria *Clostridium tetani* é transmitida por cortes e feridas que possam ser a porta de entrada. A tuberculose, que é uma doença pulmonar causada pelo chamado bacilo de Koch, *Mycobacterium tuberculosis*, transmitida de forma aérea e qualquer objeto usado em conjunto com a pessoa contaminada.

## 4.2 CONHECENDO OS VÍRUS

Os vírus são organismos mais simples do globo terrestre, mesmo assim são altamente versáteis, com características próprias, como acelulares, sem metabolismo, e por isto, são denominados de parasitas intracelulares obrigatórios e fazem parte, das maiores pandemias do planeta. Esses agentes utilizam o hospedeiro para se reproduzir e dessa forma, não gastam energia para tal função, sendo o que chamamos de inertes e oportunistas.

Visto em boa parte da comunidade científica como organismo não vivo, pois não possui capacidade de se reproduzir, e outra boa parte da comunidade científica, é visto como organismo vivo e altamente adaptado. A tradução de seu nome significa veneno e são os menores agentes patológicos com tamanhos entre 20 a 400 nm, com a exceção, por exemplo, do Ebolavirus e o *Pithovirus sibericum* que podem ser vistos por microscopia comum sem muitas especializações de maquinários.

Causadores de inúmeras doenças, ao longo dos anos, passaram por várias recombinações genéticas pelas transcrições na célula hospedeira e assim, uma nova linhagem foi criada com alta capacidade de virulência e prosperam pelo contínuo contato com os hospedeiros que podem ser qualquer tipo de célula, aos quais se incluem, por exemplo, vegetais, animais, bactérias e outras células vivas.

A diversidade de genoma é uma característica marcante nesses agentes que são de fácil transmissão, com dificuldades em terapias medicamentosas e vacinas, e muitas vezes, apresentam-se com patologias letais.

Em resumo, os vírus são os menores organismos existentes, possuem genoma DNA ou RNA ou ambos na mesma célula anucleada, alguns possuem envoltório genético chamado de capsídeo, não possuem metabolismo sendo um parasita obrigatório, e a reprodução ocorre pela aparelhagem da célula infectada e sua replicação segue as etapas de adsorção, penetração, desnudamento, transcrição – tradução, maturação – liberação.

### 4.2.1 Natureza e características dos vírus

Os vírus estão espalhados em todos os compartimentos planetários e são facilmente isolados de vegetais e animais. Sua estrutura é a mais simples de todos os organismos, tendo uma parte no centro, chamada cerne, onde se encontra o código genético (RNA, DNA, RNA+DNA) e uma cápsula chamada de capsídeo e ambas formam o nucleocapsídeo formando o vírus. Alguns são envelopados com ou sem espículas, que constituem os fatores de virulência. Os vírus que não possuem envelope são dotados de polipeptídios na estrutura como proteção,

Para que haja uma ligação entre o vírus e a célula hospedeira, é necessária uma ponte entre íons de cálcio e magnésio e proteínas de carga negativa, e assim ocorre a adsorção.

Alguns fatores para o favorecimento da penetração de um vírus na célula estão a temperatura, o pH, proteínas de forma a ocorrer uma fusão quando o vírus é envelopado e penetração quando não há envelope. Existe ainda a família Paramixoviridae que causa doenças respiratórias em humanos e em animais, causadores da caxumba e sarampo, que possuem uma proteína chamada de F que catalisa e favorece a entrada do vírus na célula. Esse fato é de grande relevância para a confecção de armas biológicas.

A fusão do vírus, também chamada de viropexia, causa invaginações na membrana celular do hospedeiro através das clatrininas. A próxima fase do vírus na célula é o desnudamento, que é a perda do capsídeo por ação de enzimas liberadas pelo lisossomos do hospedeiro ocorrendo a fase eclipse, pois o vírus está livre no citosol. Quando a partícula viral tem código genético DNA iniciam sua síntese no núcleo, enquanto os vírus RNA fazem a síntese no citosol. Essa síntese é a nova formação de cópias pelos processos de transcrição e tradução. Na família Retroviridae realizam a transcrição reversa, ou seja, formam um DNA complementar devido à enzima transcriptase reversa.

Enquanto ocorre a montagem e maturação, diversas proteínas se unem ao código genético e essa junção forma o nucleocapsídeos que é um vírion com envelope lipídico, pronto para a liberação dos vírus dessa célula infectada, ocorrendo à lise celular chamado de ciclo lítico ou apenas um brotamento sem lise, chamado ciclo lisogênico. No ciclo lisogênico o vírus leva parte da membrana da célula hospedeira sem destruição da mesma.

Os bacteriófagos são vírus parasitas exclusivos de bactérias sendo um dos arranjos extracelulares mais complexos de todas as classes. Esses vírus se inserem no material genético e interrompe todo mecanismo da célula hospedeira, para que apenas replique o código genético viral, até ocorrer arrebentamento, liberando vários novos vírus que irão migrar para nova célula sadia e o ciclo recomeça.

#### 4.2.2 Diversidade e genoma

A diversidade dos vírus é normalizada pela organização internacional ICTV, sigla do inglês *International Committee on Taxonomy of Viruses*, que busca aprimoramento contínuo para organizar e classificar tamanha versatilidade desses organismos.

O agrupamento dos vírus é baseado em propriedades químicas, físicas, biológicas, estruturais e formas de infecção e taxonomia. A forma mais simples é agrupar pelo ácido nucleico, pela simetria do capsídeo, pelo tamanho e presença de envelope.

O genoma é dividido por fita simples (ss), dupla (ds), linear ou circular, polaridade positiva e negativa. Com essas características separaram os vírus em classes: Classe I – DNA de fita dupla. Exemplos: Poxvírus, Herpesvírus, Adenovírus; Classe II – DNA de fita simples com polaridade positiva, exemplo: Parvovírus; Classe III – RNA de fita dupla, exemplos: Reovírus e Birnavírus; Classe IV - RNA de fita simples com polaridade positiva, exemplo: Togavírus; Classe V – RNA de fita simples com polaridade negativa, exemplo:

Rhabdovírus; Classe VI – RNA de fita simples com polaridade positiva e com DNA no ciclo biológico, exemplo: Retrovírus; e Classe VII – DNA de fita dupla com RNA intermediário, exemplo: Hepadnavírus.

Um agente viral com genoma DNA é composto por timina, guanina, citosina e adenosina e um vírus RNA por uracila, citosina, guanina e adenosina. As fitas positivas de RNA são aquelas que o código genético é traduzido pelos ribossomos. As fitas positivas de DNA portam a mesma sequência do RNAm e as fitas negativas de DNA ou RNA são complementares da sequência da fita positiva.

As diferenças dos vírus são na verdade, suas estratégias para realizar recombinações genéticas, induzir mutações, replicar e resistir por anos no meio ambiente. Alguns vírus possuem mecanismos de incorporar todo genoma da célula hospedeira. Dessa forma, em 1971, David Baltimore, propôs a classificação dos vírus que está em vigor até a atualidade, de acordo com a tabela a seguir:

Genoma	Envelope	Capsídeo	Fitas	Família
DNA	Icosaédrica	Ausente	Fita simples	Papillomaviridae
				Parvoviridae
		Presente	Fita dupla	Plyomaviridae
				Herpesviridae
RNA				Adenoviridae
				Iridoviridae
				Poxviridae
	Complexa	Presente	Fita circular	Hepadnaviridae
	Complexa	Presente	Fita simples	Coronaviridae
				Flaviviridae
	Icosaédrica	Presente	Fita simples segmentada	Arenaviridae
			Fita simples	Togaviridae
				Caliciviridae
		Ausente	Fita simples	Picornaviridae
			Fita dupla	Birnaviridae
	Complexa	Presente	Fita simples	Retroviridae
	Icosaédrica	Ausente	Fita simples linear	Astroviridae
			Fita dupla segmentada	Reoviridae
	Helicoidal	Presente	Fita simples	Filoviridae
				Paramyxoviridae
				Rhabdoviridae
			Fita dupla segmentada	Orthomyxoviridae
			Fita simples segmentada	Bunyviridae

Fonte: Autores

Os vírus são arrançados, conforme figura 7, nas simetrias helicoidal, complexo, icosaédrica com vértices e morfologia retangular, esférica, quadrada, cristal, cúbica, bastão e outras. Na forma icosaédrica, podemos observar o capsídeo se organizando em polígonos e na forma helicoidal, é possível observar novelos polimórficos. Nos bacteriófagos ou fagos possuem uma estrutura em forma de cabeça em forma de polígono com caudas basais e fibrosas.

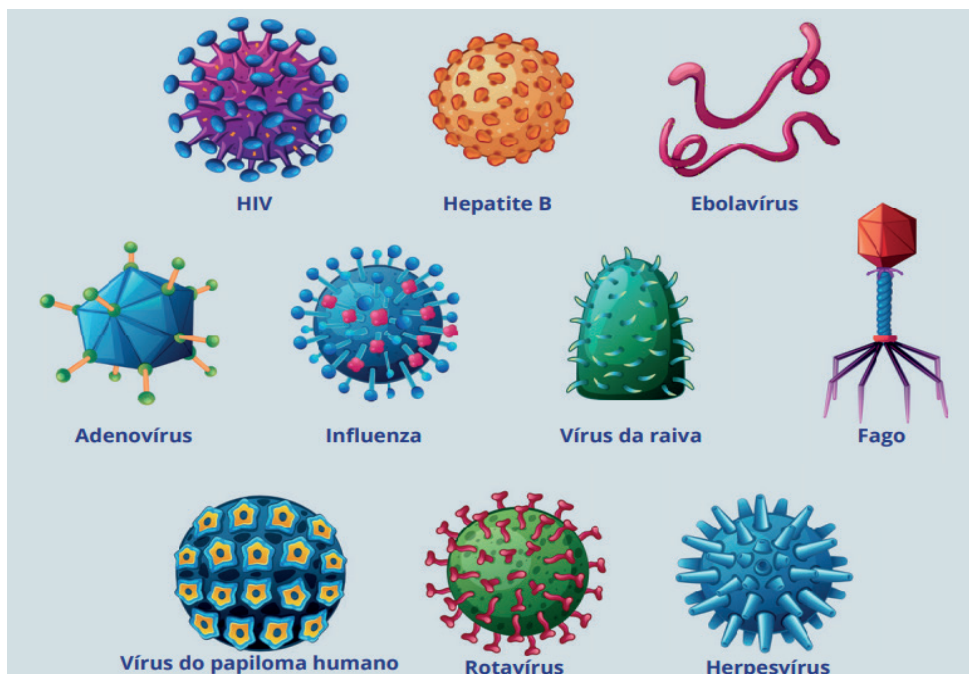


Figura 07: Ilustração das formas de alguns virus. fonte: Shutterstock/free

#### 4.2.3 Principais doenças virais

As doenças virais e a virologia desempenham relevante papel na compreensão dos vírus e suas partículas, bem como o preparo no combate as patologias. Constantemente novos vírus surgem com notável mutação e consequentemente com novas formas de transmissão e nenhum tratamento.

Além dos vírus, as partículas subvirais também causam graves infecções e para tanto, foram classificadas em partículas viroides, que são moléculas de RNA no formato circular que infectam vegetais; os satélites que são partículas de ácidos nucleicos que em conjunto com o vírions causam infecção; e os príons que são proteínas alteradas que induzem patologias. Essas partículas podem atuar separadas ou unidas entre si, causando doenças de ações em biossegurança nível 2, 3 e 4.



Muitas patologias já fizeram parte da história da Medicina antiga e alguma se apresentam de forma cíclica e houve períodos que quase metade da população mundial foi dizimada, como por exemplo, a gripe espanhola e HIV.

A subfamília Parvovirinae infecta vertebrados e a Densovirinae infecta invertebrados, sendo os insetos os mais afetados. O Parvovírus possui tropismo pelas células eritropoiéticas causando artropatia, eritema e aborto fetal. Esses vírus estão disseminados em todos os líquidos corpóreos e são transferidos por contato.

Os Papillomaviridae, gênero Papillomavirus, acometem vertebrados com grande incidência em humanos, como por exemplo, o vírus papiloma humano (HPV), que em pacientes normais causa tumores nas mucosas e pele, porém para imunossuprimidos se apresenta em tumor maligno e são transmitidos por relações sexuais, contato com instrumentos cirúrgicos, objetos contaminados e roupas.

Os vírus Polyomaviridae se desenvolveram para se associar com as histonas de células eucariontes do tipo H2a, H3, H4 da célula hospedeira, causando cistites hemorrágicas e as nefrites, sendo transmitidas por alimentos e água contaminada.

Os vírus Adenoviridae encontrado normalmente nas adenóides e por isso foram chamados de Adenovírus, foram divididos em Aviadenovírus, pois infectam aves; Mastadenovírus, pois infectam mamíferos; Atadenovírus e Siadenovírus, pois atingem répteis, anfíbios, aves e mamíferos. A transmissão é de forma direta e indireta, por água, alimentos, fluidos oculares e respiratórios, aerossóis e contato. O vírus Herpesviridae que faz parte do grupo atingem aves, peixes e mamíferos causando infecções lentas e latentes e nos humanos está relacionada com várias patologias.

Como essa família possui um rol de variação, foram divididas em subfamílias: Herpes simplex (HSV-1 e HSV-2), que são aquelas que atingem as mucosas labial e vaginal, o que conhecemos como Herpes; Herpes-Zóster (HHV) ou varicela-zoster ou Herpesvírus 3, linhagem da catapora; o Citomegalovírus ou Herpervírus 5 (HCMV e HHV-5) que causa a patologia denominada de mononucleose infecciosa, uma IST; o Herpesvírus (HHV-6, HHV-7) que causam a doença roséola em crianças; o vírus Espstein Barr (EBV-4) a conhecida doença do beijo, mononucleose, que causa o linfoma de Burkitt e o carcinoma nasofaríngeo; e o Herpesvírus (HHV-8) que causa o sarcoma de Kaposi.

Os vírus Iridoviridae, na grande maioria, acometem apenas invertebrados, peixes e répteis. Ainda não há um consenso sobre fatores de virulência em humanos, apenas em outros mamíferos.

Os vírus Poxviridae possuem os gêneros de interesse clínico, o Orthopoxvirus que causa a varíola, o gênero Parapoxvirus, com os representantes molluscipoxvirus e vírus orf, causa o molusco contagioso e o Ectima contagioso, respectivamente. Esses vírus são extremamente primitivos e fizeram história em 1970, com o advento da vacina da varíola.

Os vírus Hepadnaviridae possui relevância na área da saúde e na Biossegurança, pois causam as hepatites que levaram à morte de muitos profissionais da saúde, até a

biotecnologia moderna produzir uma vacina com eficácia. Pelas condutas de nível de Biossegurança 2, é obrigatório a aplicação da vacina de hepatite em todos os profissionais da saúde. A doença é causada pelo vírion HBV, envelopado e esférico, codificado pelos antígenos HbsAg, HbeAg e HbcAg e sua transmissão ocorre por líquidos corpóreos, seringas, transfusão e relações sexuais.

Os vírus Coronaviridae foram descobertos em 1960 e são conhecidos como comuns respiratórios que podem chegar a uma pneumonia atípica grave, chamada de SARS. Os vírus Coronaviridae apresentam dois gêneros Coronavírus, que causa a bronquite infecciosa e o Torovirus. Os Coronavírus possuem três tipos sorológicos. O I e II é encontrado em mamíferos e o III em aves. O SARS-Cov, Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Severa causa diversas complicações. Esses vírus acometem o trato respiratório, de forma aguda, e por muitas vezes letais. A SARS por longo anos atingem milhares de chineses levando várias pessoas à morte. Sua transmissão ocorre por contato, secreções e aerossóis. Esse evento transformou as condutas em Biossegurança e novas ações se moldam ao longo dos tempos, para adequação em novas linhagens e novas pandemias.

O vírus Flaviviridae possui o gênero Hepacivírus que causa a patologia conhecida como olhos amarelos, o gênero Pestivirus e Flavivírus, atinge bovinos e suínos, causando a peste suína e diarreia bovina. Outro importante representante é o vírus da febre amarela, Dengue vírus (DENV); o grupo Mammalian TickBorne e o grupo Japanese encephalitis que são denominados de arbovírus, pois são replicados, mantidos e transmitidos por artrópodes, mosquitos, causando sérias enfermidades. No Brasil, os vírus da dengue e febre amarela são transmitidos por picada de hematófagos, família Culicidae, gênero Aedes, Sabethes e Haemagogus, que acometem humanos todos os anos e são doenças endêmicas que atingem também a África além das Américas, podendo chegar à forma mais perigosa, a dengue hemorrágica, e levar milhares de pessoas à morte. Outro representante do Flaviviridae é o zika vírus, arbovírus, isolado de macacos na África que causa a microcefalia em bebês, pela transmissão vertical da mãe ao feto.

Os vírus Arenaviridae, possui caráter zoonótico, causando febres hemorrágicas que podem chegar em extravasamento e conseqüentemente à morte. Uma das doenças mais conhecidas é a febre de Lassa, febre hemorrágica do junin e febre hemorrágica do machupo. A transmissão é por simples contato, líquidos corpóreos, contado com roedores, carne mal cozida e até picada de insetos contaminados.

Os vírus Caliciviridae causam a doença hemorrágica em mamíferos menores, exantema em suínos e gastroenterites em humanos. O novírus é conhecido como gastroenterites de viajantes, são os causadores das epidemias de gastroenterites de transmissão oral-fecal.

Os vírus Togaviridae possuem o gênero Alphavírus e Rubivírus que são responsáveis por encefalites e rubéola. O Rubeolla vírus causa uma doença exantemática transmitida por

contato, objetos e aerossóis, de consequência grave quando acomete mulheres grávidas, pois o vírus atravessa a barreira placentária, causando a síndrome da Rubéola congênita.

Os vírus Picornaviridae, são os mais primitivos, representados pelos gêneros Hepatovírus, Enterovírus, Parechovírus, Cardiovírus, Aphtovírus, Erbovírus, Kobuvírus e Teschovírus. São de grande importância em Biossegurança, pois causam a hepatite A, poliomielite, febre aftosa, poliomielite e rinovirose. A hepatite A é relatada como uma das doenças mais antigas e transmitida por água e alimento contaminado. O Entomobirnavirus e Avibirnavirus causam a doença contagiosa do Gumboro, que destroem os órgãos linfóides de galinhas, o Birnaviridae causa necrose pancreática em aves causando perdas de produção agropecuária.

Os vírus Retroviridae acometem diversos hospedeiros e seu nome se dá pela enzima transcriptase reversa que possibilita o vírus um fator grave de virulência. Uma doença de cunho internacional foi a síndrome da imunodeficiência adquirida, AIDS, que acometeram usuários de drogas, transfusões de sangue, relações sexuais desprotegidas, contato com secreções contaminadas e profissionais da saúde.

Atualmente a classificação do vírus HIV é muito complexa, devido aos subtipos da massiva recombinação genética durante os anos. Os tipos são enquadrados em HIV 1 e HIV 2. Os subtipos foram divididos pelas especializações do capsídeo sendo M, N e O. Cada subtipo possui diversas formas recombinantes que vai do CFR01 até ao CFR12. Todas as formas recombinantes possuem a Glicoproteína Gp120 que se ligam a célula chamada CD4 do hospedeiro e a proteína Gp41 que se encontra no envelope do vírus, a qual se liga aos linfócitos e macrófagos. Uma vez dentro da célula, o vírus libera a proteína P6,7,17 e 24, a proteína p66 e p51 (HIV transcriptase p66/51), a proteína p32 que insere o DNA viral no hospedeiro e ali se estabelece.

Os vírus Astroviridae causam gastroenterites em aves e mamíferos, causando severa desidratação até a morte.

Os vírus Reoviridae atingem o sistema respiratório e entérico, e possui gêneros importantes para a agricultura e pecuária como o Rotavírus, Orbivírus, Orthoreovírus e Phytoreovírus. O Rotavírus atingem milhares de crianças, sendo de importância clínica devido à proteína NSP4 que descama as células intestinas, causando enterotoxidade, desidratação, febre, vômitos e diarreia.

Os vírus Orthomuxoviridae são as famosas viroses respiratórias causadas pelos gêneros Influenzavírus A, B, C, Thogotovírus e Isavírus. São tantas mutações nesse gênero que atualmente são codificados com números de sorotipo iniciando com H1N1 até HxNx. Esses vírus foram a causa de gigantescas pandemias, como por exemplo, em 1918 a gripe espanhola (H1N1), em 1968 a gripe de Hong Kong (H3N2), em 1958 a gripe asiática (H2N2), em 2008 a gripe suína (H1N1).

Os vírus Paramyxoviridae principalmente o gênero Morbilivírus é de grande importância em Biossegurança, sendo o agente causador do sarampo. Também o gênero

Pneumovírus que causa a caxuma e o Paramixovírus causam aglutinação de hemácias, pois portam em seu envelope a neuraminidase que causa encefalite esclerosante subaguda.

Os vírus Rhabdoviridae possuem uma grande variabilidade genômica, sendo os de importância clínica os Vericulovírus que causam pápulas na pele, o Lyssavírus que causam a doença raiva, zoonose letal em praticamente 100% dos casos para humanos, o Novirhabdovirus que causa a necrose infecciosa grave em humanos e o Ephmerovirus que causam a síndrome de anorexia.

Os vírus Filoviridae, atualmente, são os de maior preocupação no mundo devido sua letalidade e são os causadores da febre hemorrágica. Em 1967 o gênero Marburgvírus, que possui apenas uma espécie, Lake Victoria Marburgvírus, matou milhares de pessoas na Alemanha e em 1976 o gênero Ebolavírus dizimou aldeias inteiras. O Ebolavírus, figura 8, possui quatro espécies bem conhecidas e definidas, que são Zaire (EBOV-Z), Sudan (EBOV-S), Reston (EBOV-R) e Ivore Coast (EBOV-IC) e outras em estudo. A transmissão é por contato e fluídos que incluem sêmen, aerossóis, carne e sangue contaminado.



Figura 08: Ilustração das formas de alguns vírus. Fonte: Banco Shutterstock/free

Os vírus Bunyaviridae são transmitidos por carrapatos e mosquitos e apenas o gênero Hantavírus é transmitido por fluídos e aerossóis. São os mosquitos Phlebotominae, família Psychodidae, chamado de palha, que transmite os vírus Phlebovirus, Tospovirus, Nairovirus e Orthobunyavirus, que causam a febre de Rift, febre do Congo, febre da Criméia e a encefalite da Califórnia. Dentre todos, o que causa maior atenção para a Biossegurança é o vírus Hantann que são transmitidos por inalação de poeira contendo fezes de ratos, transmitidos de pessoa para pessoa e mataram milhares de pessoas na Europa pela chamada síndrome pulmonar de insuficiência respiratória.

## 4.3 CONHECENDO OS FUNGOS

### 4.3.1 Natureza dos fungos

Os fungos possuem diversas funções biológicas importantes para a manutenção e circulação de nutrientes, para a vida no planeta e podem ser encontrados em diversos compartimentos da natureza, isolados ou em relações ecológicas com outros seres, por muitas vezes de forma harmônica e outras vezes desarmônicas, e para tanto, são chamados de cosmopolitas. Fazem parte do grupo de heterotróficos, são unicelulares ou pluricelulares e são exímios decompositores e por isso, são chamados de saprófitos. As formas pluricelulares possuem estruturas chamadas de hifas e a união de várias hifas forma o micélio.

Sua classificação vive em constante aperfeiçoamento devido à evolução de estudos biotecnológicos filogenéticos, sendo no momento dividido em: Blastocladiomycota, Microsporidia, Chytridiomycota, Basidiomycota, Ascomycota, Glomeromycota, Neocallimastigomycota e o filo Zycomycota que se dividiu em outros subfilos: Zoopagomycotina, Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina e Mucoromycetonia. Nessa classificação ficam considerados 7 filos, 10 subfilos, 35 classes, 12 subclasses e 129 ordens.

O ciclo reprodutivo é diversificado sendo por mitose, ou seja, assexuada e outra parte se reproduz por plasmogamia, meiose e cariogamia, que são formas sexuadas. Quando estão na fase reprodutiva os micélios originam os esporos, figura 9. Os esporos são geneticamente idênticos e altamente resistentes na natureza e quando encontram boas condições ambientais, eles esporulam que é o processo de germinação e formação de um novo fungo. Outra forma de reprodução é por brotamento, que é a divisão de uma célula formando novo indivíduo o que ocorre com as leveduras, por exemplo.

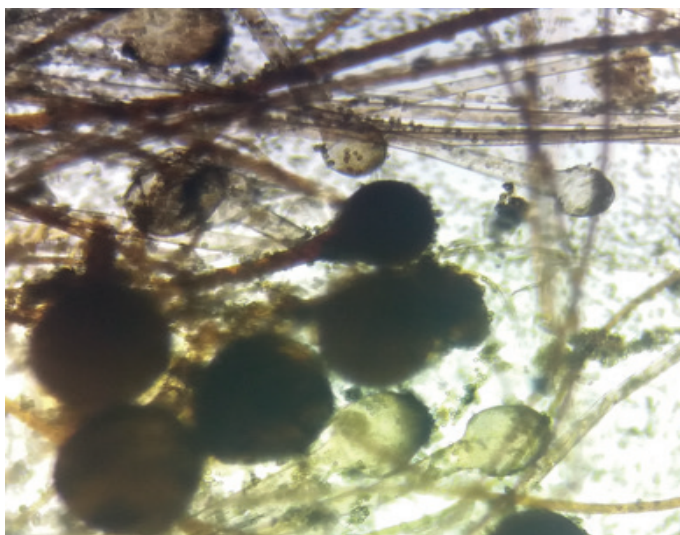


Figura 09: Microscopia 40x dos esporos de fungos. Fonte: autores.

Os fungos não realizam fotossíntese, pois não possuem clorofila e sua nutrição está no carbono extraído da decomposição ou pela absorção do material orgânico do ambiente e armazenar reserva de energia como glicogênio.

As leveduras são fungos unicelulares e os bolores e cogumelos são fungos multicelulares. Ambos possuem parede celular de quitina e são chamados de dimórficos.

#### 4.3.2 Principais doenças fúngicas

Algumas interações com seres humanos podem causar patologias diretas como micoses ou indiretas, como intoxicações de alguma substância liberada pelo fungo. As micoses são divididas segundo a porta de entrada no organismo, sendo subcutânea, cutânea, superficial, oportunista e sistêmica. De modo geral, as infecções causadas por fungos são crônicas com lento progresso.

Os fungos do grupo zigomicetos são os mais impactantes para imunossuprimidos como portadores de HIV, pacientes transplantados, diabéticos e leucêmicos. São causadores da mucormicose que atingem diversos órgãos e deixam sequelas como cegueira, dificuldade ao andar e respirar e até a morte em diversos casos.

O ascomiceto de maior relevância é a levedura *Candida albicans* e *Candida auris*, causadora de candidíase. A *Candida auris* é enquadrada como o fungo oportunista mais resistente e pode entrar nas doenças com maiores letalidades nos próximos anos. Outro é o *Aspergillus sp* que acomete os pulmões causando a aspergilose pulmonar. O fungo forma hifas internamente nos pulmões sendo fatal em alguns casos. Os demais representantes do grupo causam micoses simples.

Os basidiomicetos estão livres no meio ambiente nos locais com matéria orgânica realizando a decomposição. Porém, quando ocorre liberação dos esporos e estes ficam em suspensão no ar, penetram nas vias aéreas causando rinites e sinusites e até em casos mais graves endocardites, lesões pulmonares, onicomicoses e alergias graves.

Os fungos com maiores relações às alergias são o *Fusarium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria* e *Rhizopus*, sendo *Alternaria* o mais comum em ambientes ocupacionais, seguido pelo *Cladosporium* que encontrados em ambientes domésticos e hospitalares, porém, são os *Aspergillus* (figura 10) e *Penicillium* dominantes de todos os ambientes, inclusive com grande fluxo de pessoas, escolas, shopping, ambientes hospitalares. O *Mucor* e *Rhizopus* são os fungos contaminantes de alimentos, podendo ser facilmente encontrados em massas açucaradas e pães e também estão envolvidos em processos alérgicos.

As micoses que atingem várias partes do corpo e órgãos são chamadas de sistêmicas e são causadas por fungos contidos no solo. Chegam ao órgão alvo pela inalação de esporos, como a coccidioidomicose e a histoplasmose.



As micoses que atingem camadas inferiores da pele, chamada de subcutânea, são causadas por saprófitas, como por exemplo, a esporotricose que acomete fazendeiros e produtores rurais devido ao vasto contato com o solo e plantas. O esporo ou pedaço do micélio em vez de ser inalado, penetra em cortes na pele e assim a doença se estabelece.

As micoses mais simples, chamada de cutâneas ou dermatomicoses, são causadas pelos dermatófitos que são fungos que acometem unhas, epiderme e cabelo. Os dermatófilos são produtores da queratinase que age na queratina da pele, podendo persistir por anos e serem transmitidas de pessoa a pessoa, objetos, animais, piscinas ou banheiros.

As infecções oportunistas acometem sistemas debilitados como indivíduos em tratamento de antibióticos, imunossuprimidos, leucêmicos como por exemplo a *Pneumocystis sp* e a mucormicose causada pelo *Mucor sp*. O *Cryptococcus sp*, *Aspergillus sp* e *Penicillium sp* causam a maior parte das mortes em aidéticos.

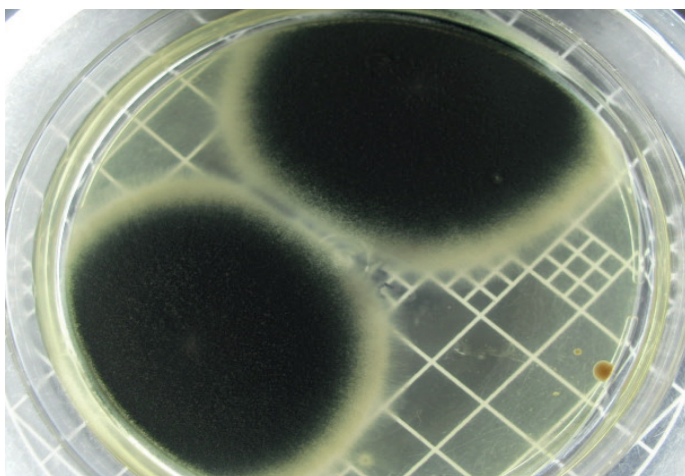


Figura 10: *Aspergillus niger* em meio de cultura ágar Sabouraud dextrose, causa a doença mofo-preto.  
Fonte: autores

Os fungos parasitas de plantas de interesse em biossegurança são o *Helminthosporium* e *Fusarium*, pois estes ao liberar seus esporos em parques e florestas, causam alergias diversas e alguns casos relatados levaram a morte.

O fungo encontrado no ambiente doméstico em papéis de parede, móveis e madeira são o *Aureobasidium* que podem gerar alergias aos humanos. O fungo *Arthroderma* acomete trabalhadores de madeireiras causando micoses simples ou graves, sendo um risco biológico ocupacional listado no mapeamento de risco. Os basidiomicetos são oportunistas de trabalhadores rurais e agrícolas e as alergias causadas por esses agentes, causam doenças bronco-pulmonares.

Outro fungo de interesse em biossegurança é o *Cordyceps* que é um endoparasita de Artrópodes, sendo seus esporos leves e de fácil disseminação pelo vento, chegando facilmente em suas vítimas, alterando o comportamento e os levando à morte. Esse fungo

é usado na medicina tradicional chinesa, facilmente cultivado de forma milenar, podendo se espalhar em todo globo terrestre.

O fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* é o fungo que acometem anfíbios, aniquilando diversas espécies de grande importância no controle de pragas, ocorrendo um significativo impacto na agricultura e controle de vetores de importância clínica.

Além desse fungo, outros estão listados que ameaçam plantas e impacta o desenvolvimento sustentável, o *Phytophthora infestans* que causa a doença da batata e tomate; o *Hemileia vastatrix* que acomete o plantio de café; o *Fusarium oxysporum* causa a murcha da banana; o *Plasmopara viticola* causa o míldio da videira.

#### 4.4 HOSPEDEIROS DE IMPORTÂNCIA EM BIOSSEGURANÇA

Um hospedeiro é um portador de algum parasita sendo um abrigo e um disseminador. O parasita usa os metabólitos do hospedeiro para sobreviver, podendo estabelecer relações harmônicas ou desarmônicas com os mesmos. Essa interação entre hospedeiro-parasita facilita o diagnóstico e as condutas a serem adotadas em Biossegurança visando armas biológicas.

Os hospedeiros são classificados em definitivos, intermediários e de transporte. O definitivo carrega o agente que se reproduz de forma sexuada, o intermediário carrega as larvas ou o parasita na fase assexuada e hospedeiro de transporte, serve apenas como refúgio ou transportador de um ponto ao outro até fechar o ciclo definitivo.

Os insetos são os hospedeiros de grande relevância em Microbiologia e Parasitologia, como por exemplo, pulgas, mosquitos e moscas.

A família das moscas, Muscidae, compostas por mais de 400 espécies, são as responsáveis por carregar mais de 350 tipos de bactérias que infectam o organismo humano e animal. Um exemplo é a mosca tsé-tsé, família Glossinidae, transmissora da doença do sono e a mosca conhecida como varejeira que é colonizada por Enterobactérias causadoras por graves patologias e as moscas também transmitem a Leishmaniose cutânea.

Os dípteros, conhecidos como mosquitos e pernilongos, são hospedeiros de vários agentes causadores de infecção. São esses hospedeiros que lideram as pesquisas no Brasil, como por exemplo, *A. aegypti*, *Phlebotomus sp*, *Anopheles sp* e *Culex sp*, pois transmitem uma série de vírus, protozoários, bactérias e helmintos. O *Aedes aegypti* é transmissor da dengue, zika e chikungunya e doenças tropicais que fazem parte da história epidemiológica brasileira.

A bactéria *Yersinia pestis* é parasita das pulgas e causa a peste bubônica, pandemia que dizimou boa parte da população no século VIU.

As pulgas, figura 11A, em específico a *Xenopsylla cheopis*, que durante eras, foi à transmissora da bactéria *Rickettsia typhi* que causa o tifo. Doenças rickettsiais têm amplo espectro de disseminação, com altos índices de mortes.



Os carrapatos, figura 11B, transmitem uma infinidade de doenças leves, médias e graves, pois são hospedeiros para protozoários, vírus e bactérias, como por exemplo, leptospirose, raiva, brucelose, leishmaniose e febre maculosa.

A febre maculosa, outra doença rickettsiais, causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*, vive por longos períodos no carrapato. Essa bactéria faz parte da família das Proteobactérias, família das Enterobacterias, e como todas do grupo, possui alta resistência a diversos antibióticos, podendo ser facilmente usada como arma biológica, pela disseminação de espécimes infectados e soltas nas lavouras, nos criadores de gado e nas áreas das cidades.



Figura 11: Ilustração A: pulga; B:carrapato. Fonte: Banco Shutterstock/free

Os triatomíneos, popularmente chamado de bicho Barbeiro, figura 12A, fazem parte dos insetos hospedeiros de interesse em Biossegurança, pois são os transmissores da Doença de chagas, causados pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, figura 12B. Os insetos mordem áreas expostas da vítima e defecam, sendo que a porta de entrada, são as fezes que chegam à ferida e penetram pela picada.

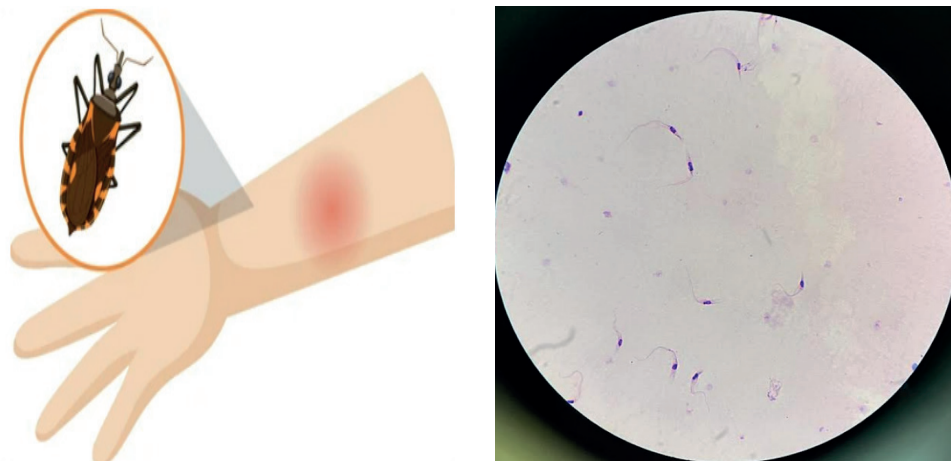


Figura 12: Ilustração A: Barbeiro (Fonte: Banco Shutterstock/free); B: *Trypanosoma cruzi* em microscopia óptica, coloração de Gram 1000x. Fonte: autores.

Outro hospedeiro que contam com mais de 800 espécies são aves migratórias e muitas, possuem rotas na África, Europa e Antártida saindo da América do Norte e chegam à América do Sul, com longas viagens aéreas, desde a era glacial até a atualidade. Esse fato é de alto risco em Biossegurança, pois as aves são hospedeiras de diversos agentes patogênicos, podendo carregar de um país ao outro, defecar nos mananciais e disseminar diversas bactérias e vírus letais.

As aves transmitem a Influenza aviária causada pelo vírus Orthomyxoviridae, sendo o tipo A que possui caráter zoonótico. Outra doença é a de Newcastle causado pelo vírus da família Paramyxoviridae contido no sorotipo Paramixovírus aviário tipo 1, infectando quase 50 espécies de pássaros, sendo um dos principais problemas sanitários da avicultura industrial.

As aves selvagens carregam diversos vetores que são artrópodes infectados e diversos novos focos ocorrem a cada ano com as migrações. Um das principais preocupações para a epidemiologia é a Febre do Nilo Ocidental causada pelo vírus da família Flaviviridae, além da dengue, febre amarela e o vírus da encefalite Saint Louis e a encefalite japonesa.

A criptococose causada pelo fungo *Cryptococcus neoformans* e a histoplasmose causada pelo fungo *Histoplasma capsulatum*, são transmitidas pelas fezes de aves contaminadas. As aves ainda transmitem a toxoplasmose que é causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, parasita intracelular de cunho obrigatório, sendo as aves domésticas, o principal reservatório, seguidas de mamíferos em geral chegando facilmente aos humanos.

Os ratos, outro hospedeiro de interesse para armas biológicas, transmitem o Hantavírus e Salmonelose através da inalação de poeira que contenha fezes contaminadas ou pelo contato direto com fezes e urina ou mordida, causando grave infecção pulmonar, gastroenterite severa e insuficiência renal.

Os ratos também transmitem a leptospirose, doença bacteriana com sintomas disseminados. A mordida é algo de alto risco, pois além de transmitir o vírus que causa a febre da mordida do rato ou febre do colorado, dependendo da concentração viral do vírus da raiva na saliva do animal, pode ser transmitido e causar uma das doenças virais de alta letalidade para o ser humano.

A sarna é causada pelo parasita *Sarcoptes scabie* que se hospeda no rato e de fácil transmissão por contato ou objetos contaminados. As pulgas de ratos transmitem a *Yersinia pestis*, a peste bubônica, que causam efeitos deletérios sistêmicos levando a morte em poucos dias.

Os morcegos são um dos maiores reservatórios de vírus e bactérias que acometem os humanos, pois são mamíferos que portam organismos mesófilos, e de por muitas vezes, de fácil transmissão. Muitos morcegos necessitam de sangue para seu metabolismo o que traduz em alto risco para os humanos e animais.

Uma doença transmitida pela mordida de um morcego, da mesma forma que os ratos, é a raiva causada pelo vírus Rhadoviridae que causa a encefalopatia severa causando a morte em praticamente 100% dos casos.

As fezes dos morcegos, da mesma forma que as aves, possuem o fungo *Histoplasma capsulatum* causador da Histoplasmose por simples inalação de conteúdos fecais em forma de poeira.

O morcego é hospedeiro do vírus de alta letalidade o Ebolavírus que transmite pela carne contaminada, pelo sangue ou por mordida.

Portanto, o conhecimento do ciclo de vida de um agente de risco biológico e seu estudo contínuo em âmbito científico é a base para o sucesso de programas de prevenção de uso indevido em armas biológicas.

# ATAQUES BIOLÓGICOS E BIOTERRORISMO

A Biotecnologia moderna atua em favor do humano, entretanto, pode ser usado em armas biológicas pelo uso de microrganismos ou toxinas com o intuito de mortes em massa. As especialidades da Biotecnologia utilizadas para tal fim, conta com a engenharia genética, engenharia biológica, biologia molecular, computação e bioinformática e inteligência artificial.

A pandemia de SARS Covid 19 mostrou vulnerabilidades no que se refere a Biossegurança moderna principalmente nos sistemas de saúde. A Segurança Pública internacional lançou holofotes nos grupos extremistas violentos, pois os mesmos tentaram disseminar estirpes do Covid-19 como arma biológica.

O avanço da tecnologia CRISPR, que significa Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas, fomenta o campo da biologia sintética e traz a capacidade de edição rápida de sequências genéticas, podendo editar e criar genomas inteiros, aos quais incluem, patógenos.

Embora exista uma convenção de armas biológicas, regulamentada em 1975, que proíbe a produção, desenvolvimento, manutenção, aquisição, transferência de armas biológicas e toxinas, não impedem de organizações terroristas se apropriarem dessa tecnologia e recriem condições para disseminação de agentes patológicos de outras eras ou novas cepas agentes letais.

Até o momento já foram registrados 33 ataques de grupos extremistas pelo uso de armas biológicas, após o evento da AIDS, ocorrendo mortes e vários feridos, sendo os Estados Unidos o alvo em 63% dos casos, seguidos de Quênia, Reino Unido, Paquistão, Israel, Rússia e Japão. O alvo na maior parte foram instituições governamentais, empresas de comunicação, aeroporto, escolas, empresas e empregados. A maioria dos casos foi pelo uso de Antraz, *Salmonella sp*, ricina, toxina botânica, material fecal e objetos contaminados com HIV.

Dessa forma, mecanismos de identificação de armas biológicas, devem seguir o estudo massivo de agentes já utilizados em ataques e acompanhar possíveis tendências reais e futuras. Conhecer cada agente é a chave para o gerenciamento dos riscos.

Aves migratórias, morcegos, pulgas, carrapatos e até escorpiões, são excelentes meios de transporte e disseminação de agentes patogênicos. Muitos insetos persistem por meses sem alimentação e podem gerar réplicas contendo partículas de contaminantes de interesse em Biossegurança.

Muitas são as formas de transmissão de agentes patogênicos e aliado com a Biotecnologia Moderna, com inserções de genes que induzem efeitos deletérios, sendo transportados e disseminados, com o intuito de produzir mortes em massa em uma determinada população, ou atingir plantações e animais de corte, é o alvo de guerras, grupos de extermínio e grupos terroristas.

Em questões de Biossegurança, os esporos de fungos é um excelente carregador de armas biológicas, visto que ele pode ser inserido códons genéticos e serem disseminados pelo ar, chegando diretamente no alvo, que é o ser humano.

Bactérias formadoras de esporos resistem diversas condições ambientais e podem ser pulverizadas em locais de alta concentração de pessoas.

É através da ciência e tecnologia que cada país identifica e previne ações bioterroristas, somado com erros e acertos do passado e estratégias visando o futuro.

## 5.1 IDENTIFICAR E PREVENIR BIOTERRORISMO

Atualmente existe um centro de referência internacional o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), uma agência sediada nos Estados Unidos e atua na proteção da saúde e segurança pública, prevendo e promovendo informações em tomadas de decisões quanto a saúde nacional e internacional. A atenção principal é o desenvolvimento de prevenção de moléstias contagiosas, saúde ambiental, saúde coletiva e ocupacional, prevenção de acidentes e educação ambiental e sanitária.

São considerados ataques biológicos o uso de partículas, genomas de agentes de virulência e alta letalidade e toxinas ou substâncias químicas que induzem efeito deletério ao ser humano, animais e meio ambiente. A manutenção e manipulação dessas armas biológicas são consideradas práticas terroristas.

As diretrizes internacionais estão baseadas na Resolução 2663:2022; na Convenção para a Proibição de Armas Biológicas e suas Toxinas (CPAB), no Conselho de Segurança das Nações Unidas (Res 1540/CSNU) e no Regulamento Sanitário Internacional (RSI). A identificação e a prevenção é competência de cada país, porém muitos realizam parcerias e comitês que trocam informações entre si.

A diretriz nacional está pautada na Lei N. 13.260:2016 e na Constituição Federal e as capacidades técnicas estão estruturadas em órgãos como a Agência Brasileira de Inteligência, Polícia Federal, Ministério da Ciência, Ministério da Defesa, Ministério da Saúde, e órgãos de Segurança Pública. Mesmo com tantas organizações em prol da Biossegurança Nacional e mesmo sendo o Brasil um signatário das principais convenções internacionais sobre controle e uso de agentes biológicos, não há um protocolo padrão para incidentes no país, sendo adotados os parâmetros e ações dos guias da CDC.

O Exército brasileiro atua principalmente na prevenção e usam todas as bases do CDC, que rege uma lista de agentes e toxinas de controle, que são seguidas a risca pelo Brasil. Mesmo com essas especificações e políticas que bloqueiam e identifiquem essas armas, as condutas e doutrinas são extremamente complexas e os extremistas constantemente buscam estratégias para entrada e uso de armas biológicas. Uma vez espalhadas, resta os procedimentos de biossegurança em ambientes de saúde, isolamento e atuação da biotecnologia para vacinas e medicamentos eficazes.

A complexidade aumenta pelos mecanismos de transmissão, sendo o uso de aerossóis de fácil assimilação por vias de entradas, e com facilidade para os terroristas. Um exemplo comum é o carbúnculo, causado pelo *Bacillus anthracis*, que é transmitido por inalação, podendo ser liberado em shows, jogos de futebol, aeroportos, ou seja, uma vasta possibilidade.

A epidemiologia auxilia em muitos casos, verificando o mapeamento de surtos comuns em áreas geográficas, população exposta, surto simples, múltiplo e simultâneo, via de exposição de forma incomum, impacto na saúde coletiva, ambiental e de animais, patologias que não faz parte do ecossistema, doença desconhecida, novas linhagens e patologias incomuns, dificuldades de terapias medicamentosas são indícios que algo está em desconformidade com o padrão comum.

A prevenção de ataques bioterroristas envolvem países e organizações de forma integrada com ações do setor de inteligência da polícia envolvendo os suspeitos com alertas para os Ministérios da Segurança nacional. As condutas e ações a serem observadas regem eventos que possam carrear qualquer tipo de agente que possam matar ou incapacitar humanos, animais e plantações.

Constantemente a CDC mantém as listas atualizadas dos agentes de importância com seus níveis de ameaça e prioridade. A divisão traz a categoria A com a maior prioridade, B sendo segundo nível de prioridade e C terceiro nível de prioridade.

Categoria	Agente/toxina
A Maior prioridade	Antraz causado por <i>Bacillus anthracis</i> Toxina botulínica, botulismo causado por <i>Clostridium botulinum</i> Peste causada por <i>Yersinia pestis</i> Tularemia causada por <i>Francisella tularensis</i> Varíola clássica Vírus da febre hemorrágica Febre da lassa causada pelo Arenavírus Febre do Machupo, Guanarito, Sabiá e Junin causados por vírus Febre do congo, criméia, vale Rift causado pro Bunyaviridae Ebolavirus e Marburg causado pelo Filoviridae Febre amarela, febre hemorrágica, doença de Kyasanur causados por Flaviviridae
B Média prioridade	Brucelose, causado por <i>Brucella</i> Toxina Épsilon da bactéria <i>Clostridium perfringens</i> Espécies de <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> e <i>Escherichia coli</i> enteropatogênicas Mormo causado por <i>Burkholderia mallei</i> e melioidose causado por <i>Burkholderia pseudomallei</i> Psitacose causada por <i>Chlamydia psittaci</i> Febre Q causada por <i>Coxiella burnetti</i> Ricina (toxina) da <i>Ricinus communis</i> Enterotoxina estafilocócica B Tifo, causada pela <i>Rickettsia prowazekii</i> Alfavírus <i>Vibrio cholerae</i> , causadora da cólera <i>Cryptosporidium parvum</i> Organismos transmitidos pela água
C Baixa prioridade	Nipah vírus Coronavírus SARS Vírus Influenza Patógenos emergentes

Tabela: Toxinas e agentes de prioridade indicados pelo CDC.

Fonte: CDC (2023)

A categoria C se encontra as chamadas doenças emergentes que são projeções futuras de agentes que disseminação em massa, que podem estar disponível, fácil acesso e manutenção, produção em larga escala, com potencial de altas morbidades, mortalidades e sem terapias medicamentosas eficazes.

## 5.2 AGENTES ESCOLHIDOS E TOXINAS LETAIS

Os agentes escolhidos para o bioterrorismo são aquelas que agregam efeito deletério em massa, que podem ser transportados de forma facilitada, liofilizada, em líquidos ou congelada, ou armazenada e liberada como aerossol, que seja transmissível de pessoa para pessoa, que não possua terapia medicamentosa eficaz, que atinja plantas, gado, aves e outros animais, que tenha hospedeiro hematófago, que seja transmitido por veiculação hídrica, que seja termotolerante, e demais características que cheguem ao uso pretendido que é população, flora, fauna e os níveis da cadeia alimentar.

Os agentes normalmente escolhidos estão já listados pelo CDC e possuem uma série de normativas de ações em biossegurança tanto na prevenção, quanto na ação após disseminação. Porém alguns agentes são tidos como emergentes e podem ser usados como armas terroristas.

A *M. tuberculosis* é um agente de interesse, pois é um parasita intracelular facultativo, consegue sobreviver a diversas intempéries como congelamento, dessecação, ser armazenado em células fagocitárias por longos períodos e resiste a diversos produtos químicos desinfetantes. A micobactéria pode ser inalada ou transmitida por contato de objetos e líquidos corpóreos.

Toxinas letais causam reações de infecção, alergias e hipersensibilidade, além de poder induzir câncer, abortos, mutagenicidade, atingir diversos órgãos, bloqueando enzimas, ciclos bioquímicos, levando a morte celular. Um caso de uso de toxinas foi na década de 1930, pelo uso de Sarin, substância gasosa produzida em laboratório, que atinge o sistema nervoso causando convulsões e paralisia. Essa substância matou 20 japoneses em 1970 e em 1995 novamente em Tóquio, matou 12 pessoas e feriu 5 mil vítimas.

A estricnina, substância usada no combate a ratos, é extraída de uma árvore asiática, se tornando um pó branco mortal, que se ingerido, causa falência respiratória e morte cerebral em apenas 30 minutos.

Antraz é a dada como uma toxina oriunda dos esporos do *Bacillus anthracis* que é letal por inalação.

A ricina é extraída como óleo de rícino sendo uma glicoproteína que interfere diretamente na síntese de proteínas da vítima, levando à morte celular generalizada.

A substância chamada de VX, composto organofosforado, é mortal, pois interfere na transmissão de mensagens das células nervosas, a sinapse dos neurônios.

A batracotoxina e homobatracotoxina são encontradas em um pequeno sapo colombiano, *Phyllobates terribilis*, altamente letal, pois interfere nos canais de sódio e potássio resultando em insuficiência cardíaca e morte.

Existe uma infinidade de toxinas marinhas, mais algumas são extremamente potentes como a saxitoxina e a maitotoxina, sendo essa última, uma cardiotoxina produzida por um plâncton marinho dinoflagelado, a mais letal oriunda de organismos marinhos.

A amatoxina é uma substância encontrada em cogumelos e afeta diretamente os rins e fígado e sua ingestão causa a hepatite tóxica e esteatose hepática, causando a morte em poucos dias.

A *Cerbera odollam*, a árvore do suicídio, encontrada na Índia, possui semente venenosas devido a um alcaloide que causa insuficiência respiratória, cardiopatias e instinto suicida nas vítimas.

A cicuta extraída da planta *Conium maculatum*, também é um alcaloide letal, que inclusive causou a morte de Sócrates em 399 a.C., pois causa asfixia e morte por hipóxia.

A etrodotoxina encontrada no peixe baiacu causa dormência, paralisia, convulsões e em menos de 24 horas ocorre à morte generalizada.

Outra toxina altamente venenosa é a botulínica sendo a dose letal (DL) menor que 1 nanograma já ocasiona a morte humana, sendo a do tipo A com maior potência. Ela causa a paralisia muscular e nervosa. É dada de extrema gravidade, pois atualmente é utilizado em procedimentos estéticos, o Botox, sendo uma tecnologia de alto uso na biotecnologia estética.

Além das substâncias biológicas os compostos químicos também podem ser usados em armas terroristas como, por exemplo, o cianeto. O cianeto age diretamente no ferro na via do citocromo C oxidase, que é a cadeia de transporte de elétrons da respiração celular, inibindo irreversivelmente essa via e consequente a morte celular generalizada e isso ocorre em menos de 5 minutos.

Compostos de mercúrio, chumbo, antimônio, arsênio são consideradas letais levando em colapso diversos órgãos. Porém, é o Polônio o metal mais perigoso devido as suas propriedades radioativas, contaminando o solo, águas, plantas, animais e humanos, levando à morte em pouco tempo.

Portanto, são inúmeras possibilidades de agentes de impacto negativo que podem ser usadas em guerras e atentados terroristas. Os órgãos responsáveis pela preservação do patrimônio genético, natural e defesa civil devem sempre acompanhar as tendências e estar em constante estudo científico, visando estar sempre à frente dos grupos extremistas.



### 5.3 INTELIGÊNCIA ESTRATÉGICA E INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

A CDC atua com agências federais, departamento de saúde, e Segurança Pública com o intuito de se preparar para ataques nas categorias A, B e C de agentes e toxinas usadas em ataques terroristas. É a CDC líder mundial em ações de Inteligência estratégica, sendo à base de ações mundiais.

Essas ações estratégicas estão no fornecimento de dados e fortalecer os órgãos envolvidos, trazendo habilidades aos departamentos de saúde. Uma ação de fortalecimento das condutas de cada país é capacitar todos os profissionais envolvidos na resposta emergencial e principalmente os profissionais em saúde pública.

É necessário tornar os profissionais, agentes públicos e comunidades, resilientes em caso de emergência. Preparar e treinar a força pública e prestadores de serviço de saúde e formar líderes do setor público e privado são a chave para o sucesso nas ações corretivas pós-evento de bioterrorismo.

Outra estratégia é ter um grupo de coordenação de atividades e fornecedor recursos necessários para a melhor ação em cada caso e de acordo com o agente utilizado.

Outra estratégia é portar grupo de apoio que irá manusear e recuperar, tomar posse de agentes biológicos e toxinas que foram utilizados indevidamente. No EUA, isso ocorre através do Programa de agentes selecionados do CDC. Esse programa promove ciência em seus departamentos e garantem testes rápidos e eficientes para laboratórios, realiza permutas e parceria em caso de rápido acesso a medicamentos e desenvolve orientação durante emergência.

Durante uma possível exposição de um risco biológico ou químico e os primeiros sinais de arma terrorista, os locais de atendimento podem não ser suficientes para atender grandes demandas de imediato, pois levará um tempo para o diagnóstico correto do agente utilizado e as medidas a serem tomadas. Dessa forma, a primeira conduta solicitada pelas regulamentações internacionais, é manter um kit de emergência e se manter na residência até as ações estratégicas sejam iniciadas.

O kit de emergência visa manter suprimentos necessários para rotina alimentar, manter os familiares em casa e suas medicações, evitando imediatamente aglomerações, preparar filtros de ar nas residências, manter reservatórios de água sempre cheios, manter acesso à mídia de rádios e TVs para receber informações oficiais.

As informações recebidas serão instruções gerais, desde os sintomas da doença, as áreas de perigo, o centro de distribuição de vacinas e medicamentos, locais de atendimento médico preparado para cada tipo de agente, locais de isolamento e quarentena.

Os protocolos quando necessário, como o uso de máscaras, eliminação de focos e objetos contaminados, lavarem as mãos com frequência, não compartilhar objetos, evitar alimentos crus e carnes e outros, são transmitidas pela população.

Essa é uma estratégia utilizada em diversos países para dar fôlego nas condutas seguintes do órgão de defesa.

Outra estratégia é o uso da inteligência artificial no uso de dispositivos e softwares capazes de rastrear e analisar dados cibernéticos, identificando padrões e comportamentos e palavras-chave e algoritmo de redes sociais.

Através de softwares estratégicos a Segurança Nacional pesquisa e monitora os imigrantes suspeitos, grupos extremistas, coletando dados para serem estudados, decodificados e selecionados para compor relatórios a serem enviados para os serviços de inteligência nacional.

Muitos membros terroristas foram presos por ações de percepção e inteligência artificial. Essa ferramenta é largamente usada pelos órgãos de responsabilidade de cada país. Constantemente redes sociais são patrulhadas e codificadas por softwares e acompanhadas pelas instituições de defesa. Escutas telefônicas, sistema de monitoramento por câmeras, chips de cartão de crédito, acompanhamento de ERBs, que são antenas de comunicações eletrônicas, são algumas formas de levantamento de dados para o setor de inteligência. Outra forma de levantamento de dados são agentes infiltrados em organizações terroristas para levantar informações. São inúmeras as formas de angariar dados para promover contrarresposta em Segurança Pública.

## **5.4 ÓRGÃOS DE RESPONSABILIDADES NO BRASIL**

Ainda não há no Brasil um programa formal para prevenção e resposta à emergência terrorista, porém existem protocolos de ações e manejo coordenados por diversas instituições responsáveis no país. Muitos procedimentos adotados no Brasil são baseados os procedimentos da CDC.

As responsabilidades de cada órgão estão bem delineadas e com excelentes aparatos de segurança contra agentes de forma ofensiva.

A Agência Brasileira de Inteligência (ABIN) foi criada em 1999, sendo o centro do Sistema Brasileiro de Inteligência (SISBIN) que planeja e executa atividades de Inteligência no país, fornecendo informações à Presidência da República e aos órgãos interessados, e avalia ameaças internas e externas, para tomadas de decisões.

As ações de Inteligência reúnem dados, informações e conhecimento relativo a um determinado assunto através de uma metodologia de validação do conhecimento, na qual ocorre o processamento dos dados, apresentando um resultado imparcial, amplo, claro e conciso, para que ocorra uma tomada de decisão baseada em fatos técnicos.

É a Inteligência que transforma a informação crua em fatos explicativos e preditivos dando qualidade na informação a ser repassada. Quando se trata de agentes biológicos a ABIN possui o Programa Nacional de Proteção do Conhecimento Sensível (PNPC), criado em 2009, com o objetivo de salvaguardar os interesses do Estado e da Sociedade. Esse programa possui parceiras com diversas empresas que detêm o conhecimento sensível do país.

A ABIN tem a obrigação de executar planejamento estratégico, com metas e ações, bem como acompanhar, avaliar, supervisionar com apoio de instituições privadas e públicas para garantir a efetividade do programa, enquanto a PNPC possui atuação nas áreas de pesquisas, inovação científica e tecnológica, bem como proteger o conhecimento tradicional, patrimônio genético e culturas indígenas.

É através da ABIN e do PNPC que as informações estratégicas da Biotecnologia do país estão protegidas. Além desse programa, compete ao Departamento de Contraterrorismo (DCT) e o Departamento de antiterrorismo (DAT) da ABIN, planejar condutas de prevenção contra ações terroristas dentro do território nacional.

É a DCT que acompanha o uso de agentes biológicos no Brasil e ações de investigação do uso ofensivo, enquanto a ABIN coordena os trabalhos de inteligência. Portanto, ocorre no país um acompanhamento de ameaças à segurança nacional de agentes causadores de riscos.

Outro órgão de suma importância é o Departamento de Polícia Federal (DPF) que é o órgão específico, organizado, permanente, autônomo e mantido pela União, subordinado ao Ministro de Estado da Justiça, com a função de exercer, em todo território nacional, as atribuições listadas na Constituição Federal. A constituição Federal, no artigo 144: 1988:

A segurança pública, dever do Estado, direito e responsabilidade de todos, é exercida para a preservação da ordem pública e da incolumidade das pessoas e do patrimônio, através dos seguintes órgãos: I - polícia federal; II - polícia rodoviária federal; III - polícia ferroviária federal; IV - polícias civis; V - polícias militares e corpos de bombeiros militares. § 1º A polícia federal, instituída por lei como órgão permanente, organizado e mantido pela União e estruturado em carreira, destina-se a: I - apurar infrações penais contra a ordem política e social ou em detrimento de bens, serviços e interesses da União ou de suas entidades autárquicas e empresas públicas, assim como outras infrações cuja prática tenha repercussão interestadual ou internacional e exija repressão uniforme, segundo se dispuser em lei; II - prevenir e reprimir o tráfico ilícito de entorpecentes e drogas afins, o contrabando e o descaminho, sem prejuízo da ação fazendária e de outros órgãos públicos nas respectivas áreas de competência; III - exercer as funções de polícia marítima, aeroportuária e de fronteiras; IV - exercer, com exclusividade, as funções de polícia judiciária da União. (CF, 1988 art.144).

A Polícia Federal, em casos de terrorismo, agirá de forma atípica, sendo uma polícia da União para ações de manejo de incidentes com agentes biológicos e afins.

É o DAT responsável por ações de prevenção e supervisão de atos terroristas e possui competência de acompanhar indivíduos, alvos, cenários que possam impactar a segurança nacional. Em conjunto com a DAT da Diretoria de Inteligência estão a Diretoria Técnico-Científica (DITEC) que faz parte do DPF, que dirige, planeja, coordena, controla, avalia e executa ações voltadas à perícia criminal e bancos genéticos.

No contexto de armas terroristas o Grupo de bombas e explosivos (GBE) da Polícia Federal tem grande relevância em perícias e manejo de produtos perigosos, como agentes

biológicos, agentes químicos, produtos explosivos, agrotóxicos, fontes radioativas e combustíveis. É o GBE que atende locais ameaçados/impactados e instrui procedimentos daqueles sobre real ameaça, isolamento e preservação dos locais.

Outro grupo de ação da Polícia Federal é o Comando de Operações Táticas (COT) e o Grupo de Pronto Intervenção (GPI) com ação de resposta às ameaças e no controle estratégico do gerenciamento de crise. Dentro desses grupos a Área de Perícias Externas (APEX) é acionada para manejar ameaças de agentes biológicos e quando se trata de cartas não identificadas. A Área de Perícias em Genéticas Forenses (APGEF) é acionada quando ocorre a necessidade de evidências da origem, conteúdo do organismo usado na arma biológica, e de cunho de materialidade do crime.

De grande importância no contexto de ação contra terrorismo o Departamento de Polícia Rodoviária Federal (DPRF) com a competência de patrulhar ostensivamente as rodovias e estradas federais, com o objetivo de preservação da ordem, proteger o patrimônio e a sociedade, prestar serviços de atendimento, salvamento e socorrem as vítimas, bem como a proteção contra bioterrorismo, biocrimes, atuar no reconhecimento de ameaças, bem como controlar o tráfego para facilitar a aproximação das equipes de resposta.

As Forças Armadas possuem a competência no enfrentamento de incidentes envolvendo terrorismo, armas biológicas e químicas, devido ao vasto treinamento que ocorrem no Exército Brasileiro possuindo todo rol e diretrizes do Sistema de Defesa biológica, química e nuclear, possuindo unidades de referência e importância na biodefesa do país. O batalhão mais relevante é o de Defesa Química, Biológica, Radiológica e Nuclear (1º Btl DQBRN) que oferece todo assessoramento em assuntos de armas químicas, físicas e biológicas, bem como o dar apoio às forças especiais e terrestres.

A Companhia de Defesa Química, Biológica, Radiológica, Nuclear (Cia DQBRN) das Forças Especiais brasileiras, presta apoio e suporte no combate especializado de alta competência e com apoio do Instituto de Biologia do Exército (IBEX), ambos provêm o suporte técnico laboratorial e dão o suporte para o sistema de saúde em tempos de crise. É o IBEX que executa projetos científicos e de pesquisa, como por exemplo, micologia clínica, virologia, medicina tradicional e tropical, venenos, entomologia, genética e outros.

O IBEX possui laboratório de nível de biossegurança NB-3 para estudos diversos no que tange armas biológicas. Além desse laboratório, as Forças Armadas também possui o Centro Tecnológico do Exército (CTEX) que realiza pesquisas na defesa contra agentes terroristas em especial o desenvolvimento de métodos laboratoriais que identifiquem o agente químico ou biológico e o estudo do impacto na população animal e meio ambiente. Além de estudos em parcerias com outros institutos para antídotos, medicamentos e vacinas.

A Marinha do Brasil (MB) busca através de suas competências o fortalecimento de medidas de defesa contra agentes de uso em armas terroristas, mantendo treinamentos para o Corpo de Fuzileiros Navais e a criação de Companhias de Defesa como, por

exemplo, Itajaí e Aramar, além de companhias especializadas para defesa do país. A MB está confeccionando laboratórios móveis de nível de Biossegurança NB-3 com a aquisição de modernos equipamentos de biotecnologia genética, detectores radiológicos, para que formar um novo sistema de proteção específico em conjunto com a Força Aérea Brasileira (FAB), que conta com Hospitais que estão equipados em situações de emergência.

A Secretaria Nacional de Defesa Civil (SEDEC) sediada no Ministério da Integração Nacional zela pela proteção civil no Brasil e possui apoio de diversos setores. A missão da SEDEC é coordenar ações na proteção civil em todo território nacional, bem como reduzir riscos de desastre, utilizando mitigação, recuperação, preparação e ações de defesa nos níveis federais, estaduais e municipais em conjunto com a comunidade. A Política Nacional de Defesa Civil traz em sua missão a ação em desastres antrópicos de natureza biológica, sendo que efetivamente a Defesa civil é ferramenta de apoio em logística para as demais equipes de combate.

O Ministério da Saúde (MS) é o órgão que atua na promoção humana e acesso ao Sistema Único de Saúde (SUS), possuindo uma rede ampla de unidades espalhadas em todo país. É o MS que possui o papel de proteger a coletividade contra organismos biológicos tanto de cunho de uso intencional ou não, com a capacidade de gerenciar respostas e promover a assistência à saúde.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) tem o objetivo de promover e proteger a saúde coletiva por intermédio de regulações e normativas de produtos, serviços, ambientes, processos, insumos e tecnologia de controle sanitário. É papel da ANVISA as atividades de controle epidemiológico, vetores, aeroportos e portos, fronteiras através da Gerência Geral de Portos, Aeroportos e Fronteiras (GGPAF). Recentemente a GGPAF publicou um sistema de gestão de riscos em aeroportos, portos e fronteiras que permite o acompanhamento em tempo real das inspeções sanitárias que chegam ao Brasil e assim possibilita um diagnóstico de riscos dos principais pontos de entrada de produtos no país. A Secretaria de Vigilância em Saúde também monitora através de seus sistemas e aciona a ABIN e outros membros, quando ocorre necessidade de ações integradas.

E por fim, é o Ministério da Ciência e Tecnologia e Inovação (MCTI) que possui a atribuição de implantar acordos, tratados, normativas internacionais de desarmamento de armas de destruição, bem como trocas e transferências de dados entre os associados. É através da Coordenação de Implementação e acompanhamento e controle biológico (COCB) que impõe a proibição de armas biológicas no país, além de participar de reuniões e assinar acordos.

## PRÁTICAS SEGURAS

A Biossegurança tem um de seus pilares às práticas seguras, pois contribui com ambiente ideal para colaboradores, visitantes e estudantes, através de planejamento e execução de normas de Segurança e saúde do trabalho.

Identificar áreas, implantar protocolos, manter e cumprir parâmetros normativos e procedimentos de segurança, com o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo, fomentam medidas de prevenção e controle de riscos. Condutas e boas práticas profissionais são ferramentas eficazes na construção de equipes, conquista de objetivos e metas, eficiência na capacidade produtiva e com qualidade nos produtos e serviços prestados.

A capacitação contínua aliada à conduta de boas práticas preservam a saúde pessoal e coletiva e proteção contra doenças de cunho ocupacional. A execução de tarefas deve se pautar em planejamento, supervisão, treinamento e proteção ambiental.

### 6.1 BOAS PRÁTICAS PROFISSIONAIS E BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO

A manutenção de ambientes limpos, higiene pessoal e coletiva, protocolos de segurança e descarte adequado de resíduos, fazem parte da efetiva prática segura em todos os ambientes ocupacionais, domésticos e coletivos.

Após todo o procedimento de limpeza e desinfecção, deve ser avaliada sua efetividade de higienização. A limpeza das mãos é um dos fatores mais importantes em todos os estabelecimentos da saúde e afins, e sua verificação de eficácia pode ser realizada por meio de amostragem com swabs e plaqueamento em meio de cultura para promover o crescimento bacteriano e esse procedimento pode ser feito em objetos, mesas, paredes e outros componentes que sejam de interesse clínico.

Outra técnica de averiguação de áreas limpas é o uso de marcadores ultravioletas que promovem a bioluminescência demonstrando as áreas que precisam repetir os procedimentos de limpeza. Quando se trata de autoclavação, bioindicadores de bactérias termófilas como os esporos de *Geobacillus stearothermophilus*, são de extrema necessidade para garantir a correta esterilização de equipamentos cirúrgicos e culturas microbiológicas.

As boas práticas profissionais devem ser usadas em todos os ambientes de trabalho, desde escritórios até laboratórios, com o objetivo na prestação de serviços de qualidade com saúde ocupacional. Nesse contexto, é necessário delinear as estratégias e condutas a serem realizadas e os profissionais envolvidos no processo, focando em treinamentos eficazes e meios de angariar recursos ambientais para promoção da saúde na esfera trabalhista.

Por isso, a gestão por processos envolvem toda cadeia de etapas, desde a manipulação de insumos pelo fornecedor até o destino final do produto ou serviço. Para garantir todo o processo, as empresas investem em sistemas de gestão da qualidade.

As boas práticas laboratoriais (BPL) possuem alguns requisitos mais elaborados em relação aos outros empreendimentos e são regulamentados pela ANVISA e pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). São esses órgãos que habilitam e acreditam o sistema de gestão, fornecendo certificados de qualidade e boas práticas. O Ministério da Agricultura e Pecuária credencia laboratórios de seu interesse e autoriza prestadores de serviços para emitir relatórios dentro das normativas do BPL, para fins de controle de qualidade de produtos regulamentados pelo órgão.

Dessa forma, os locais que implantam e mantêm boas práticas de produção e boas práticas de laboratório, demonstram excelente conduta operacional, processos monitorados, indicadores e metas, melhoria contínua, e corpo de colaboradores treinados a fim de garantir que os requisitos estabelecidos sejam alcançados.

A empresa deve estar familiarizada com procedimentos administrativos e operacionais, bem como garantir a experiência e competência necessária para executar um serviço ou ensaio. Todos os processos possuem uma periodicidade de auditorias internas e externas a fim de avaliar o sistema de gestão e promover melhoria contínua.

A garantia da qualidade nos estabelecimentos da saúde possuem requisitos específicos e o sistema é validado pelo uso de controles internos e externos, pelo uso de material de referência certificado, por Programas interlaboratoriais, pelas validações, uso de normativas publicadas e pelas condutas padronizadas pela organização.

Quando se trata de laboratórios, as boas práticas regulamentam quesitos específicos, devido aos riscos biológicos envolvidos, sendo os principais:

- \* não é recomendado consumir bebidas e alimentos no laboratório e tudo que induz às mãos à boca deve ser evitado;
- \* estocar alimentos em locais apropriados, longe de produtos químicos, tóxicos, biológicos ou inflamáveis;
- \* nunca aquecer alimentos em equipamentos do laboratório;
- \* é proibido fumar no laboratório e nas áreas de risco de incêndio. Áreas específicas devem ser fornecidas;
- \* as questões de higiene como limpeza das mãos devem ser realizadas diversas vezes durante o horário de trabalho e nunca dividir toalhas, usando sempre materiais descartáveis. Escovação de cabelo e dentes deve ser feitas nos vestiários;
- \* evitar a aplicação de cosméticos, perfumes, cremes, principalmente os operadores de cobaias e animais testes. Setores de medicina ocupacional e cromatografia devem evitar contaminações externas.
- \* lentes de contato devem ser manipuladas em áreas externas aos laboratórios;
- \* os equipamentos de proteção devem ser utilizados sempre quando necessários. As luvas são de cunho obrigatório em laboratórios clínicos;

- \* é proibido deixar membros inferiores e superiores à mostra. Uso de sapatos fechados, jaleco e calças são obrigatórios;
- \* deve evitar o toque de mãos em superfícies contaminadas e logo após pegar maçanetas, telefones, teclados e outros objetos. Evitar trocas de objetos entre setores.
- \* os cabelos devem estar sempre presos, unhas cortadas e limpas.
- \* evitar adornos como colares e pulseiras, evitando acidentes de trabalho e ainda podem ser fontes de contaminação das amostras;
- \* sempre estar ciente das medidas de segurança, onde se encontra o lava olhos e chuveiro de emergência e outros;
- \* não distrair os demais colaboradores ou perturbar o silêncio que às vezes, é necessário no ramo laboratorial.
- \* rotular substâncias, identificar produtos, seguir a incompatibilidade e as orientações das fichas de segurança de produtos químicos (FISPQ);
- \* utilizar capelas para reações de vapores e gases e em riscos biológicos, utilizar a cabine de segurança biológica;
- \* sinalizar áreas;
- \* seguir recomendações para cilindro de gases estocados;
- \* realizar o descarte correto de resíduos;
- \* nunca utilizar a boca em nenhum procedimento inclusive a pipetagem.

### 6.1.1 Condutas seguras e unidades de isolamento

As condutas seguras são a chave para o sucesso da Biossegurança em locais de riscos biológicos, e essas devem estar implantadas, documentadas e auditadas em todos os níveis da organização.

Algumas doenças necessitam de certos procedimentos dentro de estabelecimentos da saúde para evitar disseminação nas áreas do hospital ou afins. Algumas linhagens de bactérias, como por exemplo, a *S. aureus* – MRSA, o *Enterococcus sp* resistente a vancomicina, a KPC e outras Enterobacterias multirresistentes, devem promover de imediato, o isolamento do paciente. Esse isolamento também deve ser seguido em atentados de armas biológicas.

Alguns pacientes que contém imunidade baixa devem ser isolados para evitar novos focos. Quando ocorre a positividade de um paciente imunossuprimido por *Aspergillus spp* e *Legionella spp*, *Clostridium difficile*, Rotavírus, Vírus sincicial respiratório, o mesmo, deverá ser isolado.



Outros organismos com baixa virulência não necessitam de isolamento, apenas a aplicação das boas práticas profissionais, como troca de luvas, movimentação de entrada e saída de material limpo e sujo, uso de aventais e máscaras, reduzem a gravidade de transmissão.

As condutas seguras devem ser realizadas em todos os procedimentos de ambientes da saúde seguindo as recomendações da BPL e quando necessários às condutas específicas são aplicadas para evitar patogenias críticas seguem as recomendações da gerência das organizações dos Serviços de saúde, buscando o bloqueio das infecções hospitalares e a notificação compulsória de doenças de cunho agravante, segundo tabela a seguir:

Nível de agravo de notificação compulsória – lista Nacional	Doença
Anexo I	Carbúnculo, coqueluche, cólera, dengue, doença de chagas, difteria, doenças meningocócica e meningites, esquistossomose, febre amarela, febre do Nilo ocidental, tifo, febre maculosa, HIV, leishmaniose, leptospirose, malária, raiva humana, rubéola, sarampo, sífilis, Síndrome respiratória aguda - SARS, tétano, tulameria, tuberculose e varíola.
Anexo II Notificação imediata	Caso suspeito: Botulismo, antraz, cólera, febre amarela, hantavirose, peste, raiva humana, síndrome febril íctero-hemorrágica, SARS, varíola e tularemia. Caso confirmado: sarampo, poliomielite, tétano neonatal. Surtos: chagas, influenza, doenças meningocócica, difteria.

Tabela – Lista de notificação compulsória para a Gerência dos serviços de saúde.

Fonte: ANVISA (2004).

### 6.1.2 Prevenção contra infecções hospitalares

As infecções hospitalares, também chamadas de Infecções de Assistência à saúde ou infecções nosocomiais, fazem parte das questões ocupacionais, riscos aos pacientes, visitantes e para o meio ambiente. Se observarmos as evoluções das normativas ligadas à área da saúde, podemos notar as influências da Biossegurança na prevenção e controle.

É através da Biotecnologia com realização de pesquisas de vacinas, produtos e equipamentos que notamos que os riscos ocupacionais são minimizados ao longo dos anos. A organização dos níveis de biossegurança, medidas de controle, condutas, práticas de higiene e limpeza, conduzem uma redução de números de infectados nos ambientes de saúde. A vigilância sanitária busca promover ações, inspeção, controle de doenças de fácil transmissão, fatores de risco, medidas de orientação, publicidade, campanhas em prol da saúde da população e dos indivíduos hospitalizados.

Na busca da prevenção, o Governo e o Ministério da Saúde, coordenam projetos e programas de instrução, para prevenir e tratar doenças como hepatites, dengue, hanseníase e outros surtos. O Programa Nacional de Imunizações, por exemplo, coordena

a rede nacional de laboratórios no âmbito da saúde, levanta necessidades para pesquisas científicas, além de campanhas de vacinação em massa.

As infecções nosocomiais são de alta incidência e ocorrem em procedimentos médicos, internações, sendo as bactérias as que se destacam principalmente as chamadas oportunistas. Os hospitais são os reservatórios de patógenos de alta virulência e persistência, como os vírus das hepatites, viroses respiratórias e as Enteroviroses, que podem ficar anos ou décadas no ambiente.

Duas são as portas de entrada, sendo então divididas em via endógena, na qual o próprio paciente porta o patógeno oportunista; ou exógena, o ambiente causou a infecção, por exemplo, instrumentação contaminada, ar, procedimentos de enfermagem sem os princípios de biossegurança.

Os fatores que elevam a gravidade das infecções hospitalares são o sistema imune debilitado, idade, idosos com outras morbidades, recém-nascidos e aidéticos são geralmente os mais impactos.

A Biossegurança age no sentido de orientar, padronizar, implantar, analisar criticamente e propor ações de melhoria. Dessa forma, a causa raiz da disseminação das infecções hospitalares é uma junção de automedicação, doenças correlatas, o uso de antibióticos em massa, negligência hospitalar e do sistema de saúde, falta de higiene, falta de ética e responsabilidade de profissionais, descaso público, falta de controle de qualidade em sistemas de desinfecção e esterilização e outros que parte da gerência dos empreendimentos.

### 6.1.3 Simbologia

A simbologia, rotulagem, alertas, sinais de aviso e demais figuras são de extrema importância em questões de Biossegurança (figura 12A). Esses procedimentos são previstos na Norma regulamentadora NR 26 e na ABNT 7500:2018, sendo a sinalização de segurança um dos procedimentos mais eficazes na prevenção de acidentes.

Os sinais de alerta, avisos e o mapeamento de riscos, são as melhores ferramentas de proteção de acidentes. A sinalização de aviso e perigo tem o objetivo de alertar sobre situações, acarretando um sentimento de atenção no colaborador, sendo de formato triangular e fundo amarelo.

A sinalização de emergência indica ações dentro de um plano de contingência em situações anormais como fugas, hidrantes, extintores, sendo de formato quadrado e de cor vermelha ou verde.

A sinalização de obrigação, como o nome diz, é de cunho obrigatório como indicação de protetores em uma determinada área, sendo de formato redondo e de cor azul.

A sinalização de segurança de químicos busca de forma simples mostrar a qualidade do produto químico e segue padrões da Organização das Nações Unidas (ONU) para universalizar o manuseio, rotulagem e transporte.

A sinalização química é dividida em substâncias que possuem perigo à saúde; substâncias que causam fogo e explosão; substâncias irritantes; substâncias corrosivas e substâncias que impactam a Natureza.

A ONU em conjunto com a Organização Internacional do Trabalho e Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) estabeleceram um sistema internacional chamado Sistema Globalmente Harmonizado (GHS) que padroniza o sistema de rotulagem através de pictogramas, conforme ilustração da figura 12 B.



Figura 12. A Ilustração da sinalizações de obrigação, alerta e proibições. B: Ilustração do Pictograma.  
Fonte: Banco Shutterstock/free

## 6.2 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL (EPI)

Os equipamentos de proteção surgiram para garantia de manutenção da saúde e segurança dos colaboradores, visitantes e fornecedores dentro de uma organização.

As doenças ocupacionais podem ser minimizadas por medidas que atenuem ou bloqueiem agentes causadores de um efeito deletério ao organismo humano.

O fornecimento gratuito desses dispositivos de proteção são de cunho obrigatório e de acordo com os riscos de uma determinada área ou serviço, sendo regulamentada na NR 6 do MTE. Além o fornecimento é previsto treinamento eficaz, supervisão, troca e uso correto segundo as indicações do manual do fabricante, sendo aprovado pelo órgão competente através do certificado de aprovação (CA). Segundo a NR 6 (2018):

Considera-se Equipamento de Proteção Individual (EPI), todo dispositivo ou produto, de uso individual utilizado pelo trabalhador, destinado à proteção de riscos suscetíveis de ameaçar a segurança e a saúde no trabalho. O equipamento de proteção individual, de fabricação nacional ou importado, só poderá ser posto à venda ou utilizado com a indicação do Certificado de Aprovação (CA,) expedido pelo órgão nacional competente em matéria de segurança e saúde no trabalho do Ministério do Trabalho e Emprego. Os EPIs são: proteção da cabeça, olhos e face, auditiva, respiratório, tronco, membros superiores e inferiores, corpo inteiro, proteção contra quedas com diferença de nível. (NR 6, 2018).

Outra norma regulamentadora, a NR 10, que descreve sobre segurança em instalações e serviços de eletricidade, estipula os requisitos de vestimentas segundo os critérios de condutibilidade, eletromagnetismo e inflamabilidade, sendo adequada a atividade proposta.

Os EPI's mais usados no âmbito ocupacional estão os protetores de cabeça, representados pelos capacetes; os protetores de olhos, que são os óculos de segurança de diversos modelos, sendo alguns protetores de cabeça completa; protetores faciais, que protegem o rosto de fontes de calor e impactos; as máscaras, que possuem diversos modelos que vão desde proteção contra químicos, tóxicos e materiais particulados, portanto carvão ativado e resinas de alta performance, bem como para riscos de aerossóis e agentes biológicos; e os EPIs que portam oxigênio acoplado e com proteção do corpo inteiro para os níveis de biossegurança 3 e 4.

A proteção para membros superiores e troncos como punho, macacão, mangotes, jalecos, protetores de braços contra choque, radiação, cortes, químicos e outros são muito usados em diversos empreendimentos. A proteção auditiva que são basicamente os protetores auriculares do tipo plug, concha, orelha, devem ser fornecidos para visitantes e fornecedores. Os protetores de membros inferiores são os diversos calçados e perneiras que visam desde impactos, umidade, temperatura, agentes patogênicos, mordidas e picadas de animais peçonhentos. E por fim, o protetor contra quedas, que são os cinturões, cordas, e sistemas de amarras.

### **6.3 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO COLETIVA (EPC)**

O equipamento de proteção coletivo mais conhecido é o chuveiro de emergência acoplado ou não ao lava olhos, seguidos pelos os dispositivos de atendimento a incêndios, explosões, sistemas filtrantes de ar e capelas de gases.

O chuveiro de emergência e o lava olhos são universalmente utilizados nos locais que possuem os riscos químicos, ou seja, em indústrias químicas e petroquímicas, farmacêuticas, laboratórios, estações de tratamento de esgoto e água e hospitais, servindo de ação imediata quando ocorreu um derrame sobre o corpo ou olhos de um colaborador.

Em locais de NB 3 e NB 4 é obrigatório o uso de cabines de segurança biológica, segundo a NR 32, contendo filtração de ar e assim, o operador está seguro em manipular organismos de alto risco. Esse sistema de filtração atende aos requisitos para reter partículas virais e bacterianas através de materiais filtrantes de alta eficiência.

Em estabelecimentos de Saúde e laboratórios, segundo a NR 32, ocorre à obrigatoriedade de manter lavatórios com água corrente, toalhas descartáveis, sabonete líquido de preferência contendo agentes desinfetantes, lixeira com abertura através de pedais, evitando contato das mãos do operador com as lixeiras.

Outros exemplos de EPC's são sistemas de ventilação laboral, telas e sistema de proteção contra insetos, proteção de máquinas e robôs, sistema de alarme, exaustores, ventiladores, ar condicionado, sinalização e placas de avisos, sensores, corrimão, barreiras e antiderrapantes, paredes chumbadas contra radiação ionizante, bloqueadores de luminosidade, cabines, guarda-corpo, armários de primeiros socorros, purificador de ar e água.

A dedetização de ambientes e as limpezas periódicas dos reservatórios de água também são ferramentas de proteção coletiva.

O descarte adequado de resíduos de diversas fontes afetam todos os colaboradores da empresa. O mesmo serve para estabelecimentos que manipulem OGMs, sendo que a destinação adequada dos materiais oriundos dos procedimentos, devem ser descartados corretamente, evitando danos aos colegas de trabalho e ao meio ambiente.

Quando se trata em serviços de eletricidade, a NR 10 solicita tensão de segurança e sistema automático de alimentação e bloqueio do religamento, aterramento, obstáculo e isolamento das partes vivas.

## BIOSSEGURANÇA AMBIENTAL

### 7.1 RESÍDUOS

Questões ambientais em Biossegurança são de extrema necessidade visando à manutenção da vida no planeta. A gestão ambiental em Biossegurança se volta para a promoção da saúde e da coletividade, através de ações de preservação ambiental, evitando a disseminação de doenças, manutenção das áreas verdes e nativas, proteção de água potável, praticamente seguindo os Objetivos de Desenvolvimento sustentável.

Resíduos podem ser entendidos ou interpretados como algo que não possa ser reaproveitável, ou um subproduto de qualquer origem, que não seja desejável para um processo. De acordo com o termo da palavra, é algo que restou.

São classificados em líquidos, semissólidos e sólidos, sendo chamado, muitas vezes de lixo, efluente, dejetos, esgoto, material a ser descartado, com denominações que levam ao mesmo assunto que é resíduo.

O principal regulamento sobre o assunto utilizado pela Biossegurança é a Resolução da Diretoria Colegiada, a RDC 222:2018, que traz regulamentos de Boas Práticas de Gerenciamento de Resíduos e outros assuntos afins.

Quando se trata de resíduos radioativos, no Brasil, está pautado na Resolução CNEN. NE-6.05 da Gerência de rejeitos radioativos e instalações radioativas que traz todo rol de procedimentos, manuseio, transporte e destino final.

Outro órgão de grande importância sobre resíduos é a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), que mantém normativas como a ABNT NBR 10.004: 2004 - Resíduos sólidos – Classificação e a ABNT NBR 12.807 E 12.808: 2016, ambas elaboradas pela Comissão de Estudo Especial de Resíduos de Serviços de Saúde e regulamentam especificamente sobre resíduos da saúde. Segundo a ABNT (2004):

Resíduos sólidos: nos estados sólido e semissólido, que resultam de atividades de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviços e de varrição. Ficam incluídos nesta definição os lodos provenientes de sistemas de tratamento de água, aqueles gerados em equipamentos e instalações de controle de poluição, bem como determinados líquidos cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou corpos de água, ou exijam para isso soluções técnica e economicamente inviável em face à melhor tecnologia disponível. A classificação de resíduos envolve a identificação do processo ou atividade que lhes deu origem e de seus constituintes e características e a comparação destes constituintes com listagens de resíduos e substâncias cujo impacto à saúde e ao meio ambiente é conhecido. (ABNT, 2004).

Quando se trata especificamente de resíduos de saúde que são legislados pela ANVISA, os geradores e suas obrigações de acordo com a RDC 222 (2018):

Definem-se como geradores de RSS todos os serviços cujas atividades estejam relacionadas com a atenção à saúde humana ou animal, inclusive os serviços de assistência domiciliar; laboratórios analíticos de produtos

para saúde; necrotérios, funerárias e serviços onde se realizem atividades de embalsamamento (tanatopraxia e somatoconservação); serviços de medicina legal; drogarias e farmácias, inclusive as de manipulação; estabelecimentos de ensino e pesquisa na área de saúde; centros de controle de zoonoses; distribuidores de produtos farmacêuticos, importadores, distribuidores de materiais e controles para diagnóstico in vitro; unidades móveis de atendimento à saúde; serviços de acupuntura; serviços de piercing e tatuagem, salões de beleza e estética, dentre outros afins. (RDC, 2018)

É a competência do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais (IBAMA) regulamentar a Política Nacional de Resíduos Sólidos, publicada na Lei 12.305: 2010, com o Cadastro Nacional de Operadores em Resíduos Perigosos, através do Cadastro Técnico Federal – CTF e naqueles que atuam na Gestão de Resíduos (CTF/AIDA). Esse cadastro favoreceu o país tanto na logística como na destinação de resíduos em cada estado, ainda mais com o Sistema Nacional de Informações sobre gestão de resíduos sólidos (SINIR).

Essa integração e ações conjuntas do IBAMA e MS facilitaram e integraram o manejo de resíduos no país. A destinação adequada é foco da Biossegurança ambiental evitando doenças respiratórias e alérgicas, doenças degenerativas, câncer e muitos outros causados pela qualificação de um resíduo.

## **7.1.1 Classificação e tipologia**

### *7.1.1.1 Resíduos infecciosos*

São denominados infecciosos, pois sua qualificação apresenta algum agente biológico, constituindo como um resíduo portando potencial que causar patologias ou efeito danoso ao meio ambiente.

As fontes geradoras normalmente são Hospitais, pronto-socorro, laboratórios clínicos, veterinárias, banco de sangue, Instituto Médico Legal (IML), necrotérios, dentre outros empreendimentos que manipulem materiais biológicos, como seringas, gases, tubos de sangue, agulhas, e todo e qualquer material que entre em contato com líquidos corpóreos humanos e animais.

Segundo prerrogativas do *World Health Organization* (WHO) a padronização interacional para infectantes são classificados como Grupo A e subdivididos nos subgrupos conforme a tabela a seguir:

Resíduos de serviços de saúde Grupo A	Tipos
Subgrupo A1	Culturas e estoques de microrganismos; resíduos de fabricação de produtos biológicos, exceto os medicamentos hemoderivados; descarte de vacinas de microrganismos vivos, atenuados ou inativados; meios de cultura e instrumentais utilizados para transferência, inoculação ou mistura de culturas; resíduos de laboratórios de manipulação genética. Resíduos resultantes da atividade de ensino e pesquisa ou atenção à saúde de indivíduos ou animais, com suspeita ou certeza de contaminação biológica por agentes de classe de risco 4, microrganismos com relevância epidemiológica e risco de disseminação ou causadores de doença emergente que se torne epidemiologicamente importante ou cujo mecanismo de transmissão seja desconhecido. Bolsas transfusionais contendo sangue ou hemocomponentes rejeitados por contaminação ou por má conservação, ou com prazo de validade vencido, e aquelas oriundas de coleta incompleta. Sobras de amostras de laboratório contendo sangue ou líquidos corpóreos, recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, contendo sangue ou líquidos corpóreos na forma livre.
Subgrupo A2	Carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais submetidos a processos de experimentação com inoculação de microrganismos, bem como suas forrações, e os cadáveres de animais suspeitos de serem portadores de microrganismos de relevância epidemiológica e com risco de disseminação, que foram submetidos ou não a estudo anatomopatológico ou confirmação diagnóstica.
Subgrupo A3	Peças anatômicas (membros) do ser humano; produto de fecundação sem sinais vitais, com peso menor que 500 gramas ou estatura menor que 25 centímetros ou idade gestacional menor que 20 semanas, que não tenham valor científico ou legal e não tenha havido requisição pelo paciente ou seus familiares.
Subgrupo A4	Kits de linhas arteriais, endovenosas e dialisadores, quando descartados. Filtros de ar e gases aspirados de área contaminada; membrana filtrante de equipamento médico-hospitalar e de pesquisa, entre outros similares. Sobras de amostras de laboratório e seus recipientes contendo fezes, urina e secreções, provenientes de pacientes que não contenham e nem sejam suspeitos de conter agentes de classe de risco 4, e nem apresentem relevância epidemiológica e risco de disseminação, ou microrganismo causador de doença emergente que se torne epidemiologicamente importante, ou cujo mecanismo de transmissão seja desconhecido ou tenha suspeita de contaminação com príons. Resíduos de tecido adiposo proveniente de lipoaspiração, lipoescultura ou outro procedimento de cirurgia plástica que gere este tipo de resíduo. Recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde que não contenham sangue ou líquidos corpóreos na forma livre. Peças anatômicas (órgãos e tecidos), incluindo a placenta, e outros resíduos provenientes de procedimentos cirúrgicos, de estudos anatomopatológicos ou de confirmação diagnóstica. Cadáveres, carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais não submetidos a processos de experimentação com inoculação de microrganismos. Bolsas transfusionais vazias ou com volume residual pós-transfusão.
Subgrupo A5	Órgãos, tecidos e fluidos orgânicos de alta infectividade para príons, de casos suspeitos ou confirmados, bem como quaisquer materiais resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais, suspeitos ou confirmados, e que tiveram contato com órgãos, tecidos e fluidos de alta infectividade para príons.

Tabela: Classificação de Resíduos infectantes.

Fonte: RDC 222 (2018)



### *7.1.1.2 Resíduos Perfurocortantes*

Os resíduos classificados como perfurocortantes são aqueles que têm a capacidade de induzir cortes, lesões e penetrar em tecidos cutâneos e possui agentes infectantes.

São enquadrados no grupo E, segundo a RDC 222, sendo representadas por agulhas, lâminas, escalpes, ampolas, limas endodônticas, brocas, pontas diamantadas, bisturi, tubos capilares, lancetas, micropipetas, lamínulas, lâminas diversas, espátulas e qualquer utensílio quebrado dentro do laboratório ou hospital.

Esses objetos são de alto risco para quem o manipula ou atua nos ambientes que são produzidos, sendo necessário o manejo responsável para prevenir acidentes de trabalho. O descarte é realizado em dispositivos rígidos, protegido e destinado de forma que nenhuma parte esteja descoberta.

### *7.1.1.3 Resíduos químicos*

Os resíduos químicos são aqueles que trazem severos riscos para o meio ambiente devidos aos critérios de corrosividade, inflamabilidade, reatividade e toxicidade.

É a norma ABNT 10.004 que classifica segundo critérios estabelecidos a tipologia baseado nos seus riscos potenciais ao meio ambiente e saúde pública e enfim, sejam destinados corretamente. A norma os divide em Classe I – Perigosos e Classe II – Não perigosos, sendo a classe II subdividida em II A – não inertes e II B – inertes.

Segundo a RDC 222, pautada na WHO, os resíduos químicos são classificados como Grupo B, resíduos que contendo substâncias químicas capazes de apresentar risco à saúde pública e causar impacto ao meio ambiente, são enquadrados nesse grupo.

Nessa classe se incluem produtos hormonais, antimicrobianos e fármacos, substâncias citostáticas, imunossupressores, antineoplásicos, digitálicos, imunomodulantes, qualquer insumo farmacêutico, subprodutos de reações químicas, desinfetantes, restos industriais, petroquímicos, líquidos contendo metais, e muitos outros que possuem em sua constituição química inorgânica e orgânica com a capacidade corrosiva, inflamável, tóxica e reativa.

Enquadram-se todos os produtos saneantes e desinfetantes, resíduos de laboratórios diversos, líquidos de processadores de imagens, resíduos de postos de combustíveis, indústrias químicas em geral, agrotóxicos, líquidos de máquinas hospitalares e de análises clínicas, e todos aqueles que estão listados na NBR 10.004: 2004. A NBR 12.808 ainda divide os medicamentos vencidos ou interditados como B2 e os demais resíduos perigosos como B3.

Para manuseio, armazenamento e transporte de resíduos químicos os protocolos de segurança estão descritos na ANBR NBR 7500:2018.

Para segurança química, os produtos não devem ser armazenados em ordem alfabética e sim na ordem de incompatibilidade química, segundo a tabela a seguir.

Nº	Grupo químico	Incompatível com os grupos representados pelos números listados na primeira coluna
1	Ácidos inorgânicos	2, 3, 4, 5, 9, 7, 8,10,11,13,14,16, 17, 18, 19,21,22, 23
2	Ácidos orgânicos	1,3,4,7,14,16,17, 18, 19,22
3	Cáusticos	1,2,5,7,8,13, 14, 15, 16, 17, 18,20,22,23
4	Aminas	1,2,5,7,8,13, 14, 15,18,23
5	Compostos halogenados	1,3,4,11,14,17
6	Álcoois, glicóis e éteres glicólicos.	1,7,14,16,20,23
7	Aldeídos	1,2, 3, 4,6,8,15-17,19,20,23
8	Cetonas	1, 3,4,7,19,20
9	Hidrocarbonetos saturados	20
10	Hidrocarbonetos aromáticos	1,20
11	Olefinas	1,5,20
12	Óleos derivados do petróleo	20
13	Ésteres	1,3,4,19,20
14	Monômeros (ésteres polimerizáveis)	1, 2, 3, 4, 5, 6,15,16,19, 20,21,23
15	Fenóis	3,4,7,14,16,19,20
16	Alquil óxidos	1, 2, 3, 4,6,7,14,15,17, 18,19,23
17	Cianidrinhas	1, 2, 3, 4, 5,7,16,19,23
18	Nitrilas	1, 2, 3, 4,16,23
19	Amônia	1,2,7,8,13, 14, 15, 16, 17,20,23
20	Halogênios	3,6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 21,22
21	Éteres	1,14,20
22	Fósforo	1,2, 3,20
23	Anidridos ácidos	1,3,4,6,7,14,16, 17, 18, 19

#### 7.1.1.4 Resíduos domésticos e recicláveis

Os resíduos identificados como domésticos remetem naqueles provenientes de atividades em quase pela totalidade, de domicílios, como banheiros e cozinhas e nos empreendimentos, são oriundos de refeitórios, banheiros, vestiários e fossas sépticas. E dentro dessa tipologia esses resíduos são denominados, segundo a RDC 222: 2018 e WHO: 2010, como grupo D – comuns, que não se incluem nas demais tipologias radiológicas, infectantes e químicos.

Exemplos desses resíduos são papéis sanitários, fraldas, absorventes, descartáveis, vestuários, restos alimentares, materiais em uso de pacientes em procedimentos de enfermagem, resíduos de áreas administrativas, varrição, podas, jardim, e afins. Mesmo com controvérsias sobre materiais contaminados com líquidos corpóreos e outros, ainda sim, os resíduos dentro de hospitais do leito de pacientes estão enquadrados como comum.

A NBR 12.808 determina que os resíduos comuns não se enquadrem nos demais grupos e não possuem riscos adicionais à saúde pública.

Os resíduos recicláveis podem ser utilizados em outros processos industriais e domésticos. A RDC 222 e ABNT não contemplam um grupo específico, porém o CONAMA 275:2001 e NBR 13.230:2008 enquadram e identificam com cores padronizadas sendo: vermelho (plásticos e afins); azul (papel e afins); verde (vidro); amarelo (metais); preto (madeira e afins); branco (infetantes); laranja (resíduos perigosos); roxo (radioativos); cinza (gerais, misturados e não reciclados); e marrom (orgânicos).

#### *7.1.1.5 Resíduos radioativos*

Os resíduos radioativos são os mais complexos e de alto impacto ambiental e na saúde humana. São duráveis, ou seja, ficam ativos na natureza por décadas, devido ao decaimento radioativo do elemento químico. Além da alta atividade e persistência, esses materiais possuem poder de penetração em diversas superfícies e tecidos, podendo atingir o código genético, e dessa forma, é tido como emissões radioativas mutagênicas e carcinogênicas.

Baseado na WHO: 2010 e RDC 22:2018, são classificadas no grupo C, que são qualquer material que possui radionuclídeos com potencial impactantes especificadas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) regulamento CNEN-6.05.

Enquadram-se nesse grupo os serviços de medicina nuclear, radionuclídeos em laboratórios de análises clínicas, radioterapia e usinas nucleares.

### **7.1.2 Gerenciamento de resíduos**

O gerenciamento dos resíduos gerados, em todos os contextos sociais e trabalhistas, é a ferramenta básica de questões em biossegurança ambiental, pois as precauções voltadas na segurança do meio ambiente e proteção do ecossistema, é um dos pilares dessa ciência que visa sustentabilidade e segurança ocupacional.

Tanto o processo de gerenciamento de resíduos (GR) quanto a Política Nacional de Resíduos sólidos (PNRS), estão sancionados na Lei 12.305:2010, porém seu início veio da Lei 6.938:1981; a Lei 9.605:1998 (crimes ambientais) e Lei 5.296:2005 do Saneamento básico.

Segundo a Lei 12.305 (2010):

Art. 3, X. Gerenciamento de resíduos sólidos: conjunto de ações exercidas, direta ou indiretamente, nas etapas de coleta, transporte, transbordo, tratamento e destinação final ambientalmente adequada dos resíduos sólidos e disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos, de acordo com plano municipal de gestão integrada de resíduos sólidos ou com plano de gerenciamento de resíduos sólidos, exigidos na forma desta Lei. (BRASIL, 2010 pag.1).

Atualmente o Ministério do Meio Ambiente (MMA) possui um Sistema Nacional de Informações sobre a Gestão de Resíduos sólidos (SINIR) que controla, analisa, divulga

dados sobre a gestão de resíduos no país através de Manifesto de transportes (MTR) que é um ato declaratório que informa os geradores, transportadores e destinadores de resíduos.

Dentro do contexto em Biossegurança, os resíduos devem ser manuseados por profissionais treinados e capacitados, seguindo a segregação por tipologia, sinalização, transporte e destinação. Quando se trata de resíduos de serviços de saúde, a RDC 222 (2018) preconiza os cuidados dentro de todo ciclo de vida do resíduo, sendo necessário o uso de EPIs para cada tipo de atividade, os sacos e recipientes devem ser adequados e rígidos e utilizados até 2/3 de sua capacidade. Até que ocorra coleta externa, devem ser armazenados em abrigos externos temporários obedecendo às questões de biossegurança, segundo a RDC 222 (2018), o abrigo deve ser:

I - Ser provido de pisos e paredes revestidas de material resistente, lavável e impermeável; II - Possuir ponto de iluminação artificial e de água, tomada elétrica alta e ralo sifonado com tampa; III - Quando provido de área de ventilação, esta deve ser dotada de tela de proteção contra roedores e vetores; IV - Ter porta com largura compatível às dimensões dos coletores; V - Estar identificado como abrigo temporário de resíduos. A sala de utilidades ou expurgo pode ser compartilhada para o uso do armazenamento temporário dos RSS dos grupos A, E e D, devendo ser compatível com a área a ser ocupada pelos coletores em uso (ANVISA, 2018).

O acondicionamento de um resíduo infectante deve seguir a cor branca leitosa e os perfurocortantes em recipientes rígidos. Os resíduos tipo A1 e A2 devem seguir para autoclavação ou incineração. Os líquidos infectados devem ser tratados na própria instituição antes de serem enviados para a rede coletora pública. Quando se tratam de peças anatômicas, fetos, órgãos, membros devem ser separados dos demais podendo se manter em câmeras frias até sua retirada. Resíduos químicos devem ser acondicionados com ventilação e segundo critérios de incompatibilidade e em recipientes que evitem vazamentos. Resíduos radioativos seguem a risco o padrão da resolução CNEN-NE-6.05. Os demais resíduos devem ser acondicionados segundo critérios de cores.

Todo armazenamento deve seguir os princípios de limpeza, higiene, identificação, segurança e EPIs, dedetização, sistema de coleta de água pluvial e esgoto, paredes lisas e laváveis, segregação de resíduos por tipologia e treinamento dos envolvidos. Os resíduos comuns devem ser acondicionados fechados evitando insetos e roedores. Para destinação devem seguir as normativas do órgão municipal, estadual e federal.

Os resíduos químicos podem ser destinados para incineração, coprocessamento, compostagem, incorporação, encapsulamento, disposto em aterro industrial controlado, de acordo com suas características. Para os resíduos hospitalares, normalmente são destinados para autoclavação com posterior aterramento ou incineração.

Os aterros devem ser planejados com coleta de líquidos de decomposição e evitando a contaminação do solo e água. Em muitos casos, o próprio empreendimento realiza alguns procedimentos internos em autoclaves, pois nem todos os estados possuem

aterro controlado, e o resíduo é disposto diretamente no solo sem cobertura, sendo um risco para a sociedade e meio ambiente. Alguns países utilizam tecnologia de micro-ondas e emissões gama para esterilizar seus resíduos.

O Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS), regulado pelo CONAMA 358:2005, faz parte do rol de documentos obrigatório para os geradores de resíduos infectantes. Esse documento deve conter todas as ações da organização no manejo seguro de cada tipo de resíduo gerado em todas as áreas. Sendo totalmente pautado nos princípios de Biossegurança, esse documento deve relatar os procedimentos de cunho regulatório e as ações de preparo e resposta a situações de emergência. As ações de redução, minimização, identificação, sinalização, capacitação de equipes, devem estar descritas, mantidas e melhoradas. Segundo a RDC (2018):

Plano de gerenciamento dos resíduos de saúde (PGRSS): documento que aponta e descreve todas as ações relativas ao gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde, observadas suas características e riscos, contemplando os aspectos referentes à geração, identificação, segregação, acondicionamento, coleta, armazenamento, transporte, destinação e disposição final ambientalmente adequada, bem como as ações de proteção à saúde pública, do trabalhador e do meio ambiente. (ANVISA, 2018 pág. 1).

Seguindo a PNRS, o PGRSS é bem nítido a preocupação para salvaguardar o meio ambiente e a saúde pública. Dessa forma, os geradores devem promover ao longo dos anos, melhorias e aplicar novas técnicas de armazenamento, transporte e destinação. Anualmente os estabelecimentos ligados aos serviços de saúde, apresentam anualmente o plano ao órgão fiscal que são a Vigilância Sanitária e institutos ambientais competentes.

Nessa obrigatoriedade estão clínicas funerárias, necrotérios, drogarias e farmácias, estúdio de tatuagem, odontologia, veterinárias, clínicas diversas, acupuntura e todos os empreendimentos de procedimentos estéticos. Muitos modelos de plano estão disponíveis em sites regulatórios e empresas de consultorias ligadas a área de saúde, podendo ser realizado por profissionais internos da instituição.

## **7.2 SISTEMAS DE TRATAMENTOS DE EFLUENTES**

### **7.2.1 Estações de tratamento de resíduos**

Estações de tratamentos de resíduos líquidos domésticos e industriais visam reduzir, eliminar, substâncias que causam impacto na qualidade do meio ambiente e causam efeitos deletérios para o Ecossistema. Os efluentes sanitários são oriundo dos processos domésticos e das necessidades básicas humanas, que são de origem dos rejeitos humanos como sanitários, cozinhas e afins, que são enquadrados como biológicos – classe D. Os efluentes industriais são oriundos dos processos de fabricação ou prestação de um serviço que contém substâncias que não são enquadrados como biológicos.

Essas estações passam constantemente por aperfeiçoamento visando as melhores eficiências, novas tecnologias com custo economicamente viável.

Atualmente existe forte preocupação com os lançamentos de dejetos de origem antrópica e os impactos desses na qualidade de vida e na proteção ambiental.

Com o advento das legislações nacionais, como o Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA 357:2005 e CONAMA 430:2011, que visam proteger os recursos hídricos, principalmente os rios, forçam as empresas a instalarem sistemas de tratamento de seus dejetos ou destinar de forma adequada seus resíduos produzidos. Outras legislações inerentes ao CONAMA tem o objetivo de atender às Políticas estabelecidas e promover a Gestão dos Recursos hídricos, ocupação e manejo do solo, com metas no “princípio da conservação”, consagrado na Política Nacional em seu 2º artigo, incisos I, IV e IX da Lei Federal 6.930:1981.

Dessa forma, diversos estudos e investimentos são destinados todos os anos no aprimoramento de Estação de Tratamento de Efluentes – ETE e Estações de Tratamento de água – ETA, pois em questões de Biossegurança, está sempre em transformações e com requisitos legais cada vez mais apertados.

Para o sucesso de uma ETE e ETA está na escolha do processo a ser utilizado de acordo com a tipologia e características do material a ser tratado, sendo na maioria das vezes, a união de processos distintos culminando na somatória de eficiências a fim de garantir o atendimento legislativo.

As águas de lastro se incluem na tipologia industrial, mesmo portando riscos biológicos e são de extrema relevância nas questões de Biossegurança, pois possuem em riscos migratórios de organismos transatlânticos, como por exemplo, o mexilhão dourado, oriundo da Ásia, veio através dos navios que chegaram aos portos brasileiros, e se estabeleceu nos rios brasileiros causando grandes impactos ambientais e financeiros, chegando até a Usina Hidrelétrica de Itaipu, culminando na obstrução das tubulações. Os organismos trazidos na água do navio ou presos nos cascos dos mesmos podem ser hospedeiros de parasitas ou podem conter toxinas letais, ou ainda, ser induzidos por tecnologia genética e portar partículas virais, sendo armas biológicas.

## **7.2.2 Tipos de tratamento**

Podemos destacar basicamente os tratamentos utilizados em tratamento físico-químico, biológicos e de polimento.

O Tratamento físico-químico (FQ) é os mais utilizados em âmbito industrial e utilizam de processos químicos e físicos em prol da eliminação de diversos componentes indesejáveis principalmente pela remoção e clarificação. Nos processos químicos o tratamento visa transformar e remover o componente dissolvido na água, em material sólido, gasoso, ou imiscível em água.

A clarificação, na maioria das vezes, tem o objetivo de aglutinar as partículas suspensas contidas nos efluentes industriais ou domésticos, pelo uso de agentes coagulantes e floculantes visando à formação de resíduo sólido, chamado de lodo, removendo colóides, compostos orgânicos e inorgânicos, nutrientes e poluentes diversos, de forma a eliminar da água ou efluente.

O mecanismo técnico do tratamento FQ é a coagulação, floculação, precipitação e separação devido ao uso de agentes coagulantes, como sulfato de alumínio e cloreto férrico, que desestabiliza e reduz as forças das partículas coloidais, sendo aglomeradas e carregadas com íons negativos ou positivos. A floculação é uma etapa posterior e visa adensar as partículas aglomeradas através de um polímero solúvel de carga negativa, positiva ou sem carga, formando grandes coágulos e flocos que serão sedimentados pela ação da gravidade.

Esse tratamento é chamado de convencional e podem ser ampliado e melhorado com agentes flotantes, coagulantes biotecnológicos, enzimas, processos avançados, a fim de garantir o melhor cenário dentro de uma ETE e ETA.

Dentro do tratamento FQ podem ocorrer diversas reações químicas de oxidação com agentes de alto poder redutor, como o uso de peróxido, cloro, reações exotérmicas, ozônio.

Tratamentos físicos de emissões radioativas, calor úmido como autoclavação, calor seco como estufas e incineradores, fazem parte do rol de processos usados para fins de tratamento de resíduos líquidos e sólidos.

O tratamento biológico é a utilização dos eventos naturais de decomposição, adsorção, transformação dos organismos vivos, visando à remoção de componentes nos resíduos através dos mecanismos de manutenção celular. São divididos em aeróbios e anaeróbios, sendo ambos com diversas vantagens e desvantagens, de forma a ser necessário, um prévio estudo antes de ser implantado.

O tratamento biológico do tipo aeróbio é ideal na redução de compostos nutritivos, ou seja, fósforo, nitrogênio e micronutrientes, pois é um processo relativamente rápido, com condições ambientais menos rigorosas, porém, alta taxa de formação de lodo. O tratamento biológico anaeróbio é excelente na remoção de matéria orgânica, gorduras e graxas, porém é necessária uma alta permanência do efluente, condições ambientais restritas, microbiota sensível, baixa produção de lodo, menor custo de energia e ainda tem a possibilidade de coleta de biogás. Os biodigestores estão sendo usados para a produção de energia em diversas cooperativas, e o resíduo final ainda serve como adubo para o plantio.

Ambos os processos já são amplamente consolidados na depuração de carga orgânica. O processo anaeróbio é usado em estações de esgoto sanitário público. Porém, a forma aeróbia é a mais aplicada no mundo, contendo inúmeros protocolos e forma de padronização da técnica. A análise laboratorial é a chave para o sucesso do sistema de tratamento biológico, conduzindo em práticas corretas, aplicação visando o melhor custo-

benefício, com novas soluções biotecnológicas de microrganismos liofilizados e também pelo uso direto de enzimas degradadoras.

O tratamento de polimento, ou tratamento terciário, é tido como refinador do efluente final a ser descartado. O mais difundido são filtros contendo materiais adsorventes, trocadores, barreiras físicas, de forma a reter sólidos suspensos, cor, compostos metálicos e poluentes específicos. Filtros de areia são dinâmicos, retêm partículas suspensas e coloides, e são altamente econômicos. Carvão ativado é um dos materiais filtrantes mais utilizados no mundo na remoção principalmente de metais pesados. Também são usados filtros de osmose reversa, resinas trocadores de íons, ultrafiltração a alta pressão, compostos celulósicos, plastificantes, feltros, cinzas, resíduos de pirólise, brita, dolomitas, e muitos outros componentes de poder sequestrante. Em alguns países são utilizados algas verdes na remoção de nitrogênio com posterior formação de biomassa que é incorporado na produção de ração animal.

Outro tipo de tratamento de polimento são lagoas de maturação, que usam extensas áreas, porém com grande eficiência, pois ocorrem os ciclos geoquímicos e por fim, a ciclagem dos nutrientes no ecossistema de forma natural, conduzindo com o benefício final de efluentes de baixa toxicidade.

Por fim, em ETEs e ETAs, ocorrem também processos paralelos de apoio, como prensas, centrífugas, visando a redução de umidade do lodo e melhor destinação de resíduos gerados; acoplamento de processos de ultravioleta e cloração, na eliminação dos microrganismos do processo biológico no sentido de contenção e processos avançados de filtros, para tornar a água potável ou reutilização desse bem tão valioso e escasso que é a água.

### 7.3 INDICADORES DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

Os objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) são objetivos globais adotados por países membros da ONU, desde 2015 até 2030, com foco de proteger o planeta, erradicar a pobreza e garantir que todas as pessoas tenham acesso à saúde, paz e prosperidade.

São 17 itens listados no ODS (figura 13) de forma dinâmica e interdisciplinar e que cada uma contribui para equilibrar e fomentar a sustentabilidade econômica, ambiental e social.

A Biotecnologia e a Biossegurança são ferramentas necessárias para alcançar os ODS, trazendo novas tecnologias, medicamentos, vacinas, melhoramento genético, proteger o ecossistema e o bem social.





Figura 13: Indicadores Brasileiros para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável.

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (Odsbrasil. gov.br)

Nesse contexto de sustentabilidade, programas e projetos podem ser implantados dentro de uma organização buscando adoção de alternativas sustentáveis de acordo com as demandas sociais e culturais da população. As ações mais comuns são reaproveitamento de água, uso consciente de energia elétrica, inclusão social, reciclagem, programas de respeito ao gênero, opção sexual e religião, uso consciente de recursos providos da natureza, ciclo de vida, evitar formas de não poluir a água, solo e ar.

Algumas instituições implantam o princípio dos 3R's (reutilizar, reciclar, reduzir) que visa reaproveitar os resíduos gerados, principalmente plásticos e papéis. Os plásticos, microplásticos e nanoplásticos são referenciados como problemas atuais na poluição dos rios, oceanos e atmosfera, estando em todos os compartimentos planetários e envolvidos em mudanças severas no clima, no solo e na água, sendo bioacumulados em vários níveis tróficos da cadeia alimentar, pois sua permanência no meio ambiente supera 300 anos até serem totalmente degradados.

A Biossegurança deve acompanhar esse viés na atuação do descarte adequado desses resíduos de forma a não impactar os organismos menores da cadeia alimentar, sobretudo o fitoplâncton e o zooplâncton, a bioacumulação de microesferas de polietileno até arrebatamento da carapaça do artrópode, microcrustáceo *Daphnia magna*, que faz parte dos metazoários da cadeia alimentar aquática, conforme a figura 14.

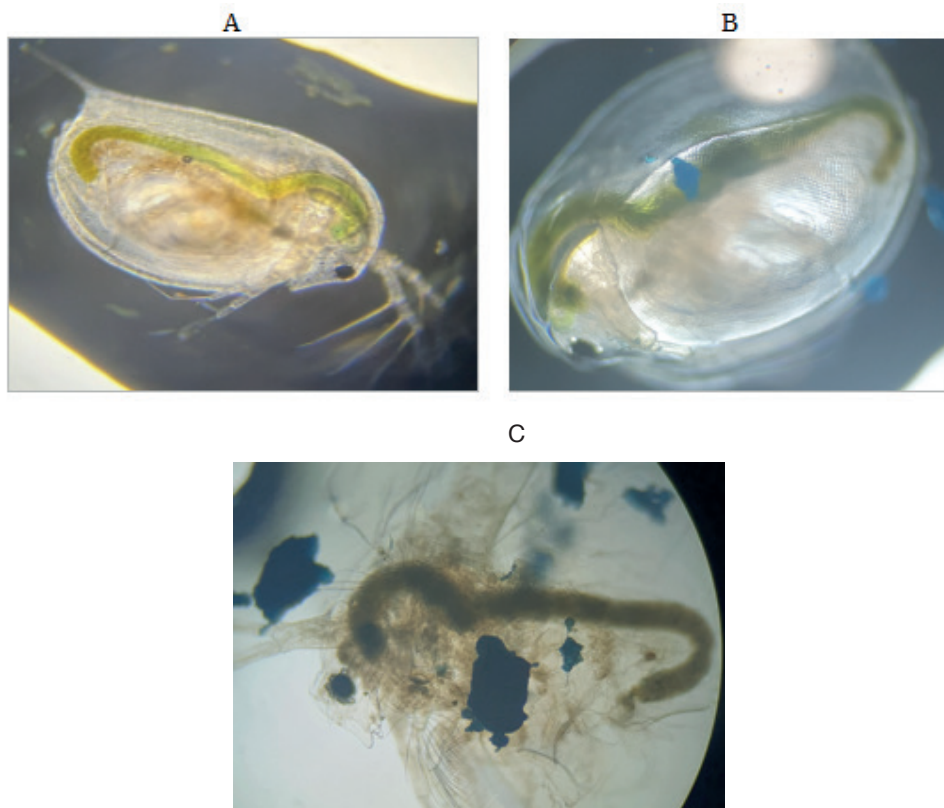


Figura 14 : A: *Daphnia magna* saudável em microscopia 40x. B: Bioacumulação no tubo digestivo. C: Excesso de bioacumulação de microesferas de polietileno até arrebetamento da carapaça silicosa do microcrustáceo. Fonte: autores.

A gestão sustentável de recicláveis do princípio dos 3 Rs teve início na Agenda 21, visando diminuir a geração, desperdício, e uso de aterros sanitários.

## BIOTECNOLOGIA MODERNA

### 8.1 PALEOMICROBIOLOGIA FORENSE

A Biologia molecular e a microbiologia forense são ramos científicos de alta tecnologia, pois conta com pesquisas genômicas e bioinformática, que atualmente é uma ferramenta moderna e aliada a Inteligência artificial.

Essa ciência contribui para a fabricação de vacinas e medicamentos e ainda elucida casos forenses no parâmetro *post mortem* e rastreabilidade de pandemias antigas e históricas, bem como a capacidade de detecção de um biocrime.

A biotecnologia forense une estudos de microbiologia, medicina, química, epidemiologia, saúde pública para criar um rol de informações e levantamentos de casos de infecção antiga, recente e futura, fazendo uma cadeia sucessiva de dados.

Os estudos forenses da paleomicrobiologia se dedicam em analisar, observar, evidenciar, acompanhar bioterroristas e elucidar biocrimes.

Na pesquisa em cadáveres é preciso entender o que é microbiota normal para detectar as demais bactérias que podem ter contribuído para pandemias globais ou armas biológicas. As bactérias comuns são as Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria e Proteobacteria são as que predominantemente estão na decomposição. As demais bactérias que não fazem parte do solo da região irão compor a hipótese de morte por infecção. Pela paleomicrobiologia forense foi possível determinar que em cadáveres femininos existe em abundância os gêneos *Pseudomonas* e Clostridiales sendo a *Pseudomonas aeruginosa* exclusivamente femininos. Os cadáveres masculinos possuem abundância de *Streptococcus* e Clostridiales, sendo a bactéria *Rothia sp* exclusivo de homens.

O tecido ósseo possui alta resistência à infecções e a biópsia busca a presença de corpos estranhos, como por exemplo, osteomielite necrosante e fístulas sendo causados por *Staphylococcus aureus*, *Candida spp*, *Salmonella spp* e *Pseudomonas aeruginosa*. Em séculos passados a salmonelose atingiu principalmente crianças e a detecção foi através da presença em ossadas.

Com o fenômeno mundial das mudanças climáticas e derretimento de gelos polares, como por exemplo, a *permafrost*, causando uma nova ameaça global dos vírus que ali estavam estocados. Dezenas de cadáveres estão sendo expostos e cientistas buscam coleta de material. Diversos ensaios já encontraram os vírus causadores das pandemias de H1N1, H3N5, e diversas outras que são de alta virulência. Universidades de vários países temem pelo vírus da varíola, gripe espanhola, encefalite hemorrágica Europeia e outras.

Assim, todos os anos são feitas várias coletas de diversas matrizes analíticas para varredura da microbiota remanescente e a microbiota forense, e os dados estão sincronizados com o Poder público de diversos países, OMS e pela CDC.

## 8.2 BIOLOGIA MOLECULAR

O que traz sucesso a Biologia molecular é o fato que todos os organismos possuem material genético, sendo a grande maioria, constituído por ácido desoxirribonucleico, o DNA. A função do material genético é transmissão de informações do organismo que porta. A pesquisa de DNA é uma ciência moderna que está em constante evolução. Segundo Tortora (2017):

A genética é a ciência da hereditariedade. Ela inclui o estudo dos genes: como eles carregam a informação, como eles são replicados e transferidos para gerações subsequentes de células ou entre organismos e como a expressão de suas informações determina as características de um organismo. A informação genética em uma célula é chamada de genoma, e o genoma de uma célula inclui seus cromossomos e plasmídeos. Os cromossomos são estruturas contendo DNA que transportam fisicamente a informação hereditária, os cromossomos contêm os genes. Os genes são segmentos de DNA (exceto em alguns vírus, nos quais eles são constituídos de RNA) que codificam produtos funcionais. Em geral, estes produtos são proteínas, mas podem ser RNAs (ribossomal, transportador ou microRNA). (TORTORA, 2017).

Dessa forma, o DNA compõe os genes, possuindo uma fita dupla de quatro nucleotídeos, duas cadeias unidas por ligação de hidrogênio entre bases nitrogenadas e constituídas por uma pentose e fosfatos.

As características de um organismo vivo e os vírus são diretamente influenciados por fatores externos. O meio ambiente que o circunda altera sua hereditariedade, por suas trocas genéticas ao longo do ciclo de vida e por sua morfologia baseada na sobrevivência, aos quais incluem reprodução, locomoção, metabolismo, relações e níveis tróficos da cadeia alimentar. Toda essa capacidade é transmitida para próximas gerações através do DNA ou RNA.

Para o entendimento da Biotecnologia moderna é necessário o conhecimento de alguns conceitos como:

- Gene/genoma: é a unidade fundamental da hereditariedade, responsável por informações, formado por sequência de ácidos nucleicos (DNA ou RNA);
- Genótipo: coleção de genes;
- Fenótipo: expressão das características do genoma com interferência das condições ambientais.
- Mutações: qualquer alteração/mudança na sequência do genoma;
- Código genético: é o conjunto de regras de forma a determinar corretamente, como uma sequência de nucleotídeos é convertida na sequência de aminoácidos de uma proteína;
- Conversão lisogênica: adquirir novos genes externos ou através da inserção de vírus bacteriófagos dentro de uma célula;

- Transdução: adquirir novos genes de forma externa de outras bactérias através de bacteriófagos;
- Conjugação: adquirir plasmídeo de forma externa através de trocas pelo Pilus sexuais;
- Transformação: englobar genes desnudos, ou seja, matérias genéticas livres na natureza e incorporar.

### 8.2.1 DNA e genes

É no DNA que estão às informações genéticas para a continuidade da espécie e a forma de transmissão das adaptações evolutivas. Cada célula do organismo contém o DNA que é constituído por longos filamentos, os nucleotídeos. Cada nucleotídeo é formado por uma nucleobase de adenina, citosina, guanina e timina, com uma desoxirribose e um grupo fosfato. A ligação dos pares de bases sempre se une de forma específica, sendo adenina pareando com timina e guanina pareando com citosina e devido a essa ligação, as fitas são complementares.

Cada organismo se difere do outro pelos cromossomos que são as sequências de DNA herdado do seu ancestral.

Quando se trata de bactérias, o cromossomo é único e o código genético se apresenta como uma molécula circular. O cromossomo das bactérias, na grande maioria das vezes, está dobrando e se encontra aderido na membrana plasmática. Um exemplo é a bactéria *Escherichia coli* que possui quase 5 milhões de pares de bases, contido enovelado no interior da célula em uma região chamada de *Short tandem repeats* (STR).

São os genes que controlam as estruturas das células e todo metabolismo da mesma. Cada gene possui suas reservas energéticas e proteínas para seus processos metabólicos e biossíntese celular. Os genes possuem regiões chamadas de DNA inútil, pois não carrega nenhuma informação necessária, dita como função de complementação e outra região de DNA útil.

A replicação do DNA é iniciada na separação da fita dupla formando filhas idênticas que servirão de molde para novas construções. Para que esse mecanismo aconteça, muitas enzimas e proteínas estão envolvidas no processo, sendo de enorme complexidade.

As enzimas mais importantes da replicação são DNA-girase (relaxa o enovelamento do DNA para iniciar a forquilha de replicação); DNA-ligase (forma as ligações covalentes que unem as fitas de DNA); DNA-polimerases (corrigem e reparam o DNA); endonucleases (clivam o arcabouço de DNA facilitando o reparo e inserções); exonucleases (clivam o DNA em uma extremidade oposta para reparo); Helicase (desenova a dupla-fita); Metilase (adiciona o grupo metil no DNA recém-sintetizado); Fotoliase (separa dímeros de pirimidina induzidos pela luz UV); Primase (sintetiza iniciadores de RNA a partir do molde); Ribozima (enzima de RNA e snRNP, removem os íntrons e unem os éxons que são sequências

de DNA); RNA-polimerase (produz cópias de RNA a partir de um molde); Topoisomerase (separa círculos de DNA no final da replicação); e Transposase (cliva o arcabouço do DNA).

### 8.2.2 RNA e síntese de proteínas

O RNA, conhecido como ácido ribonucleico, sendo responsável pela síntese de proteínas de um organismo. Por meio de um DNA o RNA é produzido no núcleo e citoplasma de uma célula. O código do DNA é transcrito por bases complementares de RNA e essa codificação sintetiza as proteínas pelo processo de tradução. A transcrição é um mecanismo que conduz ao final uma fita de RNA complementar para ser usada pela célula.

A transcrição é indicada pela ciência como a primeira expressão gênica, produzindo um produto funcional que normalmente é uma proteína. Essa síntese ocorre pela união de nucleotídeos em processos parecidos com a replicação, porém o pareamento da adenina se faz com uracila.

### 8.2.3 Transferência genética e recombinação

A replicação do DNA é um evento altamente complexo e para tanto, facilmente de ocorrer erros em algum ponto do processo e isso, chamamos de mutações. E se essa mudança, mesmo que sutil, tiver alguma vantagem na evolução ou seleção de uma espécie, essa mutação é replicada e adotada e ainda repassada para próximas gerações a fim de conquistar vantagens evolutivas.

A melhoria genética leva a mesma base. Pode ser feita de forma natural ou induzida em laboratório.

Normalmente essa mutação de caráter benéfico para essa espécie, mas totalmente maléfico para um hospedeiro, por exemplo. No caso de bactérias, que são haploides, qualquer mutação será obrigatoriamente expressa, devido ao fato que suas células de reprodução ser idêntica à célula mãe. Assim, chamamos a transferência de genes de bactérias como unidirecional, sendo que a célula receptora recebe uma parte do DNA do doador, sem a formação de zigoto e sim de merozigoto.

A preferência do doador são os membros da mesma espécie, porém, se a mutação for extraordinária, ocorrem transferências entre outras espécies, sendo o chamado risco de transferência de genes de resistência a antibióticos. Portanto, é a recombinação com transferência genética a maior causa da resistência microbiana a fármacos e esse problema só aumenta nos últimos anos.

A mudança no DNA feito em laboratórios é realizada apenas com uma ou algumas trocas de bases e nova mutação é expressa e avaliada no cunho de melhoramento para agricultura e pecuária e é sempre feita pela chamada transferência horizontal.

A transferência gênica horizontal, também chamada de lateral, é quando qualquer célula transfere um gene ou códon para outra célula, e a transferência gênica vertical

é quando a célula mãe transfere para as células filhas seu material genético de forma reprodutiva. Bactérias e outros organismos menores e unicelulares adotam a transferência gênica horizontal a fim de uma rápida evolução.

A transferência horizontal ocorre nos mecanismos de transformação, conjugação, transdução, facilitadores de transferência.

A transformação é um processo de captar, adquirir, receber para expressar um material genético externo à célula, que está inserida no meio ambiente livre, ou dentro de outro organismo, ou será colocada através de manipulação laboratorial, que resultará em nova mudança de genoma.

*Haemophilus spp*, *Pneumococcus spp* e *Bacillus spp*, são exemplos de microrganismos que conseguem captar um DNA completo e íntegro de outra espécie e incorporar em seu genoma. As bactérias gram positivas conseguem captar apenas o DNA em fita simples e iniciam a sintetizar a fita complementar. As bactérias gram negativas conseguem captar apenas as fitas duplas. Após serem captados, o código genético incorporado inicia o processo de recombinação, que às vezes, resultada em substituição, chamado de combinação legítima e homóloga. Em laboratórios os organismos testados são de preferência homólogos para garantir uma manipulação bem-sucedida. Em espécies diferentes, também é observado a transformação com casos bem-sucedidos, porém são mais raros.

O processo de conjugação é uma transferência na forma de plasmídeos entre células, uma sendo doadora e outra receptora. Esse tipo de transferência ocorre no contato direto entre esses organismos, como por exemplo, os pilus sexuais.

A transdução é uma transferência na forma de fagos mediada por vírus. Esse fago é chamado de macho e a célula receptora de fêmea. O macho apresenta um pedaço de seu DNA, chamado de fator F (fator de fertilidade), que possui formato circular e de replicação automática. Essa transferência ocorre em diversos grupos de bactérias. Algumas transduções são especializadas chamadas de profagos que possuem genes específicos chamados de lisogênicos que estimulam erros no DNA da fêmea sendo mudança estável chamada de lisogenização, dando um caráter de virulência para muitas bactérias.

Os auxiliares de transferências ou agentes de transferência ou elementos genéticos transponíveis, são codificados em cromossomos de bactérias a fim de expressar novas linhagens mais virulentas.

Os plasmídeos são pequenas partes do DNA circular capazes de replicar de forma independente, não sendo essencial para nenhuma célula, apenas trazer uma vantagem de adaptação ou uma melhor capacidade de executar um metabolismo ou trazer uma resistência a algum antibiótico. Alguns plasmídeos são transferidos de forma simples, e outros necessitam de elementos de transposição chamados de transposons.

Os transposons são pedaços de regiões específicas de um DNA que chamamos de partes móveis, pois mudam de posição entre cromossomos ou plasmídeos, ou seja,

os transposons migram para células diferentes. Dessa forma, essa região móvel carrega genes interessantes para uma região que seja transponível e assim passa para outra célula. É através de plasmídeos e transposons que uma célula passa seus genes de resistência.

Os integrons são agentes localizados nos cromossomos que produzem a enzima integrase, com a responsabilidade de recombinar os plasmídeos nos cassetes cromossômicos dos genes de resistência. Foram listados 60 cassetes cromossômicos ligados a resistência de medicamentos de uso comercial. Portanto, é através de plasmídeos, transposons conjugativos e integrons pela transferência horizontal entre diferentes espécies ou membros filogenéticos, os mecanismos de recombinação.

### 8.3 NANOTECNOLOGIA E BIOTECNOLOGIA HUMANITÁRIA

A nanotecnologia é tida como uma tecnologia do futuro principalmente nas questões de saúde. Atualmente em alguns ramos da medicina cirúrgica e na tecnologia da informação, os nanotecnologia atua em cirurgias, chips, nanotubos e outros.

A base dessa tecnologia é a criação de máquinas, robôs, chips, medicamentos e outros, em escalas manométricas, produzindo dispositivos que incorporados na química orgânica e inorgânica, ganhem proporções de uso na rotina da vida da população.

A nanociência já está sendo empregados em computadores, celulares, implantes, cirurgias, tratamentos medicinais, cibernética, inteligência artificial que possuem benefícios aos seres humanos.

A tendência moderna é manipulação de materiais em escala macromolecular ou atômica, surgindo um campo para a biotecnologia na confecção de nanopartículas mecânicas, ópticas, diagnósticas e medicinais.

Não há dúvidas sobre os enormes avanços da nanotecnologia na melhoria da qualidade de vida, porém é preciso investir na Biossegurança ambiental evitando que os resíduos impactem os organismos que fazem partes dos ciclos biogeoquímicos do ecossistema, ainda mais que normalmente se tratam de materiais metálicos.

Dentro desse contexto de cuidados com a fauna é oportuno inserir as questões de biotérios em Biossegurança.

A Lei 11.794: 2008 que estabelece os procedimentos para uso científico de animais, criando o Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA) e o sistema de cadastro de Instituições que usam animais (CIUCA) e impõe condutas de ética no uso de animais. Dessa forma, as pesquisas com uso de animais devem seguir os princípios éticos e humanitários seguindo a Lei e os procedimentos de treinamentos e procedimentos em Biossegurança.



### 8.3.1 Técnicas modernas

A Biotecnologia nos próximos anos adotará ensaios altamente precisos e exatos usando pela totalidade a engenharia genética. Atualmente os laboratórios estão adotando apenas técnicas modernas em microbiologia como, por exemplo, reação em cadeia polimerase (PCR).

Essa técnica amplifica com muita rapidez um modelo de sequências de DNA, com alta precisão e sensibilidade. O mais inovador é que a célula ou fragmento a ser estudado não precisa estar vivo para ser quantificado, sendo um ensaio largamente usado em exames forenses.

A PCR clássica tem o objetivo realizar ciclos com reações para replicar em diversas cópias o molde pelo uso de temperatura, incubação e reagentes que fazem parte da cadeia de replicação de DNA. Esses reagentes são basicamente, os oligonucleotídeos (primers), desoxirribonucleosídeos trifosfatos e a enzima Taq DNA-Polimerase, que normalmente é isolada de uma bactéria termófila.

Essa técnica já foi altamente testada e aprovada com enorme acurácia na detecção exata de diversos microrganismos e usada em exames de DNA.

De forma a aprimorar a técnica, foi criada o método *multiplex* PCR nas aplicações alimentícias, detectando gêneros patogênicos que interesse em vigilância, como por exemplo, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp* e *E. coli* enteropatogênica.

Outro método modificado do clássico é o *nested* PCR que visa ampliar o DNA e deste, realizar novos ciclos em vez da amostra inicial, de forma a aumentar a sensibilidade quando ocorre pequeno volume de amostra.

O PCR em tempo real é a técnica convencional com a adição de uma molécula que contém fluorescência ou brometo de etídio, sendo possível verificar a quantidade de DNA através da luz UV em tempo real. Um exemplo de uso dessa técnica é a pesquisa de Campilobacteriose.

Depois da fase de amplificação a próxima etapa é a leitura do material, conduzido em eletroforese com gel agarose, na qual ocorre a corrida sobre a superfície do gel, e a separação das bandas com leituras de programação computacional. Isso ocorre devido ao perfil de diferentes potenciais elétricos e a atração das cargas. São usados controles conhecidos e cepas para a análise comparativa ou banco de dados contendo a sequência padrão.

Outra técnica de inovação recente é o CRISPR que já tem aprovação de uso inclusive em humanos pela FDA nos Estados Unidos, para tratamento da anemia falciforme. Esse método é um sistema de edição genética que ocorre em moluscos e algas, e um sistema de defesa das bactérias antigas como as Arqueas, sendo copiado para teste em laboratório.

Quando um vírus insere seu genoma na célula procarionte, ocorre a ativação de proteínas chamadas Cas1 que copiam o trecho desse código e repassa para a enzima Cas9.

Essa enzima identifica a sequência desse código e age como uma tesoura cortando o gene nesse ponto de forma a inutilizar e salvar a célula que estava sendo hospedada. Copiando o método, os cientistas Doudna e Charpentier, realizaram a mesma sequência in vitro, e desligaram genes e cromossomos específicos, sendo um grande avanço da Biotecnologia moderna contra doenças como fibrose cística, esclerose múltipla, anemias, e síndromes embrionárias como Down, Patau, Turner e outras anomalias no cromossomo X, Y e assim por diante. O desenvolvimento da CRISPR rendeu aos autores o prêmio Nobel de química em 2020.

Outras formas inovadoras da Biotecnologia estão a aceleração genômica do milho tropical realizado pelos pesquisadores do Centro de Genômica Aplicada à mudanças climáticas (GCCRC) com iniciativa da Unicamp e Embrapa.

### 8.3.2 Vacinas

As vacinas já vêm sendo utilizadas por décadas havendo um consenso internacional sobre o seu uso, pois passaram por testes rigorosos e morosos, levando anos para garantir a sua segurança, antes de serem aplicadas na população.

Uma vacina que está sendo desenvolvida necessita ser submetida a avaliações e exames para delinear qual antígeno será utilizado em sua confecção. Essa fase pré-clínica não ocorre em humanos e sim em cobaias e testes in vitro. A próxima etapa será a aplicação em humanos que segue três fases: a fase 1 é inoculada em um pequeno grupo de voluntários no intuito de confirmação da resposta do sistema imunitário e se a dosagem garantirá o efeito desejado. Fase 2 é a administração em centenas de voluntários para observar efeitos colaterais e a resposta imune desejada. Nessa fase os participantes são de diversas faixas etárias e com ou sem doenças estabelecidas e uma parcela não receberá a dose, servindo de placebo, no intuito de comparação. Por último a fase 3 a vacina será administrada em milhares de voluntários, de diferentes etnias e culturas, e comparada com o grupo que não foi vacinado para avaliação da eficácia no combate a um determinado agente causador de uma patologia.

Em todo o percurso os nomes dos voluntários ficam protegidos, o que se chama ensaio cego, para garantir a imparcialidade do projeto. Após esses passos ocorre a preparação para aprovação nas entidades reguladoras com a apresentação de documentos que comprovem as boas práticas laboratoriais, rastreabilidade, controle de qualidade, garantia da validade dos resultados, metrologia e outros.

Após a liberação e o uso das vacinas a empresa produtora deverá realizar o monitoramento e a contínua melhoria da produção, bem como reduzir efeitos maléficos, rever sua eficácia e estabilidade.

As vacinas são classificadas em três grupos em razão dos conceitos, estratégias ou na preparação do princípio ativo ou antígeno, sendo primeira, segunda e terceira geração.

A primeira geração são aquelas que empregam na composição o agente patogênico completo e tratado para ser atenuado ou inativado. São as primeiras vacinas como, por exemplo, varíola, tuberculose, *Mycobacterium bovis*, coqueluche, poliomielite, sarampo, rubéola, adenovírus e outros.

A segunda geração veio da proteção vacinal por indução de anticorpos voltados para o único alvo, como por exemplo, a toxina causadora da doença, ou formas de ajudar o hospedeiro a neutralizar ou eliminar o antígeno, ampliando suas linhas de defesa. Nesse grupo se destacam as vacinas acelulares com a presença de toxoides, toxinas inativadas, ou a presença de polissacarídeos purificados como são as vacinas contra o tétano, difteria, hepatite B, meningite ou pneumonia.

A terceira geração é o mais moderno da biotecnologia, emprega-se o código genético do patógeno, que represente seus antígenos relevantes, de forma a induzir o sistema imune do hospedeiro. São as chamadas vacinas de DNA ou vacinas gênicas.

Com o advento da Biotecnologia moderna alterou as maneiras de desenvolver vacinas por meio de estratégias gênicas e mutagênese, pode-se criar microrganismos atenuados de forma segura. As novas técnicas permitem obter mutantes atenuados de diversas patogenidades e inativados e usar em diversas formulações vacinais. As vacinas de DNA são alternativas para imunoterapias e técnicas terapêuticas diversas.

## REFERÊNCIAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO 9001: sistemas de gestão da qualidade: requisitos. Rio de Janeiro, 2015.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO 14001: sistemas de gestão ambiental: requisitos. Rio de Janeiro, 2015.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO 17025: sistemas de gestão da qualidade: requisitos. Rio de Janeiro, 2017.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO 19011: diretrizes para auditoria de sistemas de gestão. Rio de Janeiro, 2017.

ABNT. NBR 10.004 – Resíduos sólidos – Classificação. 2004.

ABNT. NBR 12808 – Resíduos de serviços de saúde – Classificação, elaborada pela Comissão de Estudo Especial de Resíduos de Serviços de Saúde (ABNT/CEE-129). 2016.

ABNT. NBR 7500:2017 – Identificação para o transporte terrestre, manuseio, movimentação e armazenamento de produtos. 2017.

ABNT. NBR 13.230:2008 – Embalagens e acondicionamento plásticos recicláveis - Identificação e simbologia. 2018.

ABNT NBR 13.853:2008 – Recipientes para resíduos de serviços de saúde perfurantes ou cortantes - Requisitos e métodos de ensaio – Parte 1: Recipientes descartáveis. 2018.

Alberts, B. et al. Biologia molecular da célula. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

ANVISA. Infecção Hospitalar – Controle. 2. Infecção em Serviços de Saúde. 3. Microbiologia Clínica. 4. Vigilância Sanitária em Serviços de Saúde. 5. Resistência microbiana. I. Brasil. ANVISA Ministério da Saúde. 2004.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia – Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 5 – Tecnologias em Serviços de Saúde: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos. Brasília: Anvisa, 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota Técnica nº 1/2013 – Medidas de prevenção e controle de infecções por Enterobactérias multirresistentes. Brasília (DF): ANVISA; 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº. 63. Brasília, DF, 2011.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº. 864, Brasília, DF, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Procedimentos Operacionais da REBLAS. Brasília, DF, 2001.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Série A: Normas e Manuais Técnicos. ANVISA – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 182 p. 2006.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária . Resolução RDC 222 :2018; Publicado em: 29/03/2018 I Edição: 61 I Seção: 1 I Página: 76. Ministério da Saúde / Agência Nacional de Vigilância Sanitária Regulamenta as Boas Práticas de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde e dá outras providências. 2018.

Apha, Awwa, WEF in: L.S. Clesceri, A. E.; Greenberg, A. D. Eaton (Eds.), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24th ed., American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington,DC, USA, 2023.

Brasil. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. 2010.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde/Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

Brasil. PORTARIA GM/MS Nº 888, DE 4 DE MAIO DE 2021 – DOU – Imprensa Nacional. Publicado em: 07/05/2021 I Edição: 85 I Seção: 1 I Página: 127 Órgão: Ministério da Saúde/Gabinete do Ministro. 2021

Brasil.Ministério da Saúde. Portaria n. 33 de 14 de julho de 2005. Inclui doenças à relação de notificação compulsória, define agravos de notificação imediata e a relação dos resultados laboratoriais que devem ser notificados pelos Laboratórios de Referência Nacional ou Regional. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 2005.

Brasil. Ministério da Saúde. Projeto VIGISUS: Estruturação do Sistema Nacional de Vigilância em Saúde. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1998.

Brasília, DF. BRASIL. Ministério do Trabalho e do Emprego. Lei n. 6.524, de 22 de dezembro de 1977. Altera o Capítulo V do Título II da Consolidação das Leis do Trabalho, relativo a segurança e medicina do trabalho e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 23 dez. 1977, Seção 1. 1977.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n. 33 de 14 de julho de 2005. Inclui doenças à relação de notificação compulsória, define agravos de notificação imediata e a relação dos resultados laboratoriais que devem ser notificados pelos Laboratórios de Referência Nacional ou Regional. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 2005.

Brasil. Constituição (1988), Lei nº 6.514, de 22 de dez. de 1977.

Brasil. Constituição (1988), Portaria nº 3.214, de 8 de jun. de 1978.

Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego, NR 9: Programa de Prevenção em Riscos Ambientais, de 06 de jul. de 1978, atualizada em 2017, Diário Oficial da União, Brasília, DF. 1978.

Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego, NR 5: Comissão Interna de Prevenção de Acidentes, de 06 de jul. 1978, atualizada em 2011, Diário Oficial da União, Brasília, DF. BRASIL. 1978.

Brasil. Ministério do Trabalho e do Emprego. Norma Regulamentadora n. 6 – Equipamento de Proteção Individual – EPI. Portaria MTb n. 3.214, de 08 de junho de 1978. Diário Oficial da União. Brasília, DF. 1978.

Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora n. 17 – Ergonomia. Portaria GM n. 3.214, de 8 de junho de 1978. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 6 jun. 1978.

Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora n. 15 – Atividades e Operações Insalubres. Portaria MTb n. 3.214, de 8 de junho de 1978. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 6 jun. 1978.

Brasil. Portaria DNSST n. 5, de 17 de agosto de 1992. Altera a Norma Regulamentadora n. 9 estabelecendo a obrigatoriedade de elaboração do Mapa de Riscos Ambientais. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 17 ago. 1992.

Brasil. Ministério do Trabalho e do Emprego. Norma Regulamentadora n. 26 – Sinalização em segurança. Portaria MTb n. 3.214, de 08 de junho de 1978. Diário Oficial da União, Brasília, DF. BRASIL. Ministério do Trabalho e do Emprego. Alteração da Norma Regulamentadora n. 26. 1978.

Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Secretaria de Segurança e Saúde no Trabalho. Portaria n. 25, de 29 de dezembro de 1994. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 dez. 1994. Seção 1, p. 1.987-1.989. 1994.

Brasil. Portaria n. 704, 28 de maio de 2015. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 29 de maio de 2015.

Brasil. Ministério da Saúde. Organização Pan-Americana da Saúde. Doenças Relacionadas ao Trabalho: Manual de Procedimentos para os Serviços de Saúde. Brasília, DF: MS/ OPAS, 2001.

Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria n. 482, de 11 de novembro de 2005. Aprova a Norma Regulamentadora n. 32 (Segurança e Saúde no Trabalho em Estabelecimentos de Saúde). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 de nov. 2005.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Classificação de Risco dos Agentes Biológicos. Brasília, DF: Editora do Ministério da Saúde, 2006.

Brasil. Lei n. 11.794, de 8 de outubro de 2008. Diário Oficial da União, Poder Legislativo, Brasília, DF, 2008.

Brasil. Lei nº 11.105, de 24 de mar. de 2005. Lei da Biossegurança. 2005.

Brasil. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. 2010.

Brasil. Portaria GM/MS nº 1.683, de 28 de agosto de 2003. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde/Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério da Defesa, Portaria Normativa nº 585, de 7 de mar. de 2013.

Brasil. Norma Regulamentadora No. 1 (NR-1). Disposições Gerais e Gerenciamento de Riscos Ocupacionais). Última modificação: Portaria SEPRT nº 6.730, de 9 de março de 2020. Portaria SEPRT 8.873, 2021.

Brasil. Resolução CONAMA nº 357. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília, 17 de março de 2005.

Brasil. Resolução CONAMA nº 430. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília, 16 de maio de 2011.

Brasil. Resolução CONAMA nº 358. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília em 29 de abril de 2005.

Brooks. Geo. F. et al. Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg. 26. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

CDC – Centers for disease control and prevention. Bioterrorism Agents/diseases. [s.l.], 2023. [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov) - acesso em janeiro de 2024.

CDC – Lesgilação em biossegurança e bioterrorismo - [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov) - acesso em janeiro de 2024.

Charles C. Brinton Jr. Pasteur Institute in Paris and University of Geneva. 1956.

CLSI. CLSI publication M100-S2: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27. ed. Clinical Laboratories, 2011.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S15 (ISBN 1- 56238-556-9). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.

(CLSI)/NCCLS: M2-A8— Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition; e M7-A6—Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition.

CNTBio – Legislação em biossegurança – <http://ctnbio.mctic.gov.br> acesso em janeiro de 2024.

CTBio-FIOCRUZ. Procedimentos para a manipulação de microrganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ. Rio de Janeiro, de nov. de 2005. DEJOURS, C. Subjetividade, trabalho e ação, Revista Produção, v. 14, n. 3, p. 27-34, 2004.

CTBio-FIOCRUZ. Procedimentos para a manipulação de microrganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ. Rio de Janeiro, de nov. de 2005.

GHS. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). 4. ed. New York: United Nations, 2011.

Haluch, S.M.; Haluch, F.C. DIAGNÓSTICO DE PASSIVOS AMBIENTAIS EMATERROS HOSPITALARES. Revistaft, 27(124), 30. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8116930> . 2023.

Levinson, W. Microbiologia médica e imunologia. 13. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

Madigan, M. T. et al. Microbiologia de Brock. 14. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2016 .

Oda, L. M.; ÁVILA, S. M. Biossegurança em Laboratórios de Saúde Pública. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 1998.

OMS. OMS pública lista inédita de bactérias resistentes a antibióticos. Direitos humanos, 2017.

Schlink, B. Bioética à luz da liberdade científica: estudo de caso baseado na decisão do STF sobre a constitucionalidade da Lei de biossegurança e no direito comparado. São Paulo: Atlas, 2014.

Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L. Microbiologia. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

Valle, T. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1996.

VIM. Vocabulário Internacional de Metrologia: conceitos fundamentais e gerais e termos associados. Acesso Janeiro 2024.

WHO. Laboratory Biosafety Manual. 2. ed. Geneva, 1993.

WHO. World Health Organization. Containing antimicrobial resistance. Geneva, Switzerland: WHO; WHO Policy Perspectives on Medicines. 2005.



Os autores dessa obra têm vasta experiência na área de Biotecnologia, biossegurança, microbiologia, Perícia e atuação em Segurança Pública. A autora principal, Silvia Mara Haluch é graduada em Química Ambiental, Bacharel em Biomedicina e graduada em Bioprocessos e Biotecnologia, possui Mestrado em Ciências e Tecnologia Ambiental, sendo auditora líder de Sistemas de gestão da Qualidade e Meio Ambiente. Atuou durante anos em laboratórios, lecionou em cursos de Biossegurança, Química e Perícia forense para graduandos de vários cursos da área da saúde e atua como Pesquisadora em diversos projetos Ambientais, estudos de mineração e metais preciosos. Flávia Caroline Haluch é estudante de Biomedicina da Faculdade Pequeno Príncipe do grupo Hospital Pequeno Príncipe, referência em saúde pediátrica do país, sendo uma exímia microbiologista e toxicologista, Gerente Técnica da Goldlab Ciência e Tecnologia Ltda e atua como pesquisadora de projetos em ecotoxicologia aquática, bioprospecção de novos fármacos e pesquisas clínicas e ambientais diversas. Henrique Vilas Boas é empresário, Policial Militar há mais de 10 anos, possui vasta experiência com questões de Inteligência, especialista em Inteligência Artificial, treinado em cibernética, realizou diversos treinamentos em conjunto com a Polícia Científica do Paraná e Polícia Federal, atuou em conjunto com a Polícia Federal e em diversos Planejamentos estratégicos e ações ostensivas. Todos excelentes profissionais e cientistas que estão em prol da ciência no Brasil.

Por Cilene Priscila de Melo  
Cientista da Goldlab Ciência e Tecnologia Ltda

A organizadora da obra, **SILVIA MARA HALUCH** é uma das melhores pesquisadoras do país e sempre buscou realizar ciência com viés na proteção ambiental e soluções para a indústria. Com muitos esforços diários e contra todas as injustiças que ocorrem na caminhada da vida, manteve-se perseverante e firme no intuito de resolver problemas reais focados no meio ambiente e saúde. Em busca constante de realizar ciência, publica artigos científicos focados na excelência para a indústria e desenvolvimento tecnológico, com novas ações inovadoras, descobertas em prol do melhor cenário para o crescimento do país. É meu exemplo.

Por **Flávia Caroline Haluch**

Cientista, Pesquisadora e Gerente Técnica da Goldlab Ciência e Tecnologia Ltda.

# BIOSSEGURANÇA E BIOTECNOLOGIA MODERNA



[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)



[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)



[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)



[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

# BIOSSEGURANÇA E BIOTECNOLOGIA MODERNA



[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)



[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)



[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)



[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)