



# Biossegurança em Organismos Geneticamente Modificados

**Priscila M. M. de Leon**

Médica Veterinária, Dra. em Biotecnologia  
Biotecnologia/UFPel



# *LIVRO DE BIOSSEGURANÇA EM ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS*

*na fronteira da manipulação genética*



***Parte I. Introdução a Biossegurança e Organismos Geneticamente Modificados***

***Parte II. Forma de Manejo e Abordagem Legal***

- Animais Geneticamente Modificados
- Plantas Geneticamente Modificadas
- Microrganismos Geneticamente Modificados
- Métodos de Controle de Agentes de Risco





# OGMs x Biossegurança



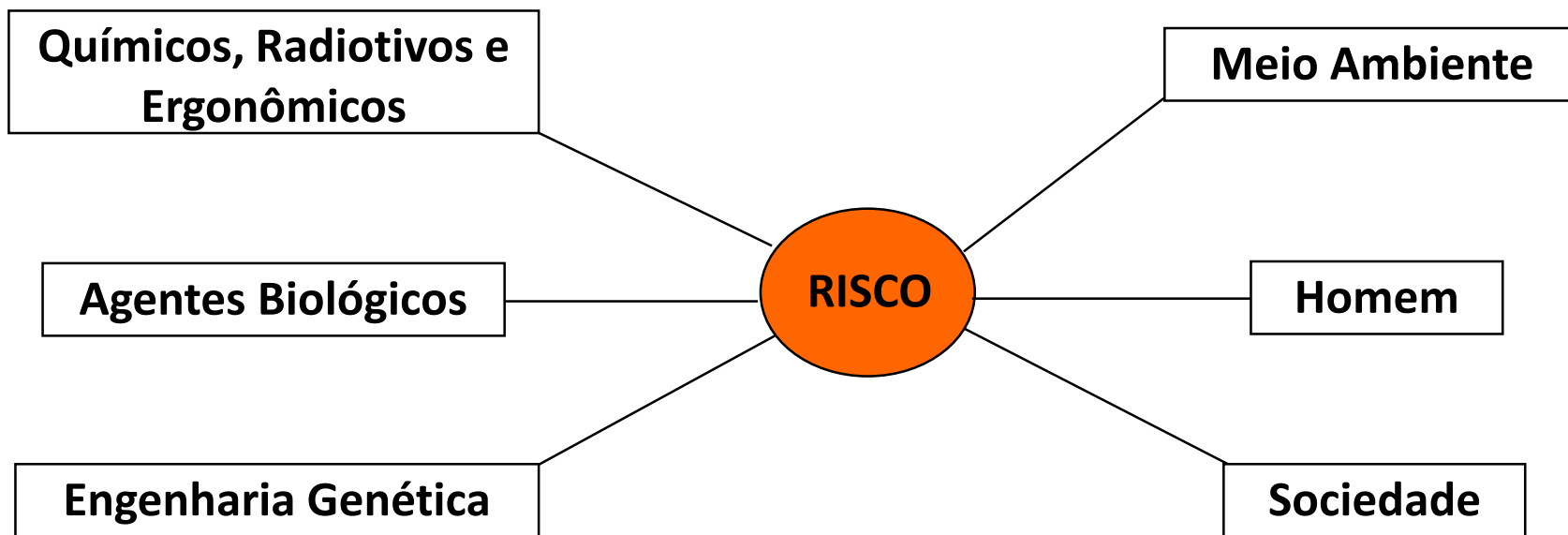
- **Conceito de OGMs:**

- ✓ Organismos geneticamente modificados são os que sofreram modificações do seu material genético (DNA/RNA), em forma de adição ou subtração de informação genética, com o objetivo de fazê-lo capaz de produzir novas substâncias ou realizar novas funções;
- ✓ **Transgênicos:** Plantas, Animais e Microrganismos



# Biossegurança x OGMs

*O conceito de Biossegurança envolve as seguintes relações:*



**Biossegurança:** Conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, ensino, desenvolvimento tecnológico, visando a saúde do homem, dos animais e preservação do meio ambiente.



# Biossegurança x OGMs

- Histórico:

- Em 1999, **Protocolo de Cartagena:**

- Conferência sobre Diversidade Biológica em Cartagena/Colômbia,
  - O Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança é um **tratado ambiental** que faz parte da **Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB)**;
  - Documento foi aprovado em janeiro de 2000, em vigor em setembro de 2001;
  - Brasil aderiu em novembro de 2003, vigorar em fevereiro de 2004;
  - Atualmente 188 países fazem parte;



# Biossegurança x OGMs

## ➤ Protocolo de Cartagena

- ✓ **Objetivo**: assegurar o nível adequado de proteção envolvendo a transferência, manipulação e uso de OGMs;
- ✓ **Preocupação**: com os efeitos adversos na conservação e no uso sustentável da diversidade biológica, levando em consideração os riscos para a saúde humana e na movimentação transfronteiriça;
- <http://bch.cbd.int/protocol/>



# FORMA DE MANEJO PARA CADA TÓPICO





✓ Principais práticas de manejo de OGMs

▪ **Animais Geneticamente Modificados**

▪ **Plantas Geneticamente Modificadas**

▪ **Microrganismos Geneticamente Modificados**



# ➔ Animais Geneticamente Modificados





# ANGM

- Conceito:
- ✓ ***Animais Geneticamente Modificados*** são considerados todos aqueles animais cujas sequências em seu DNA sofreram modificações induzidas;
- ✓ camundongos até animais domésticos de grande porte podem ser classificados como AnGM;





# Histórico AnGM

- *Geração de animais transgênicos:*
  - ✓ realizada no final dos **anos 70**, através da transferência de um retrovírus em embrião de camundongo, levando a geração de camundongos transgênicos com genes exógenos inseridos de forma estável em seus genomas;
  - ✓ Transgênese tornou-se uma das técnicas essenciais para a biologia e biotecnologia;
  - ✓ Modelos animais para o estudo: na regulação gênica, de oncogenes, doenças genéticas, na produção de proteínas recombinantes, xenotransplantes e entendimento de interações celulares.



## Eficiência da Microinjeção de DNA:

- 2% camundongo
- 0,1 a 0,5% suíno;
- 0,01 a 0,1% cabras;
- Menor em bovino e ovino;



## **Classificação dos AnGMS quanto ao Nível de Biossegurança:**

- **Nível de Biossegurança (NB):**
  - **Nível de segurança biológica recomendável para um dado setor** que desenvolve atividade de risco para o profissional e comunidade;
  - permite o trabalho em laboratórios/biotérios de forma segura, com risco mínimo para o operador e meio ambiente.



# Classificação dos AnGMS quanto ao NB:



## → Nível de Biossegurança 1:

- Neste nível são classificados os AnGM:
  - que após as manipulações genéticas sofridas, **não tiverem alteradas suas características de transmissibilidade de doenças para outras espécies vegetais ou animais**, incluindo seres humanos;
  - que **não apresentarem vantagens seletivas** quando liberados no meio ambiente;
  - AnGM que contenham o genoma de vírus e não levam à doenças infecciosas transmissíveis.

*\* Exemplo: modelo animais para estudo de obesidade e diabetes, hipertensão e doenças cardíacas.*



# Classificação dos AnGMS quanto ao NB:



## → Nível de Biossegurança 2:

- Neste nível são classificados os AnGM:
  - que **passam a expressar substâncias sabidamente tóxicas** para animais, incluindo o homem, ou vegetais e que, para tais toxinas, **existam formas efetivas de prevenção ou tratamento;**
  - que contenham mais de **75% do genoma de vírus NB-1** (doenças infecciosa transmissível);
  - que possam ser **susceptíveis à infecções que normalmente não ocorram na espécie** equivalente.

\* *Exemplo: modelo animais suscetíveis ao Trypanosoma cruzi e Leishmaniose.*



# Classificação dos AnGMS quanto ao NB:



## → Nível de Biossegurança 3:

- Neste nível são classificados os AnGM:
  - que contenham **mais de 75% do genoma de vírus manipulados em NB-2 ou 3;**
  - que são considerados **mais aptos à sobrevivência no meio ambiente** que os equivalentes não geneticamente modificados.

\* *Exemplo: camundongos resistente a influenza e resistente a salmonelose;*





# Classificação dos AnGMS quanto NB:



## → Nível de Biossegurança 4:

- Neste nível são classificados os AnGM:
  - que contenham **mais de 75% do genoma de vírus manipulados em NB-4;**
  - que após a manipulação genética passem a **expressar substâncias sabidamente tóxicas**, incluindo animais, seres humanos e vegetais, e que para **tais toxinas não existam formas efetivas de prevenção ou tratamento;**

*\* Exemplo: modelo animais para estudo de AIDS (contenham o genoma do vírus)*



# Classificação dos AnGMS quanto ao Grupo de Risco:

## ❖ AnGM do Grupo I:

- Nível de Biossegurança 1;
- CIBio autoriza, e envia a planta do biotério e normas de funcionamento a CTNBio;

## ❖ AnGM do Grupo II:

- Níveis de Biossegurança 2, 3 ou 4;
- CTNBio faz visita técnica para a aprovação;





# Nível de Biossegurança dos Biotérios para AnGM (NB-A):

- *Características mínimas de Biossegurança para Biotérios:*
- porta principal deverá estar sempre **trancada**;
  - **acesso restrito** às pessoas credenciadas;
  - animais de diferentes espécies e não envolvidos em um mesmo experimento deverão estar alojados em **áreas fisicamente separadas**;
  - todas as áreas que permitam ventilação deverão conter **barreiras físicas** para impedir a passagem de insetos e outros animais.





# Nível de Biossegurança dos Biotérios para AnGM (NB-An):

## → NB-An1:

### \* *Comitê de Ética em Experimentação Animal Institucional*

- As **instalações separadas** da área de livre circulação do prédio;
- **Pesquisador Principal:** estabelece normas, procedimentos e protocolos para situações de emergência.
- Toda manipulação deverá ser realizada de forma a **evitar a liberação acidental do AnGM** no meio ambiente.
- Todo **material deverá ser descartado** (CIBio/CTNBio)





# Nível de Biossegurança dos Biotérios para AnGM (NB-An):

## → NB-An2:

- apenas as pessoas autorizadas e qualificadas podem ter acesso ao biotério (**vacinadas contra os agentes infecciosos**);
- **Ante Sala;**
- O material deve ser acondicionado e a desinfecção poderá ocorrer fora do biotério;
- É obrigatório o **uso de EPIs** apropriados como: máscara, gorro, luva, protetores para os pés, óculos e protetores faciais. (**descontaminação após o uso**);





# Nível de Biossegurança dos Biotérios para AnGM (NB-An):

## → NB-An3:

- **4 áreas:** Ante Sala, Sala de Materiais, Sala de Animais e Sala de Experimentação;
- **sistema de pressão de ar negativo** (controle automático) e **purificação do ar;**
- **Sistema de Microisoladores;**
- todo o **líquido efluente** deverá ser **descontaminado** antes de liberado;
- **autoclave de duas portas;**
- **incinerador** na Sala de Animais ou na Sala de Experimentação;
- A CIBio estipula procedimentos de emergência em caso de acidentes ( em cada Sala deverá haver **sistema de alarme**);
- **amostras de soro dos usuários** (CIBio propõe sistema de monitoramento);





# Nível de Biossegurança dos Biotérios para AnGM (NB-An):

## → NB-An4:

- **Construção** deve ser **isolada e vigiada 24h**;
- **6 áreas**: Ante Sala; Sala de Troca de Vestimenta - três divisões; Sala de Materiais; Sala de Animais; Sala de Experimentação; Sala de Necropsia;
- Sistema de **acesso por cartão magnético ou códigos digitais**;
- **Sistema de filtração** utilizado para exaustão de ar deverá possuir **dupla barreira de filtragem**;
- A **entrada de qualquer material** para as Salas de Animais deverá ser realizada, **via autoclave de duas portas**;





# Liberação Acidental de AnGM no meio ambiente:

- ✓ AnGM deverá possuir marcador genético;
- ✓ Marca permanente para identificação macroscópica;
- ✓ Imediata comunicação a CIBio e CTNBio;







# VACINAS E TESTES IMUNODIAGNÓSTICOS



## ✓ EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL:

- Riscos físicos, biológicos e ao meio ambiente: *espécies envolvidas*;
- Biotérios adequados: instalações, equipe e práticas;
- \* *Os próprios animais podem apresentar riscos: aerossóis, morder e arranhar, zoonoses*
- \* ***Comitê de Ética em Experimentação Animal Institucional***
  - Práticas padrões
  - Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias)
  - Instalações (Barreiras Secundárias)
  - Práticas Especiais para o nível 4
- \* *imunizações e a avaliação sorológica dos profissionais*

# → Métodos de Controle de Agentes de Risco

- Procedimentos de Descarte

- Descarte de animais de Laboratório
- Descarte de Materiais contaminados



Risco Biológico

- Manipulação de Reagentes Químico

- Manipulação de Material Biológico

- Manipulação de equipamento de uso comum

- Boas Práticas em Biotério

# → Plantas Genéticamente Modificados





# PGM



- Conceito:

- ✓ ***Plantas Geneticamente Modificados*** apresentam gene ou genes que foram artificialmente inseridos, apresentando características desejáveis oriundas de outra variedade da planta, ou mesmo de outra espécie;





# PGM



- **Aplicações:**

- ✓ incremento de compostos de interesse nutricional e funcional;
- ✓ melhoras no aproveitamento de micronutrientes do solo;
- ✓ aumento de produtividade;
- ✓ resistência a pragas e a herbicidas;
- ✓ tolerância a estresses abióticos;
- ✓ diminuição de impactos ambientais;
- ✓ produção de compostos químicos, farmacêuticos, vacinas;
- ✓ aumento de biomassa servindo como fonte de combustíveis;



# Classificação de PGM:



## → Nível de Biossegurança 1:

- Neste nível são classificadas PGM:
    - **cujos organismos parentais não causam doenças ao homem, animais ou plantas, não se comportem como ervas daninhas;**
    - **não exóticos sem potencial para disseminação rápida;**
    - não possui riscos de causar impacto negativo no ecossistema natural ou manejado;
- \* *Exemplo: tomate de amadurecimento tardio;*



# Classificação de PGM:



## → Nível de Biossegurança 2:

- Neste nível são classificadas PGM:
  - se disseminados fora da casa de vegetação **seriam viáveis no meio ambiente, mas possui controle;**
  - Microrganismos associados a plantas que são nativos na área e **potencialmente perigosos ao ambiente**, mas manejáveis;
  - **estudos com insetos associados** a plantas que não prejudiquem ecossistemas naturais ou manejados;
  - consideradas **ervas daninhas** ou se reproduzam com elas;
  - com **genoma completo de agente infeccioso não exótico;**
- \* *Exemplo: banana e batata com agentes de doença infecciosa gastrointestinal (vacinas)*



# Classificação de PGM:



## → Nível de Biossegurança 3:

- Neste nível são classificadas PGM:
  - associada a organismo que apresenta **potencial impacto ao meio ambiente;**
  - contendo genes que codifiquem para **toxinas de vertebrados;**
  - contendo o **genoma completo de agente infeccioso exótico transmissível**, ou onde haja a possibilidade de reconstituição completa e funcional;
  - contendo microrganismos patogênicos a insetos ou outros pequenos animais associados com plantas;
  - potencial para produzir efeitos negativos em ecossistemas naturais ou manejados;

\* *Exemplo: plantas resistentes a insetos.*





## Classificação de PGM:



### → Nível de Biossegurança 4:

- Neste nível são classificadas PGM:
  - pequena escala de agente infeccioso exótico transmissível na presença de seu vetor, poderá ser **potencial patógeno** para outras plantas cultivadas
  - **É vedado este tipo de experimento em grande escala.**



# Princípios de Contenção para PGM



- evitar transmissão de genomas de plantas ou organismos associados às plantas, contendo DNA recombinante;
- minimizar a possibilidade de efeitos deletérios nos organismos e ecossistema;
- evitar a disseminação de patógenos da casa de vegetação para a agricultura;
- evitar a introdução e estabelecimento não-intencional de um organismo no ecossistema;

# Casa de Vegetação

- Estrutura com paredes, teto e piso, projetada e usada, principalmente, para o crescimento de plantas em ambiente controlado e protegido
- As paredes e o teto são geralmente construídos de material transparente ou translúcido para permitir a passagem de luz solar





# Medidas Preventivas para PGM na casa de vegetação



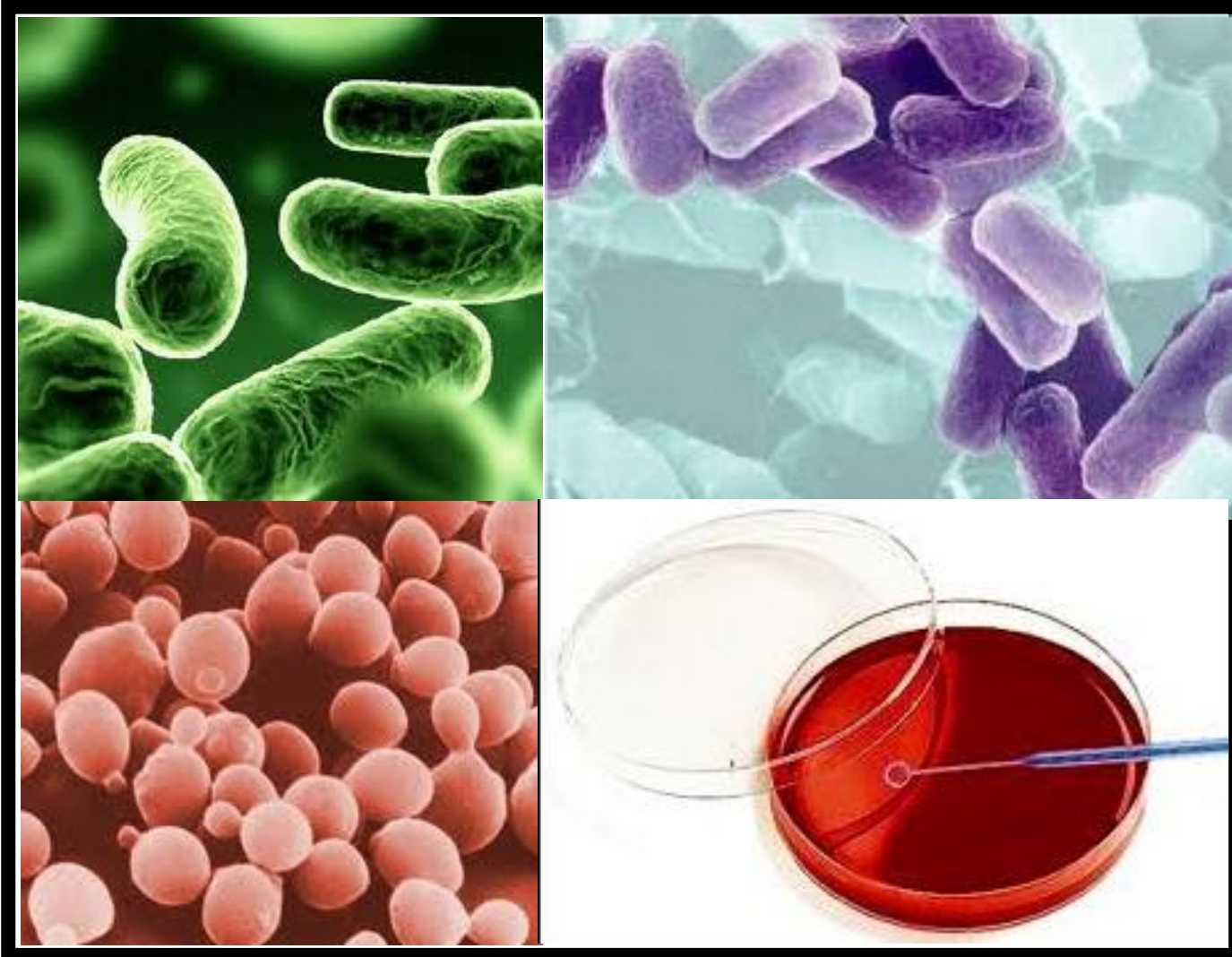
- A partir do NB-2 a casa de vegetação deve ser de concreto
- **cobrir ou remover flores e sementes;**
- **colher o material de estudo antes da maturidade sexual ou usar plantas macho-estéreis;**
- controlar o tempo de floração evitando reprodução com outras plantas compatíveis;
- utilizar técnicas de modificação genética que localize **transgene em partes não propagativas da planta.**
- **evitar a geração de aerossóis** ao inocular as plantas com microrganismos;
- manter distâncias adequadas entre a planta infectada e hospedeiros suscetíveis;
- **realizar experimentos em época do ano onde as plantas suscetíveis não cresçam;**
- **eliminar vetores insetos;**



# Medidas Preventivas para PGM na casa de vegetação

- modificar geneticamente o microrganismos minimizando sua sobrevivência e reprodução fora da planta hospedeira;
- **tratar a água que esco das plantas após irrigação;**
- **Insetos** geneticamente modificados associados a plantas:
  - **Utilizar cepas estéreis** ou que não sejam capazes de voar;
  - conduzir experimentos em época do ano quando a sobrevivência dos insetos que vierem a escapar é impossível;
  - escolher organismos que tem uma associação obrigatória com a planta;
  - evitar o uso de insetos pequenos devido a difícil eliminação;
  - destruir insetos polinizadores após transferência do pólen para eliminar qualquer potencial de disseminação de pólen transgênico no ambiente.

# → Microorganismos Genéticamente Modificados



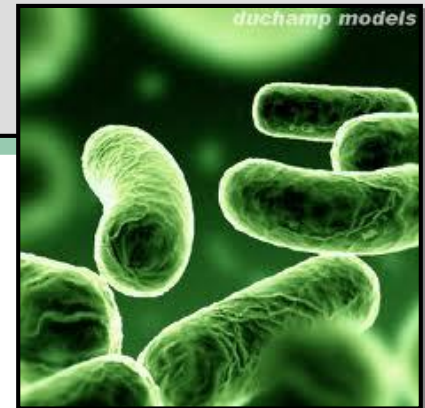
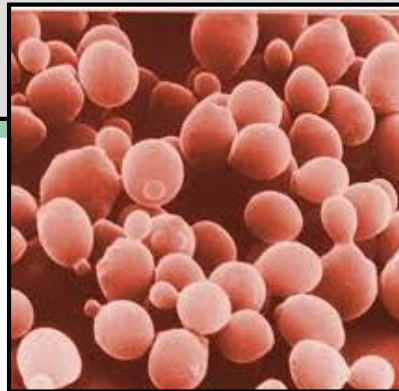
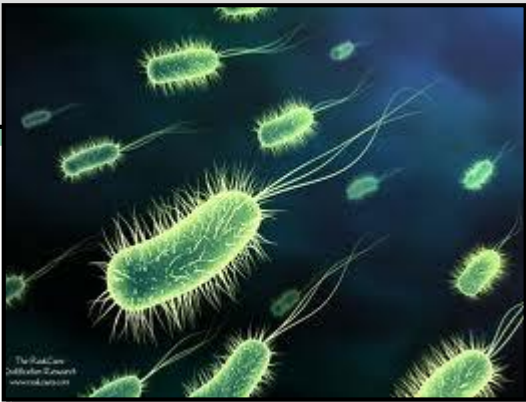


# MGM

## ✓ *Microrganismos Geneticamente Modificados*

### • Aplicações:

- produção de vacinas;
- teste imunodiagnósticos;
- Biorreatores para produção de compostos de interesse;
- redução do uso de agrotóxicos e aumento da produção agrícola;





# MGM



## ✓ *Microrganismos Geneticamente Modificados*

- Critérios de segurança ambiental:
  - Sobrevivência, dispersão e possibilidade de interações com outras espécies;
  - transferência de genes para outras populações microbianas do ambiente;
  - **rearranjos genéticos;**
  - **potencial patogênico do microrganismo ao homem, a outros animais e/ou às plantas;**
  - **vantagem ocasionando uma pressão seletiva** ou a um prejuízo metabólico na competição com outros microrganismos;





# Legislação Brasileira de Biossegurança para MGM:



- **Lei nº 8.974, de 05 de janeiro de 1995**
  - **Classificação em dois grupos de risco biológico**
- **Grupo de Risco I: (apenas NB-1)**
  - ✓ **Riscos: individual e comunitário baixos** (não patogênico);
  - ✓ Microorganismos que têm probabilidade nula ou baixa de provocar doenças para o homem e que não constituem risco para o meio ambiente. Ex. *Lactobacillus*
- **Grupo de Risco II: (NB-2, NB-3 e NB-4)**
  - ✓ **Riscos: individual e comunitário**
  - ✓ Organismos patogênicos, porém geralmente não apresentam um perigo sério para os indivíduos. Pode provocar infecções graves, porém já se conhecem medidas profiláticas adequadas com risco de propagação limitado ou reduzido. Ex. *Leptospira*, *M.tuberculosis*, *vírus Ebola*



# VACINAS E TESTES IMUNODIAGNÓSTICOS



- ✓ O *nível de risco* e o *nível de biossegurança* adotado para laboratórios que realizam experimentos envolvendo desenvolvimento de vacinas e testes imunodiagnósticos está diretamente relacionado ao risco biológico apresentado pelo *microrganismo manipulado*.

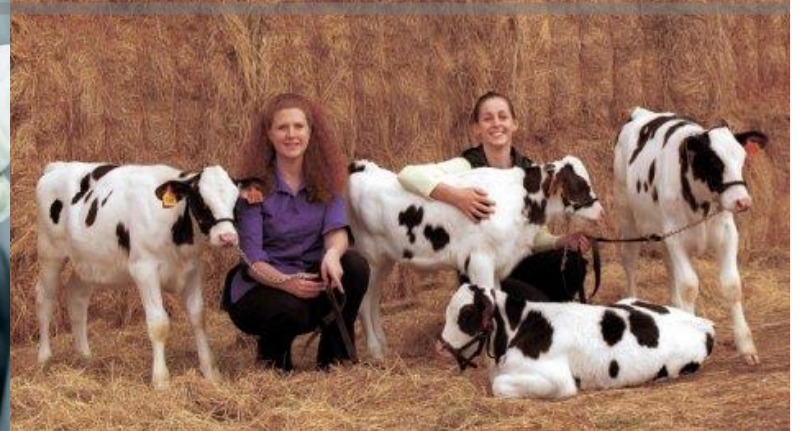
Tabela 4 - Requisitos para os diversos níveis de segurança biológica.

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

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



# Obrigada pela atenção!



Salmão transgênico (acima) cresce 10 X mais rapidamente que o normal (ao lado).

