



**Ciências
ULisboa**

Faculdade
de Ciências
da Universidade
de Lisboa

MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO




ÍNDICE

1.	ABREVIATURAS	4
2.	GLOSSÁRIO.....	5
3.	PRINCÍPIOS GERAIS.....	7
3.1.	Classificação/Definição de OGM/MGM.....	7
3.2.	Utilização confinada (definição)	8
3.3.	Classificação das operações de utilização confinada	8
3.4.	Resumo dos requisitos para atividades de Classe 1 e de Classe 2	9
4.	SEGURANÇA BIOLÓGICA DA TECNOLOGIA DE DNA RECOMBINANTE.....	10
4.1.	Considerações de biossegurança para sistemas de expressão biológica	10
4.2.	Vetores virais para transferência de genes.....	10
4.3.	Animais transgênicos e "knock-out"	11
4.4.	Plantas transgênicas	12
4.5.	Avaliações dos riscos dos organismos geneticamente modificados	13
5.	LABORATÓRIOS	15
5.1.	Regras básicas de segurança em laboratórios de Classe 1 e de Classe 2	15
5.2.	Gestão de resíduos	18
5.3.	Requisitos e procedimentos de biossegurança específicos para agentes de Classe 2	19
6.	INSTALAÇÕES LABORATORIAIS PARA ANIMAIS.....	22
6.1.	Instalação para animais – Nível 1 de segurança biológica	22
6.2.	Acesso ao Biotério	23
6.3.	Regras Gerais de Funcionamento	23
6.4.	Organização e Fluxo no Biotério	23
6.5.	Procedimentos específicos para animais - Sala 2.1.04.....	24
6.6.	Procedimentos específicos para animais - Sala 2.1.30.....	27
7.	INSTALAÇÕES LABORATORIAIS PARA PLANTAS.....	31
7.1.	Instalações para plantas – Nível 1 de segurança biológica.....	32
7.2.	Acesso às instalações.....	32
7.3.	Atividades nas instalações	32
7.4.	Procedimentos em todos os laboratórios onde ocorram atividades com plantas geneticamente modificadas	32
8.	BOAS PRÁTICAS MICROBIOLÓGICAS.....	35
8.1.	Área de Trabalho.....	35
8.2.	Câmaras de Fluxo Laminar / Câmaras de Segurança Biológica	35



8.3. Higiene Pessoal	36
8.4. Reagentes e Materiais Estéreis	36
8.5. Manipulação	36
8.6. Pipetagem	36
8.7. Aerossóis	37
8.8. Utilização de centrífugas	37
8.9. Manutenção e utilização de frigoríficos, congeladores e arcas	37
9. DESINFECÇÃO E ESTERILIZAÇÃO	38
9.1. Definições	38
9.2. Procedimento	38
10. DIRETIVAS PARA A AUTORIZAÇÃO DE INSTALAÇÕES LABORATORIAIS	39
10.1. Princípios gerais	39
10.2. Notificação da realização da primeira operação de utilização confinada	41
10.3. Operações subsequentes de utilização confinada de classe 1	41
10.4. Operações subsequentes de utilização confinada de classe 2	42
10.5. Ações periódicas e responsabilidades	43
10.6. AÇÕES INSPETIVAS	45
11. BIBLIOGRAFIA	46
12. ANEXOS	47
12.1. Anexo I - Despacho D/16/2022 Regras gerais de segurança em laboratório	48
12.2. Anexo II - Documento de Avaliação de Trabalho com OGM/MGM	50
12.3. Anexo III – Formulário de Notificação Classe 1	53
12.4. Anexo IV - Formulário de Notificação Classe 2	60
12.5. Anexo V – Formulário para reavaliação anual de risco das atividades de utilização confinada efetuadas	70
12.6. Anexo VI – Lista de agentes desinfetantes e tempos de contacto	73
12.7. Anexo VII – Registo de formação	74
12.8. Anexo VIII – Registo de utilização	75
12.9. Anexo IX – Registo de Limpeza	76
12.10. Anexo X – Registo de Manutenção	77
12.11. Anexo XI – Lista de verificação de requisitos para utilização confinada Classe 1	78
12.12. Anexo XII – Lista de verificação de requisitos para utilização confinada Classe 2	79
12.13. Anexo XIII - Formulário de reporte anual da atividade de utilização confinada de MGM/OGM	81
12.14. Anexo XIV - Modelo de Calendário anual de responsabilidades	83

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	<i>Data: dezembro 24</i>
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	<i>Página 4 de 84</i>

1. ABREVIATURAS

AAV - Vírus adeno-associados

ACT - Autoridade para as Condições do Trabalho

APA – Agência Portuguesa do Ambiente

BSL – *Biological Safety Level*

CFL – Câmara de Fluxo Laminar

CSB – Câmara de Segurança Biológica

CSB.C – Comissão de Segurança Biológica de CIÊNCIAS ULisboa

DGAV - Direção-Geral da Alimentação e Veterinária

DGS - Direção Geral da Saúde

DNA - *Deoxyribonucleic acid*

DOB – *Date of Birth*

EPI – Equipamento de Proteção Individual

G3S – Gabinete de Segurança, Saúde e Sustentabilidade de CIÊNCIAS ULisboa

GM – Geneticamente Modificado

HEPA: *High Efficiency Particulate Air*

IGAMAOT - Inspeção-Geral da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território

INSA - Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

LD - *Lethal Dose*

MGM – Microrganismos Geneticamente Modificado

NIH – National Institutes of Health

NSBIA - Nível de segurança biológica de instalações para animais

OGM – Organismos Geneticamente Modificado

PIEB – Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa

POP/SOP – Procedimento Operacional Padrão/Standard Operation Procedure

ORBEA - Órgão Responsável pelo Bem-estar dos Animais

ULisboa – Universidade de Lisboa

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



2. GLOSSÁRIO

Acidente – Qualquer incidente que envolva uma libertação significativa e involuntária de MGM ou de OGM durante a sua utilização confinada, que possa pôr em perigo, com efeito imediato ou retardado, a saúde humana ou o ambiente.

Câmara de Fluxo Laminar (CFL) - Equipamento concebido para proteger o **produto** contra a contaminação de partículas presentes no ar. Fornece um fluxo unidirecional de ar filtrado por filtros HEPA (normalmente horizontal ou vertical) sobre a área de trabalho, criando um ambiente estéril. Garante que o produto/manipulação seja feito em ambiente limpo. São utilizadas em processos onde é essencial a esterilidade do produto, mas onde não há risco de agentes infecciosos.

Câmara de Segurança Biológica (CSB) - Equipamento concebido para proteger o **operador, o ambiente e o produto** contra agentes infecciosos e perigosos. Funcionam como sistemas de contenção parcial, baseados no fluxo direcional de ar para garantir a contenção. O fluxo controla o movimento direcional do ar (por meio de filtros HEPA) para garantir que o operador e o ambiente não sejam expostos a aerossóis ou substâncias perigosas geradas durante a manipulação. São utilizadas em laboratórios que manipulam materiais biológicos potencialmente perigosos.

Incidente – Qualquer situação que envolva derrames, libertação ou exposição a MGM ou OGM durante a sua utilização confinada, sem ocorrência de uma libertação significativa, que seguramente não coloque em perigo, com efeito imediato ou retardado, a saúde humana ou o ambiente.

Lethal Dose 50 (LD50) – Quantidade de toxina que provoca a morte a 50% dos animais expostos.

Microrganismo – Qualquer entidade microbiológica, celular ou não celular, capaz de replicação ou de transferência de material genético, incluindo vírus e células animais e vegetais em cultura.

Manual de Segurança Biológica de CIÊNCIAS ULisboa – Documento no qual estão indicadas as medidas de prevenção a adotar associadas à utilização confinada de OGM/MGM nas instalações de CIÊNCIAS, nomeadamente a organização, os meios humanos e materiais a envolvidos, as regras, as boas-práticas e os procedimentos a adotar.


MGM – Microrganismo cujo material genético microrganismo cujo material genético tenha sido modificado por uma forma de reprodução sexuada e ou de recombinação natural que não ocorre na natureza.

OGM – Qualquer organismo, com exceção do ser humano, cujo material genético foi modificado de uma forma que não ocorre naturalmente por meio de cruzamentos ou de recombinação natural.

Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa – Documento no qual estão indicadas as medidas de autoproteção a adotar associadas à utilização confinada de OGM/MGM, para fazer face a uma situação de derrames, libertação ou exposição a agentes que envolvam risco biológico nas instalações de CIÊNCIAS, nomeadamente a organização, os meios humanos e materiais a envolver e os procedimentos a cumprir nessa situação.

Utilização confinada – Qualquer atividade da qual resulte a modificação genética de MGM ou OGM ou em que os mesmos sejam cultivados, armazenados, transportados, mantidos, criados, destruídos, eliminados ou utilizados de qualquer outra forma, com recurso a medidas específicas de confinamento, com o objetivo

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	Data: dezembro 24
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	Página 6 de 84

de limitar o seu contacto com a população em geral e o ambiente, garantindo um elevado nível de segurança.

Utilizador – Qualquer pessoa, singular ou coletiva, responsável pela utilização confinada de MGM ou OGM.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



3. PRINCÍPIOS GERAIS

Este manual contém informação essencial às boas práticas em laboratório de modo a permitir o trabalho com organismos geneticamente modificados (OGM) e microrganismos geneticamente modificados (MGM). As regras apresentadas alinham-se com Despacho do Diretor D/16/2022 relativo às *Regras gerais de segurança em laboratório* (Anexo I - Despacho D/16/2022 Regras gerais de segurança em laboratório). A leitura deste manual, bem como o preenchimento do Documento de Avaliação de Trabalho com OGM/MGM (Anexo II - Documento de Avaliação de Trabalho com OGM/MGM) deve ser efetuado por todos os investigadores e estudantes que trabalhem com amostras biológicas ou iniciem o trabalho com um novo tipo de amostra biológica.

Este manual reúne numa primeira parte (Capítulo 0 ao Capítulo 9), toda informação, procedimentos e boas práticas a considerar nos diferentes tipos de instalação de risco biológico existentes em CIÊNCIAS ULisboa. Seguidamente (Capítulo 10), apresenta-se o procedimento a adotar para o pedido de utilização confinada de OGM/MGM e as ações periódicas a executar durante a manutenção da autorização para utilização confinada de OGM/MGM.

Este manual concentra-se nos níveis de segurança biológica 1 e 2, uma vez que são os níveis atualmente existentes em CIÊNCIAS.

3.1. Classificação/Definição de OGM/MGM

(Segundo Artigo 3º, Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril)


Organismo geneticamente modificado (OGM) é qualquer organismo, com exceção do ser humano, cujo material genético foi modificado de uma forma que não ocorre naturalmente por meio de cruzamentos ou de recombinação natural. Microrganismo geneticamente modificado (MGM) é um microrganismo cujo material genético tenha sido modificado por uma forma de reprodução sexuada e ou de recombinação natural que não ocorre na natureza.

Os organismos vivos, quando libertados no ambiente, para fins experimentais ou sob a forma de produtos comercializados, e/ou em resultado da respetiva utilização/manipulação, são suscetíveis de se reproduzir no ambiente, com efeitos que podem ser irreversíveis.

De modo a assegurar o progresso sustentável e a utilização segura dos OGM, a União Europeia estabeleceu um quadro normativo que visa assegurar a proteção da saúde humana, dos ecossistemas e da agricultura dos potenciais riscos associados à colocação no mercado e utilização dos OGM.

Neste âmbito, e tendo por base o princípio da precaução, foram estabelecidas obrigações de avaliação e controlo dos riscos resultantes da libertação deliberada no ambiente e regras para a colocação no mercado, cultivo e ensaios com OGM, bem como para a utilização confinada de MGM/OGM.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	<i>Data: dezembro 24</i>
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	<i>Página 8 de 84</i>

3.2. Utilização confinada (definição)

(Segundo a Agência Portuguesa do Ambiente, APA)

A utilização confinada de microrganismos geneticamente modificados (MGM) ou de organismos geneticamente modificados (OGM) é qualquer atividade da qual resulte a modificação genética de MGM ou de OGM ou em que os mesmos sejam cultivados, armazenados, transportados, mantidos, criados, destruídos, eliminados ou utilizados de qualquer outra forma, com recurso a medidas específicas de confinamento, com o objetivo de limitar o seu contacto com a população em geral e o ambiente, garantindo um elevado nível de segurança.

Face aos riscos potenciais para a saúde humana e o ambiente, a utilização confinada de MGM e OGM encontra-se sujeita a normas nacionais e comunitárias restritas, tendo em vista a avaliação e gestão desses riscos.

A utilização confinada de MGM/OGM requer, assim, a avaliação e gestão dos riscos para a saúde humana e para o ambiente, e obriga a medidas específicas de confinamento, com o objetivo de limitar o contacto com a população e o ambiente, garantindo um nível de segurança adequado.

3.3. Classificação das operações de utilização confinada

(Segundo Artigo 7º, Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril)

1 - As operações de utilização confinada são classificadas em classes, de acordo com o risco inerente à operação e nos termos do Anexo III ao decreto-lei nº 55/2015, às quais correspondem os níveis de confinamento considerados necessários para a proteção da saúde humana e do ambiente, nos termos do Anexo IV do mesmo Decreto-Lei:

- a) «Classe 1», operações de risco nulo ou insignificante, em que é suficiente um confinamento de nível 1;
- b) «Classe 2», operações de baixo risco, em que é necessário um confinamento de nível 2;
- c) «Classe 3», operações de risco moderado, em que é necessário um confinamento de nível 3;
- d) «Classe 4», operações de alto risco, em que é necessário um confinamento de nível 4.

2 - Em caso de dúvida quanto à classe a adotar, deve ser atribuída a classificação correspondente ao nível seguinte, de forma a salvaguardar a proteção da saúde humana e do ambiente, salvo se existir informação, aceite pela autoridade legalmente competente, que justifique a aplicação de medidas menos rigorosas.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



3.4. Resumo dos requisitos para atividades de Classe 1 e de Classe 2

(Classe 1 e Classe 2 – quadro I A, Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril)

Tabela 1 Medidas de confinamento e outras medidas de proteção aplicáveis a atividades laboratoriais de nível 1 e nível 2 (extrato do quadro IA do Decreto-Lei n.º. 15/2015, de 17 de abril)

Especificações	Níveis de Confinamento	
	1	2
Instalações do laboratório: isolamento - o laboratório está separado de outras áreas do mesmo edifício ou está localizado num edifício próprio	Não	Não
Laboratório: suscetível de ser vedado para fumigação	Não	Não
EQUIPAMENTO		
Superfícies resistentes a água, ácidos, bases, solventes, desinfetantes e agentes de descontaminação, fáceis de limpar.	Sim (bancada)	Sim (bancada)
Acesso ao laboratório através de câmara de vácuo isolada do laboratório. O seu lado não contaminado deve estar separado do lado restrito por vestiários ou chuveiros preferivelmente através de portas com mecanismo de engate	Não	Não
Pressão negativa em relação à pressão do ambiente circulante	Não	Não
O ar de insuflação e de extração do laboratório deve ser objeto de filtração HEPA	Não	Não
Posto de segurança microbiológica	Não	Opcional
Autoclave	Nas instalações	No edifício
Acesso restrito	Não	Sim
Aviso de risco biológico na porta	Não	Sim
Medidas específicas para o controlo da disseminação de aerossóis	Não	Sim. Reduzir ao mínimo
Chuveiro	Não	Não
Vestuário de proteção	Vestuário de proteção adequado	Vestuário de proteção adequado
Luvas	Não	Opcional
Controlo eficaz de vetores (por exemplo, roedores e insetos)	Opcional	Sim
RESÍDUOS		
Inativação dos MGM e ou OGM nos efluentes dos lavatórios, ralos de escoamento e chuveiros e efluentes equiparáveis.	Não	Não
Inativação dos MGM e ou OGM no material e nos resíduos contaminados	Opcional	Sim
OUTRAS MEDIDAS		
Laboratórios contendo o seu próprio equipamento	Não	Não
Janela de observação ou equivalente que permita ver os ocupantes	Opcional	Opcional

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---



4. SEGURANÇA BIOLÓGICA DA TECNOLOGIA DE DNA RECOMBINANTE

A tecnologia do DNA recombinante envolve a combinação de material genético de diferentes fontes, criando assim OGM que poderão constituir um organismo que não existia previamente na natureza. As experiências que envolvam a construção ou utilização de OGM devem ser efetuadas após a realização de uma avaliação dos riscos em matéria de biossegurança. As propriedades patogénicas e quaisquer perigos potenciais associados a esses organismos podem ser novos e não bem caracterizados. Devem avaliar-se as propriedades do organismo dador, a natureza das moléculas de DNA que serão transferidas, as propriedades do organismo recetor e as propriedades do ambiente. Estes fatores deverão ajudar a determinar o nível de biossegurança necessário para o manuseamento seguro do OGM resultante e a identificar os sistemas de confinamento biológicos e físicos que devem ser utilizados.

4.1. Considerações de biossegurança para sistemas de expressão biológica

Os sistemas de expressão biológica consistem em vetores e células hospedeiras. Devem ser satisfeitos vários critérios para a sua utilização ser eficaz e segura. Um exemplo desse sistema de expressão biológica é o plasmídeo pUC18. Frequentemente utilizado como vetor de clonagem molecular em combinação com células de *Escherichia coli* K12, o plasmídeo pUC18 foi totalmente sequenciado. Todos os genes necessários para a expressão noutras bactérias foram eliminados do seu plasmídeo precursor pBR322. *E. coli* K12 é uma estirpe não patogénica que não consegue colonizar permanentemente o intestino de seres humanos ou animais saudáveis. Experiências rotineiras de engenharia genética podem ser realizadas com segurança em *E. coli* K12/pUC18 em nível de confinamento BSL (do inglês, *biosafety level*) 1, desde que os produtos de expressão de DNA estranhos inseridos não exijam níveis mais elevados de biossegurança (detalhes sobre os laboratórios BSL1 e BSL2 serão descritos no capítulo 15 deste manual). Podem ser necessários níveis mais elevados de biossegurança nas situações em que:

- a) A expressão de moléculas de DNA derivadas de organismos patogénicos pode aumentar a virulência do OGM.
- b) As moléculas de DNA inseridas não estão bem caracterizadas, por exemplo: durante a preparação de bibliotecas de DNA genómico de microrganismos patogénicos.
- c) Os produtos genéticos têm potencial atividade farmacológica.
- d) Os produtos genéticos codificam toxinas.
- e) Os produtos genéticos têm potencial oncogénico.

4.2. Vetores virais para transferência de genes

Os vetores virais são utilizados para a transferência de genes para outras células e incluem entre outros vetores adenovirais, adeno-associados (AAV), lentivirais ou retrovirais. Tais vetores não possuem certos genes de replicação viral e são propagados em linhas celulares que complementam o defeito. Stocks destes vetores podem estar contaminados com vírus com capacidade de replicação, gerados por acontecimentos raros de recombinação espontânea nas linhas celulares de propagação, ou podem derivar de purificação

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---



insuficiente. Estes vetores devem ser manuseados ao mesmo nível de biossegurança que o vírus original do qual são derivados. Abaixo estão listadas as características dos principais vetores virais de acordo com as recomendações dos *National Institutes of Health* (NIH).

- a) Adenovírus – podem causar doenças respiratórias ligeiras a graves nos seres humanos. A limpeza com etanol 70% v/v não inativa esta classe viral, existindo a recomendação do uso de lixívia a 10% v/v (hipoclorito de sódio a 0,5% v/v). O uso de um sistema adenoviral incompetente de replicação (BSL2) reduz o risco, mas requer várias rondas de purificação.
- b) Vírus adeno-associados (AAV) – esta classe viral é incompetente em termos de replicação e não é conhecida por causar doenças em seres humanos. Se for preparado usando um plasmídeo auxiliar em vez de vírus auxiliar, muitas vezes pode ser manuseado em BSL1. Se preparado com um vírus auxiliar, deve ser manuseado em BSL2. A limpeza com etanol 70% v/v não inativa esta classe viral, existindo a recomendação do uso de lixívia a 10% v/v (hipoclorito de sódio a 0,5% v/v).
- c) Lentivírus – os sistemas lentivirais melhor caracterizados são derivados do vírus da imunodeficiência humana (HIV), mas a sua organização em múltiplos plasmídeos e a deleção de várias proteínas do HIV reduz a probabilidade de gerar vírus com capacidade de replicação. Estes sistemas são manipulados em BSL2/2+. Recomenda-se a utilização de vetores lentivirais de terceira geração. Ao dividir o genoma viral em plasmídeos distintos, os vetores lentivirais de terceira geração aumentaram a segurança, tornando a produção de vírus recombinantes ainda menos provável.
- d) Retrovírus - são classificados com base nos tipos de células que infetam. Para retrovírus que não infetam células humanas, BSL1 pode ser apropriado (vetores ecotrópicos que estão limitados a um pequeno grupo de espécies como *Mus musculus* e *Rattus norvegicus*); se a infeção for de células humanas (vetores amfotrópicos, que infetam células de mamíferos, ou pantrópicos, que infetam células de mamíferos e não mamíferos) a categoria BSL-2/2+ é apropriada.

4.3. Animais transgénicos e "knock-out"

Os animais portadores de material genético estranho (animais transgénicos) devem ser manuseados com níveis de confinamento adequados às características dos produtos dos genes introduzidos. Os animais com supressões específicas de determinados genes (animais "knock-out") não apresentam, em geral, riscos biológicos específicos. Exemplos de animais transgénicos incluem animais que expressam recetores para vírus normalmente incapazes de infetar essa espécie. Se esses animais escapassem do laboratório e transmitissem o transgene à população de animais selvagens, teoricamente poderia ser gerado um reservatório animal para esse vírus específico. Para cada nova linhagem de animais transgénicos, devem ser realizados estudos pormenorizados para determinar as vias pelas quais os animais podem ser infetados, a dimensão do inóculo necessária para a infeção e a extensão da disseminação do vírus pelos animais infetados. Além disso, devem ser tomadas todas as medidas para assegurar uma contenção rigorosa dos animais transgénicos. O nível de segurança da manipulação e/ou experimentação com animais transgénicos está relacionado com as características específicas do transgene. São considerados transgénicos de BSL1 aqueles cujo transgene apresente as seguintes características:

- a) Os ácidos nucleicos sintéticos i) não podem replicar nem gerar ácidos nucleicos que se possam replicar numa célula viva (por exemplo, oligonucleótidos ou outros ácidos nucleicos sintéticos que

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---



não contêm uma origem de replicação ou contêm elementos conhecidos por interagirem com DNA ou RNA polimerase); ii) não foram concebidos para se integrarem no DNA; e iii) não produzem uma toxina letal em vertebrados com uma LD50 inferior a 100 ng por kg de massa corporal.

- b) Não está presente em organismos, células ou vírus e não foi modificado ou manipulado (por exemplo, encapsulado em veículos sintéticos ou naturais) para torná-lo capaz de penetrar membranas celulares.
- c) Consiste apenas na sequência exata de ácido nucleico recombinante ou sintético de uma única fonte que existe contemporaneamente na natureza.
- d) Consiste inteiramente em ácidos nucleicos de um hospedeiro procariota, incluindo os seus plasmídeos ou vírus indígenas quando propagados apenas nesse hospedeiro (ou numa estirpe estreitamente relacionada da mesma espécie), ou quando transferido para outro hospedeiro por meios fisiológicos bem estabelecidos.
- e) Consiste inteiramente em ácidos nucleicos de um hospedeiro eucariota, incluindo os seus cloroplastos, mitocôndrias ou plasmídeos (mas excluindo vírus) quando propagados apenas nesse hospedeiro (ou numa estirpe estreitamente aparentada da mesma espécie).
- f) Consiste inteiramente em moléculas de DNA de diferentes espécies que trocam DNA por processos fisiológicos conhecidos, embora um ou mais dos segmentos possam ser um equivalente sintético.
- g) As moléculas de DNA genómico que adquiriram um elemento transponível, desde que o elemento transponível não contenha DNA recombinante e/ou sintético.
- h) Os que não apresentam um risco significativo para a saúde ou o ambiente.

As situações não descritas acima, devem ser sujeitas a uma avaliação de risco.

4.4. Plantas transgénicas

Uma avaliação dos riscos deve determinar o nível de biossegurança adequado para a produção de plantas transgénicas. O nível BSL1 é recomendado para todas as experiências com ácidos nucleicos recombinantes, sintéticos recombinantes ou plantas contendo moléculas de ácidos nucleicos sintéticos e microrganismos associados a plantas. Exemplos de tais experiências são as que envolvem plantas modificadas por moléculas de ácidos nucleicos recombinantes ou sintéticos que não sejam infestantes nocivas ou que não se possam cruzar com ervas daninhas nocivas na área geográfica imediata. Incluem-se também experiências que envolvem plantas inteiras e ácidos nucleicos recombinantes ou ácidos nucleicos de moléculas modificadas de microrganismos não exóticos, que não tenham potencial reconhecido para rapidez e disseminação rápida e generalizada ou com impacto negativo grave nos ecossistemas (por exemplo, *Agrobacterium* spp.).

O uso de níveis de segurança mais elevados, nomeadamente BSL2, é recomendado nos seguintes casos:

- a) Plantas modificadas por moléculas de ácidos nucleicos recombinantes ou sintéticos que sejam ervas daninhas nocivas ou possam cruzar-se com ervas daninhas nocivas na área geográfica imediata.
- b) Plantas em que o DNA introduzido represente o genoma completo de um agente infeccioso não exótico.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



- c) Plantas associadas a moléculas de ácidos nucleicos recombinantes ou sintéticos modificadas de microrganismos não exóticos com um potencial reconhecido de impacto prejudicial grave nos ecossistemas.
- d) Plantas associadas a moléculas de ácidos nucleicos recombinantes ou sintéticos modificadas de microrganismos exóticos que não tenham potencial reconhecido para um impacto prejudicial grave nos ecossistemas.
- e) Experiências com moléculas de ácidos nucleicos recombinantes ou sintéticos modificadas de artrópodes ou pequenos animais associados a plantas, ou de microrganismos associados a estes, se os microrganismos modificados por moléculas de ácidos nucleicos sintéticos não tiverem potencial reconhecido para causar impactos negativos nos ecossistemas.

4.5. Avaliações dos riscos dos organismos geneticamente modificados

A avaliação de riscos de utilização confinada de OGM/MGM é realizada num primeiro momento aquando do pedido de autorização a submeter à Agência Portuguesa do Ambiente – APA, conforme descrito no capítulo 10. *DIRETIVAS PARA A AUTORIZAÇÃO DE INSTALAÇÕES LABORATORIAIS*. O modelo de formulário, é disponibilizado pela APA na sua página de internet¹ e encontra-se disponível em anexo (Anexo III – Formulário de Notificação Classe 1 e Anexo IV - Formulário de Notificação Classe 2).

Anualmente, cada instalação/laboratório deverá realizar uma reavaliação de risco, podendo utilizar para esse efeito o modelo base disponível em anexo para esse efeito (Anexo V – Formulário para reavaliação anual de risco das atividades de utilização confinada efetuadas).

As avaliações dos riscos para o trabalho com OGM devem ter em conta as características dos organismos dadores e dos organismos recetores/hospedeiros. Exemplos de características a considerar incluem as seguintes:

- a) Perigos diretamente decorrentes do gene inserido (organismo dador) - A avaliação é necessária em situações em que o produto do gene inserido tenha propriedades biológicas ou farmacologicamente ativas conhecidas que possam causar danos, por exemplo:
 1. Toxinas
 2. Citocinas
 3. Hormonas
 4. Reguladores da expressão génica
 5. Fatores de virulência ou potenciadores
 6. Sequências genéticas oncogénicas
 7. Resistência aos antibióticos
 8. Alérgenos.

A consideração destes casos deve incluir uma estimativa do nível de expressão necessário para atingir a atividade biológica ou farmacológica.
- b) Perigos associados ao destinatário/hospedeiro
 1. Suscetibilidade do hospedeiro

¹ <https://apambiente.pt/prevencao-e-gestao-de-riscos/procedimento-autorizacao-de-uso-confinado>

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---




2. Patogenicidade da estirpe hospedeira, incluindo virulência, infecciosidade e produção de toxinas
3. Estado imunitário do recetor
4. Consequências da exposição.

- c) Perigos decorrentes da alteração de características patogénicas existentes - Muitas modificações não envolvem genes cujos produtos são intrinsecamente prejudiciais, mas podem surgir efeitos adversos como resultado da alteração de características não patogénicas ou patogénicas existentes. A modificação de genes originais pode alterar a patogenicidade. Na tentativa de identificar estes perigos potenciais, devem ser considerados, pelo menos, os seguintes pontos:
1. Há aumento da infecciosidade ou patogenicidade?
 2. Pode qualquer mutação incapacitante dentro do hospedeiro ser superada como resultado da inserção do gene estranho?
 3. O gene estranho codifica um determinante de patogenicidade de outro organismo?
 4. Se o DNA estranho inclui um determinante de patogenicidade, é previsível que este gene possa contribuir para a patogenicidade do OGM?
 5. Existe tratamento disponível?
 6. A suscetibilidade do OGM aos antibióticos ou a outras formas de terapia será afetada em consequência da modificação genética?
 7. É possível erradicar o OGM?

Outras considerações - A utilização de animais ou plantas inteiras para fins experimentais também requer uma análise cuidadosa. Os investigadores devem cumprir os regulamentos, restrições e requisitos para a realização de trabalhos com OGM de acordo com a legislação em vigor e com as orientações da autoridade competente para o trabalho com OGM que permitam a identificação do nível adequado de biossegurança. Em alguns casos, a classificação pode diferir de país para país ou os países podem decidir classificar o trabalho a um nível inferior ou superior quando estiverem disponíveis novas informações sobre um determinado vetor/sistema de acolhimento. A avaliação dos riscos é um processo dinâmico que tem em conta os novos desenvolvimentos e os progressos da ciência. A realização de avaliações de risco adequadas assegurará que os benefícios da tecnologia de DNA recombinante permaneçam disponíveis para a humanidade nos próximos anos.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	Data: dezembro 24
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	Página 15 de 84

5. LABORATÓRIOS

5.1. Regras básicas de segurança em laboratórios de Classe 1 e de Classe 2

a) Classificação dos laboratórios:

- **Laboratório de classe 1** (BSL1, *biosafety level 1*) – Laboratório onde é utilizado material biológico de classe 1, o qual apresenta um risco nulo ou insignificante para utilizadores saudáveis e para o ambiente. Exemplos de material biológico de classe 1 são *Bacillus subtilis*, estirpes não patogénicas de *Escherichia coli*, vetores virais adeno-associados (AAV), amostras de mamíferos de laboratório e linhas celulares humanas ou de ratinho (*Mus musculus*) quando não contêm ou estão contaminadas com patógenos humanos ou animais, e quando não alteradas com vetores de um nível de segurança superior (ex. utilização de vetores lentivirais). A investigação com material biológico de classe 1 é geralmente realizada em bancadas de laboratório, sem o uso de equipamentos especiais de contenção. Os laboratórios BSL1 geralmente não estão isolados do edifício onde se localizam, mas incluem uma porta que os separa do restante edifício. Os novos utilizadores devem receber formação sobre procedimentos específicos por parte dos docentes/investigadores responsáveis que asseguram a realização da avaliação de uso confinado de OGM/MGM adequada e respetivas evidências.
- **Laboratório de classe 2** (BSL2, *biosafety level 2*) - Laboratório onde é utilizado material biológico de classe 2, o qual apresenta um baixo risco para utilizadores saudáveis e para o ambiente. Material biológico de classe 2 inclui amostras e algumas linhas celulares humanas, vetores lentivirais de terceira geração, vetores adenovirais, *Aspergillus fumigatus*, *Toxoplasma gondii*, *Salmonella typhimurium* e *Influenza A*. A investigação com material biológico de classe 2 é geralmente realizada em locais designados, nomeadamente com recurso a uma **câmara de fluxo laminar (CFL)/ câmara de segurança biológica (CSB)** com certificado de Classe 2. Os laboratórios BSL2 geralmente não estão isolados do edifício em que se localizam, mas incluem uma porta que os separa do restante edifício, sendo obrigatória a colocação de sinalética de perigo biológico. Apenas utilizadores autorizados e com treino prévio sobre procedimentos específicos são autorizados a operar em laboratórios BSL2.

b) Proteção pessoal - todos os utilizadores devem adotar as seguintes medidas de prevenção para reduzir os riscos associados à exposição a agentes biológicos (em concordância com o Despacho do Diretor D/16/2022, disponível no Anexo I - Despacho D/16/2022 Regras gerais de segurança em laboratório):

- Batas ou uniformes de laboratório, preferencialmente descartáveis, devem ser sempre usados para o trabalho no laboratório.
- O cabelo deve estar apanhado – ou deve ser usada touca de proteção.
- Devem ser utilizadas luvas adequadas (em latex ou nitrilo microbiologicamente aprovadas e descartáveis) para todos os procedimentos que possam envolver contacto direto ou accidental com sangue, fluidos corporais e outros materiais potencialmente infecciosos ou animais infetados.
- Após a utilização, as luvas devem ser removidas assepticamente e as mãos devem ser lavadas.
- Os utilizadores devem lavar as mãos depois de manusear materiais químicos, biológicos e animais bem como antes de sair das áreas de trabalho do laboratório. A lavagem das mãos

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



deve ser efetuada durante pelo menos 20 segundos com água e sabão, e estas devem ser secas com toalhetes de papel.

- Óculos de segurança, protetores faciais (viseiras) ou outros dispositivos de proteção devem ser usados quando for necessário proteger os olhos de aerossóis.
- É proibido o uso de vestuário de proteção laboratorial fora do laboratório, como por exemplo cantinas, salas de café, escritórios, bibliotecas, salas de pessoal e instalações sanitárias.
- O vestuário de rua deve ser adequado ao trabalho realizado, sendo recomendada a utilização de roupas que não deixem pele exposta abaixo do nível dos joelhos.
- Não deve ser usado calçado aberto em laboratórios.
- É proibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos e manusear lentes de contacto nas áreas de trabalho do laboratório.
- Não é permitido levar objetos, como canetas, lápis ou pastilhas elásticas, à boca no laboratório.
- A utilização de dispositivos eletrónicos e de auscultadores no laboratório não pode interferir com a audição clara de alarmes e instruções.
- É proibido armazenar alimentos ou bebidas para consumo pessoal em qualquer parte das áreas de trabalho do laboratório.
- O vestuário de proteção de laboratório utilizado no laboratório não deve ser armazenado nos mesmos cacifos ou armários que o vestuário de rua, e deve ser verificado e limpo regularmente, ou substituído se estiver danificado.
- Pessoas com cortes, arranhões ou lesões da pele não devem trabalhar com qualquer tipo de material biológico sem tomarem medidas de prevenção/proteção adequadas.

Nota: Quando o trabalho é realizado com recurso à chama, o vestuário de proteção de laboratório não pode incluir luvas descartáveis, máscaras descartáveis, batas descartáveis ou qualquer outro tipo de material facilmente inflamável.

c) Procedimentos:

- Os locais e equipamentos devem ser sinalizados corretamente (ex. sinalética de perigo biológico; restrição de acesso a pessoas autorizadas, etc.).
- Devem ser definidos procedimentos de trabalho adequados com vista a evitar ou minimizar a libertação de agentes biológicos. Em função do tipo de instalação em causa, os procedimentos de trabalho específicos de cada laboratório/instalação deverão expressar:
 - as boas práticas e os cuidados a ter na manipulação de materiais de risco biológico, antes, durante e após a conclusão dos trabalhos, em função do tipo de instalação.
 - os materiais de proteção individual adequados à instalação e trabalhos a desenvolver.
 - as regras de acesso ao laboratório/instalação.
 - as regras de eliminação de resíduos.
 - as instruções de operação de equipamentos (quando aplicável).
 - contacto a realizar em caso de derrame, **acidente** ou contaminação.
- Em função do laboratório/instalação, deve ser desenvolvido e seguido um procedimento escrito específico para a limpeza de todos os derrames e todos os utilizadores devem ter acesso rápido a um kit de derrame, conforme previsto no [Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa](#) (PIEB). No caso de não existir a necessidade de aplicação de procedimentos específicos deverá ser considerada a [INSTRUÇÃO OPERACIONAL – USO](#)

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



[CONFINADO DE MGM/OGM, IO-7: PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA](#), pertencente ao PLANO DE SEGURANÇA – PLANO DE PREVENÇÃO de CIÊNCIAS ULisboa.

- Todos os procedimentos técnicos devem ser realizados de forma a minimizar a formação de aerossóis e gotículas, nomeadamente através da manipulação cuidadosa e sem movimentos bruscos. De forma a conter a zona com aerossóis deve trabalhar-se em bancadas de limpeza fácil e que contenham apenas o material estritamente necessário ao trabalho.
 - Pipetagem com a boca está proibida nos laboratórios.
 - A utilização de agulhas e seringas hipodérmicas deve ser limitada. Não devem ser utilizadas como substitutas dos dispositivos de pipetagem nem para qualquer outro fim que não a injeção parentérica ou a aspiração de fluidos de animais de laboratório.
 - Todos os derrames, acidentes e exposições evidentes ou potenciais a materiais infecciosos devem ser comunicados ao supervisor do laboratório. Deve ser mantido um registo escrito desses acidentes e **incidentes**, conforme descrito no [PIEB](#).
 - Os documentos escritos que se espera venham a ser retirados do laboratório têm de ser protegidos de contaminação enquanto estiverem no laboratório.
 - Deve-se ter especial atenção na utilização de equipamentos e objetos afiados contaminados, como agulhas, que não devem ser colocados nos resíduos normais, mas sim em recipientes adequados.
 - Em qualquer momento é necessário garantir a limpeza e desinfeção, pelo que todos os laboratórios/instalações devem ter permanentemente disponíveis materiais e agentes de limpeza adequados (lista disponível em anexo, Anexo VI – Lista de agentes desinfetantes e tempos de contacto). Em caso de ausência de procedimentos específicos deve ser seguido a [INSTRUÇÃO OPERACIONAL – USO CONFINADO DE MGM/OGM, IO-7: PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA](#).
 - Deve ser assegurada a destruição/inativação dos resíduos contaminados com agentes biológicos de acordo com as medidas definidas abaixo.
- d) Equipamento de laboratório – Juntamente com bons procedimentos e práticas, a utilização de equipamentos de segurança ajudará a reduzir os riscos quando se trata de perigos de biossegurança. O equipamento deve ser selecionado de modo a ter em conta certos princípios gerais, ou seja, deve ser:
- Concebido para evitar ou limitar o contacto entre o operador e o material infeccioso.
 - Construído com materiais impermeáveis a líquidos, resistentes à corrosão e que satisfazem os requisitos estruturais.
 - Fabricado de modo a não conter arestas afiadas e partes móveis não vigiadas.
 - Concebido, construído e instalado para facilitar a operação simples e facilitar a manutenção, limpeza, descontaminação e testes de certificação; objetos de vidro e outros materiais quebráveis devem ser evitados, sempre que possível.
- e) Formação – todos os utilizadores de laboratórios Classe 1 e Classe 2 devem ter formação em procedimentos específicos e medidas de segurança. Os utilizadores devem ser informados do código de conduta e das diretrizes locais, incluindo o Manual de Segurança Biológica de CIÊNCIAS ULisboa e outros manuais/documentos específicos de cada laboratório. Devem ser adotadas medidas para garantir que os utilizadores leram e compreenderam as diretrizes, incluindo a [realização da avaliação de uso confinado de OGM/MGM adequada \(classificação mínima de 75%\)](#), bem como a existência de um registo de utilizadores com assinatura. No documento de registo

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---



deve constar o nome do utilizador, a sua categoria, data, conteúdos e assinatura e informação sobre a avaliação de uso confinado de OGM/MGM adequada (exemplo de registo disponível em anexo, Anexo VII – Registo de formação). A formação do pessoal deve incluir sempre informações sobre métodos seguros para procedimentos aplicáveis ao laboratório/instalação em causa e que envolvem:

- Riscos de inalação (ou seja, produção de aerossóis) ao utilizar ansas metálicas para inocular placas de agar, pipetar, fazer esfregaços, abrir culturas, recolher amostras de sangue/soro, centrifugar, etc.
- Riscos de ingestão ao manusear amostras, esfregaços e culturas.
- Riscos de exposições percutâneas ao utilizar seringas e agulhas.
- Mordeduras e arranhões ao manusear animais.
- Manuseamento de sangue e outros materiais patológicos potencialmente perigosos.
- Descontaminação e eliminação de material infeccioso.

- f) Registo – todos os laboratórios Classe 1 e Classe 2 devem dispor de uma folha de registo de utilização, com informação relativamente aos utilizadores data da utilização, linhas celulares, meios de cultura e, se aplicável, outros reagentes a serem utilizados (ex. Anexo VIII – Registo de utilização). Deverão dispor igualmente de um registo de limpeza (ex. Anexo IX – Registo de Limpeza) onde deverá constar a data, o equipamento em causa e o utilizador. Devem ser arquivados os relatórios de ensaio/certificação de equipamentos sujeitos a manutenções periódicas. Nestes casos, deve estar disponível no próprio equipamento inscrição da data do ensaio/certificação, alternativamente, deverá ser mantido um registo de manutenção (ex. Anexo X – Registo de Manutenção), onde deverá constar a data, o equipamento e o número de série. Os registos podem ser realizados igualmente em suporte digital nomeadamente por intermédio de plataformas de gestão/utilização de equipamentos desde que possam ser consultadas as mesmas evidências.

5.2. Gestão de resíduos

É considerado resíduo tudo o que deve ser descartado. Nos laboratórios, a descontaminação dos resíduos e a sua eliminação final estão interligadas. A maior parte dos objetos de vidro, instrumentos e vestuário de laboratório são reutilizados ou reciclados. O princípio fundamental é que todos os materiais infecciosos devem ser descontaminados ou autoclavados no laboratório, ou encaminhados para tratamento por operador licenciado na gestão de resíduos perigosos, conforme procedimentos definidos pelo G3S para gestão de resíduos perigosos produzidos em laboratórios de CIÊNCIAS.

Procedimentos para descartar os resíduos perigosos:

- a) Descontaminação - A autoclavagem a vapor é o método preferido para todos os processos de descontaminação. Os materiais para descontaminação e eliminação devem ser colocados em contentores, e/ou sacos de plástico autoclaváveis.
- b) Procedimentos de manuseamento e eliminação de materiais e resíduos contaminados - Deve ser adotado um sistema de identificação e separação de materiais infecciosos e seus recipientes. As categorias devem incluir:
- Resíduos não contaminados (não infecciosos) que podem ser reutilizados ou reciclados ou eliminados como resíduos "domésticos ou indiferenciados". Recipiente com saco preto.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---



- "Cortantes" contaminados (infeciosos) – agulhas hipodérmicas, bisturis e lamelas; estes devem ser sempre recolhidos em recipientes à prova de furos, equipados com tampas e tratados como infecciosos – recipiente corto-perfurante (fornecido por operador licenciado).
 - Material contaminado para descontaminação por autoclave e, posteriormente, lavagem, reutilização ou reciclagem.
- c) Material cortante – após a utilização, as agulhas hipodérmicas não devem ser cortadas ou removidas, ou a tampa ser colocada nas seringas descartáveis. O conjunto completo deve ser colocado num recipiente para eliminação de material cortante. As seringas descartáveis, utilizadas isoladamente ou com agulhas, devem ser colocadas em contentores para objetos cortantes e incineradas. Os recipientes para eliminação de material cortante devem ser à prova de furos/resistentes a furos e não devem ser cheios até ao total da sua capacidade. Quando estiverem preenchidos até três quartos da respetiva capacidade, devem ser colocados nos contentores de Grupo IV.
- d) Materiais contaminados (potencialmente infecciosos) para autoclavagem e reutilização – Não deve haver qualquer pré-lavagem de quaisquer materiais contaminados (potencialmente infecciosos). Qualquer limpeza ou reparação necessária deve ser feita apenas após a autoclavagem ou desinfecção.
- e) Eliminação de resíduos – todos os resíduos líquidos ou sólidos (de Grupo III e Grupo IV) devem ser colocados em contentores apropriados para entrega programada a operador licenciado. Em caso de dúvida, os resíduos devem ser descartados em contentores do Grupo IV.
- Material contaminado para autoclavagem e eliminação (todo o material em contacto com resíduos biológicos, ex. luvas, meios, frascos/placas, pipetas serológicas descartáveis, pontas) - contentor identificado como Grupo III com saco branco, fornecido por operador licenciado.
 - Material contaminado para incineração direta (todo o material em contacto com resíduos químicos perigosos, ex. luvas, meios, frascos/placas, pipetas serológicas descartáveis, pontas) - contentor identificado como Grupo IV, com saco vermelho, fornecido por operador licenciado.

5.3. Requisitos e procedimentos de biossegurança específicos para agentes de Classe 2

Qualquer laboratório que realize trabalho com agentes de Classe 2 deve ter procedimentos operacionais padrão (ou em inglês SOP, *standard operation procedures*):

- a) Contenção Física – Em geral, todo o trabalho com agentes de Classe 2 (ex. vetores lentivirais) deve ser realizado num **laboratório BSL2**. Isto inclui, mas não se limita a uma sala adequada para cultura de células e uma porta de acesso restrito, e equipada com uma Câmara de Fluxo Laminar (CFL)/Câmara de Segurança Biológica (CSB) de Classe 2 e, sempre que possível, uma incubadora dedicada à cultura de células e tecidos de Classe 2 ou uma prateleira designada. O sistema de vácuo para aspiração de resíduos biológicos deve ser utilizado, sendo que o contentor deverá conter solução desinfetante (por exemplo, lixívia a 10% v/v), para inativação dos resíduos.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



No caso do trabalho ser com **vírus BSL2/BSL2+** (ex. lentivírus ou adenovírus), para além da sinalética de perigo biológico, um sinal de aviso adicional deve ser afixado na porta alertando os utilizadores da presença de agentes de Classe 2. **O sistema de vácuo não pode ser utilizado** para aspiração. Se for necessária a concentração de meio ou soluções contendo agentes de Classe 2 através da utilização de uma centrífuga, os rotores devem estar equipados com características adequadas (por exemplo, *o-rings* de vedação) para minimizar o risco de produção de aerossóis. Os suportes de centrifugação de baixa velocidade em rotor basculante devem estar equipados com tampas de segurança estanques aos aerossóis. As microcentrífugas devem ter rotores estanques aos aerossóis que possam ser removidos e transportados diretamente para a CFL/CSB.

- b) Equipamentos de Proteção Individual (EPI) - Os seguintes EPI devem ser usados ao trabalhar com agentes de Classe 2: **luvas de nitrilo, bata**. Uma máscara cirúrgica e proteção ocular (óculos) é opcional, mas recomendada sempre que houver risco de produção de aerossóis fora da CFL/CSB. No caso de trabalhos com **vírus BSL2/BSL2+** (ex. lentivírus ou adenovírus), **devem ser usadas luvas duplas de nitrilo**, com especial atenção para garantir que a pele dos pulsos está coberta. Alternativamente, podem ser utilizadas luvas com pulsos mais longos do que o padrão e os punhos das mangas devem ser presos na bata de laboratório. As luvas potencialmente contaminadas devem ser removidas e substituídas por luvas novas antes de tocar em qualquer objeto ou equipamento fora da CFL/CSB, como o frigorífico, a centrífuga ou a incubadora.
- c) Kit para contenção de derrame – O laboratório deve dispor de um kit para a contenção de derrame ou dos seus componentes facilmente acessíveis em caso de derrame. Isto inclui: cartão de instruções; luvas, máscaras, óculos de proteção; bata descartáveis, toalhas de papel para absorver líquidos contaminados; desinfetante (por exemplo, lixívia a 10% v/v); pinças para recolher vidros partidos; sacos coletores de risco biológico (ver procedimentos detalhados no [PIEB](#)).
- d) Manuseamento e eliminação de resíduos:
- **Resíduos Sólidos:** Os resíduos sólidos de risco biológico são recolhidos para um saco branco em contentor do Grupo III de 60 L ou 30 L. Baldes ou outros recipientes de bancada, forrados com sacos de cor branca podem ser utilizados desde que posteriormente sejam colocados no contentor do grupo III depois de fechados. Os sacos são fechados com braçadeiras plásticas antes de serem colocados nos contentores que serão posteriormente encaminhados para recolha por via de operador certificado de acordo com o circuito de eliminação de resíduos em CIÊNCIAS.
Tudo o que entra em contato com soluções ou recipientes **contendo vírus BSL2/BSL2+** deve ser descontaminado e contido antes de sair da CFL/CSB. Os resíduos sólidos devem ser recolhidos num saco autoclavável de risco biológico dentro da CFL/CSB. Nestes casos, só podem ser utilizadas pontas de pipeta com filtro. As pontas devem ser eliminadas num recipiente descartável contendo lixívia 10% v/v. As pipetas descartáveis devem ser enxaguadas com lixívia 10% v/v antes de serem eliminadas dentro do saco autoclavável. No final, o saco autoclavável de risco biológico deve ser fechado, pulverizado com etanol 70% v/v e depositado em contentor de resíduos do Grupo III.
 - **Resíduos líquidos:** Como regra geral, todos os resíduos líquidos devem ser descartados num recipiente contendo lixívia 10% v/v e posteriormente colocados para entrega programada por operador licenciado com contrato com CIÊNCIAS ULisboa. Por forma a minimizar

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



transferências de resíduos líquidos ou em caso de se tratar de resíduos líquidos **contendo vírus BSL2/BSL2+**, estes devem ser descartados num recipiente descartável contendo lixívia 10% v/v, contidos num saco autoclavável e posteriormente colocados no contentor do Grupo III para entrega programada por operador licenciado com contrato com CIÊNCIAS ULisboa.

- **Filtros HEPA:** A substituição periódica de filtros HEPA instalados em CFL/CSB exige a sua posterior eliminação. Para esse efeito, os responsáveis de instalações/laboratórios deverão contactar o G3S para recolha e encaminhamento de filtros HEPA para eliminação por via de operador certificado. Os filtros HEPA de incubadoras de CO₂ poderão ser eliminados via colocação em contentor do Grupo III.



6. INSTALAÇÕES LABORATORIAIS PARA ANIMAIS

As instalações para animais (Biotério), tal como os laboratórios, podem ser classificadas de Nível 1, 2, 3 e 4 de segurança biológica de instalações para animais (NSBIA), segundo a avaliação do risco e o grupo de risco dos microrganismos a serem investigados.

Tabela 2. Níveis de confinamento das instalações para animais: resumo das práticas e equipamento de segurança (Adaptado de Manual de segurança biológica em laboratório, 3ªED, Organização Mundial de Saúde, 2004)

NÍVEL DE CONFINAMENTO	PRÁTICAS LABORATORIAIS E EQUIPAMENTOS DE SEGURANÇA
NSBIA - 1	Acesso limitado, roupa de proteção e luvas
NSBIA - 2	<u>Práticas de NSBIA – 1 mais:</u> sinais de alerta para perigos. CFL/CSB – Classe 1 e 2 para actividades que produzem aerossóis. Descontaminação de resíduos e alojamentos antes de lavar.
NSBIA - 3	<u>Práticas de NSBIA – 2 mais:</u> acesso controlado. CFL/CSB e roupa de proteção especial para todas as atividades
NSBIA - 4	<u>Práticas de NSBIA – 3 mais:</u> acesso estritamente limitado. Mudar de roupa antes de entrar. CFL/CSB – Classe 3 ou fatos de pressão positiva. Duche à saída. Descontaminação de todos os resíduos antes da sua remoção da instalação.

6.1. Instalação para animais – Nível 1 de segurança biológica

Este nível é adequado para a manutenção da maior parte dos animais após quarentena (exceto primatas não humanos, sobre os quais se deve consultar as autoridades nacionais) e para os animais que foram deliberadamente inoculados com agentes do Grupo de Risco 1. São necessárias boas técnicas de microbiologia. O responsável pela gestão do Biotério tem de estabelecer políticas, procedimentos e protocolos para todas as operações e para o acesso ao mesmo. Deve ser estabelecido um programa de vigilância médica apropriada para o pessoal. O número de entradas no Biotério deve ser reduzido ao estritamente necessário não só para proteção dos animais, mas também para evitar desperdiçar material de proteção individual.

Em CIÊNCIAS ULisboa o trabalho realizado enquadra-se exclusivamente no Nível 1, o que pressupõe que as instalações sejam de acesso limitado, e que se utilize equipamento de proteção individual (EPI): máscaras, batas, luvas, touca e protetores de pés.

As instalações para animais em CIÊNCIAS ULisboa (Biotério), localizadas no edifício C2, piso 1, ala nascente, contemplam a manutenção de animais de laboratório (ratinhos e peixes) e de animais selvagens como peixes, anfíbios, répteis e pequenos mamíferos. A experimentação animal desenvolvida no Biotério- CIÊNCIAS ULisboa rege-se pela Lei Portuguesa através do Decreto-Lei nº 113/2013 de 7 de agosto de 2013 ajustado pelo Decreto-Lei nº 1/2019 de 10 de janeiro de 2019, e pela Diretiva Comunitária 2010/63/EU de 22 de setembro de 2010. Todos os utilizadores autorizados do Biotério- CIÊNCIAS ULisboa devem respeitar a legislação vigente bem como as normas internas de funcionamento (consultar as *Normas de Funcionamento do Biotério, edição Janeiro 2023*). O Biotério tem uma direção científica, uma gestão executiva e um médico veterinário designado, operando em coordenação com o Órgão Responsável pelo Bem-Estar dos Animais (ORBEA).

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---



6.2. Acesso ao Biotério

O acesso ao Biotério está restrito a utilizadores autorizados e a visitantes previamente autorizados. A autorização de utilização deve ser requerida ao responsável pela gestão do Biotério mediante o preenchimento da ficha de registo de utilizador. A autorização de visita deve também ser requerida ao responsável pela gestão do Biotério, preferencialmente com 24 horas de antecedência, mediante o preenchimento da ficha de visitante. A entrada no Biotério é facultada mediante a entrega de uma chave eletrónica da porta principal. No final do período de utilização é obrigatória a entrega da chave ao responsável pela gestão do Biotério.

Todos os utilizadores do Biotério têm de ser detentores de creditação para utilização de animais para fins científicos autorizada pela Direção-Geral da Alimentação e Veterinária (DGAV).

6.3. Regras Gerais de Funcionamento

- a) É obrigatória a utilização de EPI em todas as salas do Biotério. Algumas salas dispõem de regras específicas para a utilização de equipamento de proteção individual. Nesses casos devem ser seguidas as regras de cada uma das salas.
- b) Não são permitidas visitas não autorizadas.
- c) Não é permitido comer ou beber no interior das instalações do Biotério.
- d) Não é permitido ouvir música sem auscultadores.
- e) A utilização de telemóveis só é permitida em modo “silêncio”.
- f) A arrumação e desinfeção de todo o material e equipamentos existentes no Biotério é da responsabilidade dos utilizadores.
- g) Os equipamentos de proteção individual (batas) e acessórios de limpeza (toalhas, panos) devem ser lavados na sala de lavagens do piso 3 do edifício C2, mediante requisição junto dos serviços de apoio aos laboratórios.
- h) Os serviços de limpeza de CIÊNCIAS ULisboa podem ser requeridos pelos utilizadores desde que seja dado conhecimento ao responsável pela gestão do Biotério.
- i) A eliminação de resíduos apenas deve ser feita nos contentores disponibilizados no interior de cada uma das salas.
- j) A utilização de contentores de resíduos perigosos (por exemplo no necrotério) tem de ser requerida com antecedência ao responsável pela gestão do Biotério.

6.4. Organização e Fluxo no Biotério

O Biotério está dividido em salas de utilização comum e salas dedicadas a diferentes organismos (Figura 1). As salas de utilização comum incluem uma casa de banho, um necrotério, uma sala de lavagens (constituída por uma cuba de lavagem, máquina de lavar material, estufa de secagem e um autoclave), um armazém com área de armazenamento de frio (arcas e frigoríficos) e duas salas de quarentena. As salas dedicadas à manutenção de animais incluem salas de animais de laboratório (ratinhos e peixes) e salas de animais selvagens (pequenos mamíferos, anfíbios, peixes de água doce e peixes marinhos).

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

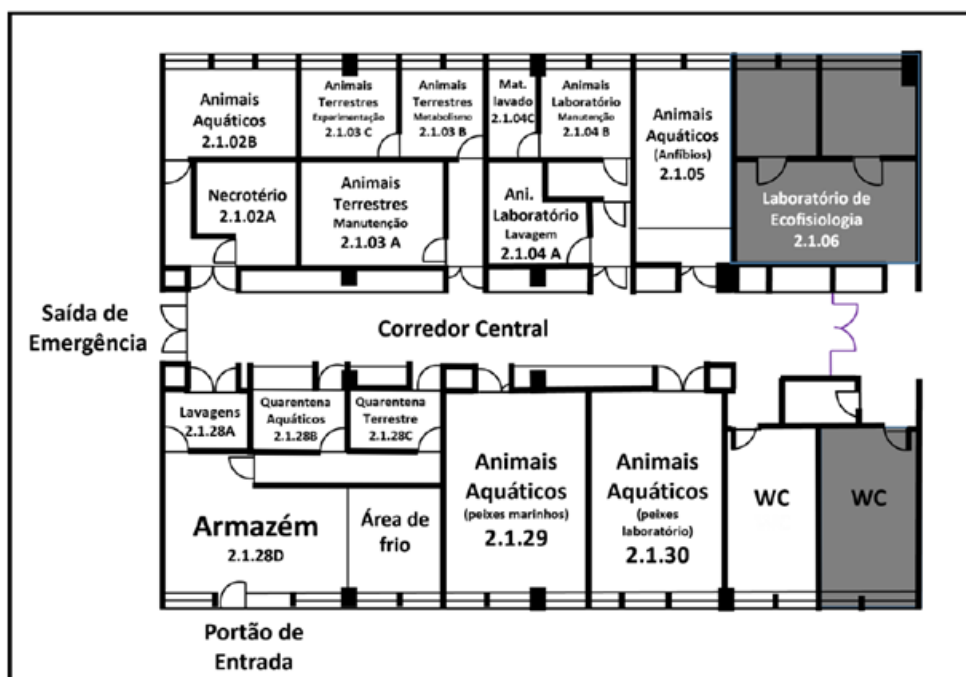


Figura 1 - Esquema representativo da planta do Biotério.

Os animais de laboratório adquiridos a instituições devidamente licenciadas para a sua criação e comercialização (por exemplo The Jackson Laboratories) são transportados para o Biotério por operadores licenciados para o transporte de animais em ambiente controlado. Estes devem ficar de quarentena por um período de 5 a 10 dias, durante o qual não poderão ser incluídos em nenhum procedimento. Neste caso, os animais devem dar entrada no Biotério pela saída de emergência, sendo transportados diretamente para a respetiva sala. Todos os animais devem permanecer nestas salas até serem sacrificados ou devolvidos à natureza (no caso de serem animais selvagens). As necropsias devem ser efetuadas no necrotério e as carcaças devem ser guardadas em arca congeladora para serem posteriormente eliminadas em contentor para incineração.

6.5. Procedimentos específicos para animais - Sala 2.1.04

A sala 2.1.04 destina-se a procedimentos específicos com pequenos mamíferos, em particular ratinhos (*Mus musculus*).

a) Características da Instalação:

Esta instalação tem cinco áreas distintas: 1) antecâmara com ligação direta ao exterior, 2) sala de lavagens, 3) sala de armazenamento de comida e material lavado, 4) sala com os animais e 5) sala com material simultaneamente lavado e autoclavado (Figura 2). Dentro das salas poderão existir objetos de apoio nomeadamente bancadas de apoio, lavatório, ar condicionado, armários ventilados, secretária, estantes e armários.

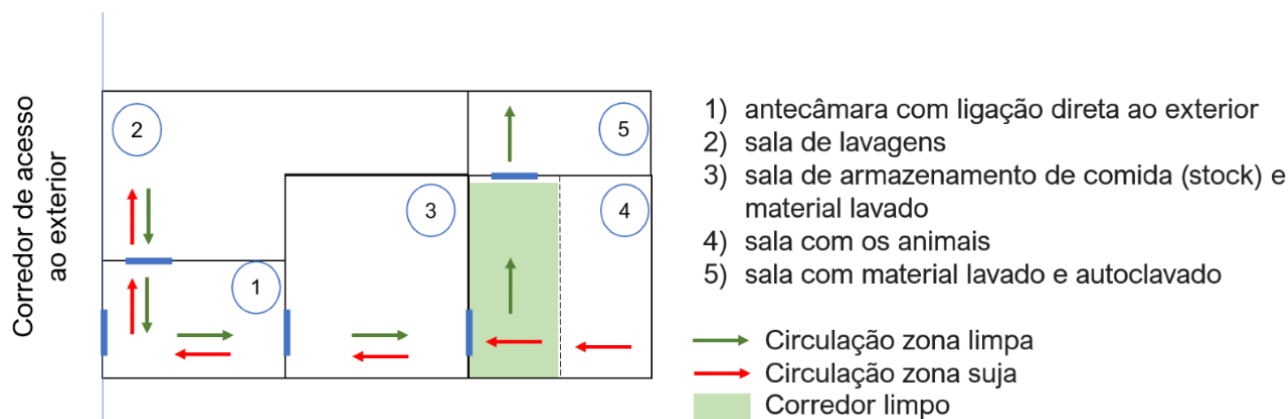


Figura 2 - Esquema representativo da organização e fluxo da sala 2.1.04


b) Procedimentos:

Antes de entrar

- Colocar equipamento de proteção individual: bata (lavada e autoclavada), proteção de pés, touca, máscara e luvas.
- Desinfetar as mãos e todo o material que entra no Biotério com etanol 70% v/v.

Na sala

- Desinfetar bancadas de trabalho com spray multiusos desinfetante, seguido de etanol 70% v/v antes e depois de cada utilização.
- Fazer o registo de toda a informação sobre os ratinhos no livro de registo de animais: número de caixas, datas de nascimento (DOB, *data of birth*), número de animais que foram usados e procedimentos realizados.
- O número de animais por caixa deve respeitar as diretrizes presentes no Anexo V do Decreto-Lei nº 113/2013 de 7 de agosto de 2013.
- Todas as caixas devem ser numeradas e estar bem identificadas, usando para isso cartões de identificação preenchendo todos os campos com as informações referentes aos animais, de acordo com o exemplo abaixo (Figura 3).

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	Data: dezembro 24
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	Página 26 de 84

STOCK CARD

LAB (sigla ou PI)	USER (nome)	CAGE (Nº.)
STRAIN (Qual a estripe)		
#M (Nº.)	#F (Nº.)	D.O.B. (data de nascimento)
ETHICS PROTOCOL NO: (identificar com o nº. da DGAV)		

NOTES:

(detalhes sobre o genótipo dos ratinhos;
se tiverem vários DOBs
especificar neste espaço)

Figura 3 - Exemplo de cartões de identificação para animais de laboratório, estando divididos em cartões de cruzamentos (registo de cruzamentos efetuados), stock (animais armazenados) e experimentais (animais utilizados numa experiência em curso).

c) Circulação na Instalação:

Uma vez que existe uma única porta para entrada e saída e não é possível a criação de um corredor limpo e um sujo, a circulação no Biotério deve cumprir alguns critérios (de acordo com o ilustrado na Figura 2):

- A circulação de material limpo e sujo não deve ocorrer em simultâneo.
- A entrada na sala de material autoclavado (5) deve ser feita pelo corredor delimitado no chão (corredor limpo).
- No dia em que é feita a mudança das caixas, as caixas limpas devem ser colocadas na sala dos animais (4) antes de se iniciar a mudança. O mesmo se aplica à comida e água.
- Depois da permanência na sala dos animais (4), a reentrada na sala de material autoclavado (5) deve ser evitada. No caso de ser necessário, fazer a desinfeção de luvas e protetores de pés.

d) Limpeza da Instalação e regras de higiene

- O material de proteção individual é de utilização única - descartar luvas, proteções de pés, touca e máscara. Depositar bata no contentor apropriado para ser lavada e autoclavada.
- A bancada de trabalho deve ser limpa após cada utilização, sendo o procedimento o procedimento primeiro a limpeza com spray multiusos desinfetante garantindo a remoção do possível material biológico, seguido de etanol 70% v/v para assegurar desinfeção.
- A limpeza da instalação (bancadas e chão) deve ser feita uma vez por semana. Para bancadas, estantes de ratinhos e armários utilizar o procedimento com spray multiusos desinfetante, seguido de etanol 70% v/v. No chão, varrer (caso seja necessário) e lavar com água e Virkon® (Desinfetante com atividade bactericida, fungicida e virucida).

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



- A lavagem das batas deve ser feita uma vez por semana depois do procedimento de limpeza. As batas são levadas para a sala de lavagem do 3º piso, onde são lavadas e secas e depois autoclavadas dentro de saco próprio. Após a esterilização em autoclave, o saco fechado é transportado para o Biotério. Depois de desinfetar o exterior do saco com etanol 70% v/v, este é aberto no Biotério e as batas ficam a secar numa caixa apropriada.
- A lavagem do material (caixas, grades e biberões) deve ser feita uma vez por semana quando as caixas são trocadas. O carolo deve ser colocado diretamente no lixo, e a água despejada. A comida pode ser reaproveitada, mas deve ser controlada a sua reutilização. O material deve ser lavado na máquina de lavar e depois colocado em sacos e levado para autoclavar. Após autoclavagem, o saco deve ser fechado e transportado para a sala com material lavado e autoclavado (Figura 2, sala 5). Se o material estiver húmido colocar dentro dos armários abertos ou na mesa que se encontra na sala de material autoclavado, mas apenas temporariamente. No caso das caixas de maiores dimensões, que não cabem na autoclave, após a sua lavagem, deverão ser desinfetadas com etanol 70% v/v.
- Todo o lixo produzido deve ser recolhido uma vez por semana, depois de se efetuar a troca das caixas. O caixote do lixo só pode circular entre a sala de lavagem e a antecâmara que dá acesso ao exterior. A circulação do lixo não é permitida nas 3 outras salas (sala de stock de comidas, sala dos animais e sala de material autoclavado).

e) Preparação de material

- Autoclavar água da torneira para as garrafas dos animais em garrafas de 2L.
- As sacas de comida e carolo devem estar na sala própria em cima das prateleiras e nunca em contato direto com o chão e devem ser sempre autoclavadas dentro de sacos de autoclave antes da sua utilização.
- Autoclavar material de enriquecimento ambiental (algodão, rolos de papel, ...).
- O material autoclavado deve apenas ser manuseado na sala de material autoclavado.

f) Occisão dos animais

Os animais deverão ser occisados por deslocamento cervical após anestesia com isoflurano. A occisão deverá ser feita no necrotério, no exterior da sala dos ratinhos de laboratório. Os animais podem ser transportados em sacos de plástico do Biotério para o necrotério. Os cadáveres devem ser congelados e posteriormente colocados em contentor de Grupo IV apenas no dia de recolha de resíduos para eliminação imediata por inceneração.

6.6. Procedimentos específicos para animais - Sala 2.1.30

A sala 2.1.30 destina-se a procedimentos específicos realizados em organismos aquáticos modelo como o peixe-zebra (*Danio rerio*) e a *Danionella cerebrum*.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



a) Características da Instalação:

Os peixes-zebra devem ser instalados na sala dedicada a organismos aquáticos modelo (peixe-zebra *Danio rerio* e, ocasionalmente, *Danionella cerebrum*). A sala está por isso dividida em duas secções, sendo que os peixes-zebra devem ser alojados na parte direita (nascente) da sala e *Danionella cerebrum* na parte esquerda (poente). Os peixes-zebra devem ser alojados em racks Tecniplast (Zeb Tec ZB2550SASXAB1) dedicadas exclusivamente à espécie. Estas racks permitem instalar até 30 tanques de 3,5 L ou 15 tanques de 8 L. Este sistema permite monitorizar constantemente os níveis de salinidade, condutividade, pH e temperatura da água. Semanalmente, ou sempre que justificado, os parâmetros de amónia, nitritos e nitratos devem ser avaliados manualmente. *Danionella cerebrum* deve ser alojada nas duas racks metálicas, cada uma delas composta por duas prateleiras onde podem ser instalados até 8 tanques de 20 L. *Danionella cerebrum* deve ser mantida em tanques individuais, cada um deles equipado com sistema de filtração e regulação de temperatura da água próprio. Todos os parâmetros físico-químicos acima referidos para os peixe-zebra devem também ser verificados manualmente para as *Danionella cerebrum* pelo menos uma vez por semana. A sala está equipada com bancadas de apoio dedicadas a cada uma das espécies e com um lavatório. Existem também dois sistemas dedicados de tratamento de água. A água utilizada nos peixes-zebra é obrigatoriamente fornecida por um equipamento de osmose reversa enquanto a água a utilizar nos tanques das *Danionella cerebrum* é filtrada através de um equipamento de raios ultra-violeta. A sala está também equipada com uma ventax para circulação de ar e com um aparelho de ar condicionado.

b) Procedimentos:

Antes de entrar:

- Colocar equipamento de proteção individual: bata (lavada e autoclavada), proteção de pés, touca, máscara e luvas.
- Desinfetar as mãos e todo o material que entra na sala com etanol 70% v/v.

Na sala:

- Garantir que a porta da sala está fechada antes de iniciar qualquer tipo de procedimento que envolva a manipulação de animais.
- Desinfetar bancadas de trabalho com spray multiusos desinfetante, seguido de etanol 70% v/v antes e depois de cada utilização.
- Fazer o registo de toda a informação sobre os peixes no livro de registo de animais: número de tanques, datas de nascimento (se aplicável), número de animais que foram usados e procedimentos realizados.
- O número de animais por tanque deve respeitar as diretrizes presentes no Anexo V do Decreto-Lei nº 113/2013 de 7 de agosto de 2013.
- Todos os tanques devem estar numerados e bem identificados, com a seguinte informação: Identificação da estirpe ou da linha mutante, data de cruzamento ou da transferência, número de animais.

c) Circulação:

Uma vez que apenas existe uma porta de acesso não é possível a criação de um corredor limpo e um sujo. Assim, a circulação na sala cumpre os seguintes critérios:

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



- A circulação de material limpo e sujo não deve ocorrer em simultâneo.
- A entrada na sala de material lavado deve ser feita pelo corredor delimitado no chão.
- No dia em que é feita a limpeza dos tanques, as caixas limpas devem ser colocadas na sala dos animais antes de se iniciar a mudança.

d) Limpeza da Instalação e regras de higiene:


- O material de proteção individual é de utilização única - descartar luvas, proteções de pés, touca e máscara. Depositar bata no contentor apropriado para ser lavada e autoclavada.
- A limpeza da instalação (bancadas e chão) deve ser feita uma vez por semana. Para bancadas, racks de peixes e armários utilizar o procedimento com spray multiusos desinfetante, seguido de etanol 70% v/v. No chão varrer (caso seja necessário) e lavar com água e Virkon® (Desinfetante com atividade bactericida, fungicida e virucida).
- A lavagem das batas deve ser feita uma vez por semana depois do procedimento de limpeza. As batas são colocadas em saco fechado, são levadas para a sala de lavagem do 3º piso, onde são lavadas e secas e depois são autoclavadas dentro de saco próprio. Após a esterilização em autoclave, o saco fechado é transportado para o Biotério. Depois de desinfetar o exterior do saco com etanol 70% v/v, este é aberto na sala e as batas ficam a secar e depois são colocadas numa caixa apropriada.
- A lavagem do material (tanques e filtros) deve ser feita uma vez por semana quando os tanques são trocados. O material deve ser lavado na máquina de lavar dedicada exclusivamente ao material utilizado com os peixes-zebra.
- Todo o lixo produzido deve ser recolhido uma vez por semana, depois de se efetuar a troca dos tanques.
- As carcaças de peixes encontrados mortos ou de peixes occisados devem ser descartados em contentores próprios.
- Peixes resultantes de cruzamentos que envolvam linhagens mutantes devem ser sempre ser considerados mutantes e por isso manipulados e descartados adequadamente.

e) Prevenção da libertação de animais

De forma a prevenir a libertação indevida de animais é essencial garantir que:

- Os peixes-zebra geneticamente modificados são apenas mantidos no equipamento específico para a espécie pois o mesmo está devidamente preparado para prevenir a libertação indevida de animais.
- Os tanques são mantidos com água próximo da sua capacidade máxima o que previne as posturas de ovos pois os peixes-zebra apenas desovam em água rasa.
- Os filtros usados possuem malha fina que impede a circulação de ovos, larvas e adultos entre tanques.
- A integridade dos filtros é verificada aquando da alimentação dos peixes.
- As racks possuem barreiras físicas adicionais (grades/telas), para evitar que os peixes possam nadar para fora dos tanques durante a troca de água ou manutenção dos filtros.
- Os tanques possuem tampas que são mantidas bem ajustadas e fechadas para evitar que os peixes possam saltar entre tanques.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	<i>Data: dezembro 24</i>
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	<i>Página 30 de 84</i>

- O fluxo de água é controlado para prevenir uma corrente excessiva que leve a que os peixes sejam transportados de forma passiva.

f) Occisão dos animais

Os peixes adultos deverão ser occisados por imersão numa solução tamponada (pH 7.0 – 7.4) de Tricaína MS-222 (250 mg/L) durante pelo menos 30 minutos até existir perda de movimentos operculares. A occisão de larvas entre os 5 e os 14 dias requer pelo menos mais 20 minutos de exposição à Tricaína MS-222, com verificação de inexistência de movimentos operculares. Embriões até 7 dias devem ser occisados através da imersão em hipoclorito de sódio (lixívia a 6.15%). A occisão deverá ser feita na própria sala de manutenção dos animais num tanque individualizado. Os cadáveres devem ser congelados e posteriormente colocados em contentor de Grupo IV apenas no dia de recolha de resíduos para eliminação imediata por inceneração.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



7. INSTALAÇÕES LABORATORIAIS PARA PLANTAS

Numa infraestrutura com a adequada implementação de medidas de confinamento, a probabilidade de libertação accidental de material vegetal geneticamente modificado é muito baixa. Contudo, e apesar de estarem devidamente documentadas as regras gerais e boas práticas para prevenção de riscos e segurança nos laboratórios de CIÊNCIAS ULisboa, as recomendações que se seguem, baseadas nas indicações das autoridades oficiais de Saúde e Ambiente, foram compiladas de modo a apoiar o trabalho dos docentes e investigadores na manipulação de plantas geneticamente modificadas. Deverá também ser consultado Quadro I-B do anexo IV do Decreto-Lei nº 55/2015 de 17 de abril.

Tabela 3 Medidas de confinamento e outras medidas de proteção aplicáveis a estufas e recintos de crescimento.

Especificações	Níveis de Confinamento	
	1	2
Os termos “estufa” e “recinto de crescimento” referem-se a estruturas com paredes, teto e pavimento, concebidas e utilizadas sobretudo para o crescimento de plantas num ambiente controlado e protegido. Aplicam-se todas as disposições do Quadro I-A do Decreto-Lei nº 55/2015 de 17 de abril, neste manual transposto e apresentado na tabela 1, com os seguintes aditamentos ou alterações:		
Edifício		
Estufa: estrutura permanente A estufa deve consistir numa estrutura com uma cobertura impermeável contínua, localizada num sítio com uma inclinação tal que permita evitar os escoamentos de águas superficiais e dispor de portas com fecho automático	Não	Sim
Equipamento		
Acesso através de um compartimento separado com duas portas com mecanismo de engate	Não	Opcional
Controlo de água de escoamento contaminada	Opcional	Reduzir ao mínimo o escoamento (se for possível a transmissão através do solo)
Sistema de trabalho		
Medidas de controlo de espécies indesejáveis como insetos, roedores e artrópodes	Sim	Sim
Os procedimentos de transferência de material vivo entre a estufa/recinto de crescimento, a estrutura de proteção e o laboratório devem controlar a disseminação de MGM e ou OGM	Reduzir ao mínimo a disseminação	Reduzir ao mínimo a disseminação

Em CIÊNCIAS ULisboa o trabalho realizado envolvendo plantas geneticamente modificadas enquadra-se exclusivamente no Nível 1 de segurança biológica. A manipulação dos MGMs, dadores ou vetores, utilizados na manipulação genética das amostras vegetais, também enquadrados no Nível 1 de segurança biológica, deverá seguir as boas práticas microbiológicas descritas no Capítulo 8 deste manual (8. *Boas Práticas Microbiológicas*) deste manual.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---



7.1. Instalações para plantas – Nível 1 de segurança biológica

As instalações utilizadas para manipulação de plantas geneticamente modificadas incluem:

1. Laboratórios com bancadas de fluxo laminar para manipulação em condições de assepsia, localizados no edifício C2, piso 1 e piso 4.
2. Câmaras de crescimento, incluindo fitoclimas e equipamentos *walk-in*, para crescimento de plantas geneticamente modificadas em vaso em condições controladas de luz, temperatura e/ou humidade, localizadas no edifício C2, piso 1.
3. Sala de cultura para crescimento *in vitro* de plantas geneticamente modificadas GM *in vitro* localizada no edifício C2, piso 1.

7.2. Acesso às instalações

O acesso às instalações localizadas no edifício C2 (laboratórios, fitoclimas, *walk-in*, sala de cultura) onde são manipuladas plantas geneticamente modificadas é restrito às pessoas envolvidas no trabalho a decorrer, devidamente autorizadas pelo responsável da investigação, e a visitantes previamente autorizados. A entrada nas instalações está devidamente assinalada com “acesso restrito”, “manter as portas fechadas”, “contacto da pessoa responsável” e sinalética de classe de risco.

7.3. Atividades nas instalações

Todas as amostras vegetais geneticamente modificadas deverão estar etiquetadas, devidamente identificadas e registadas em caderno de registos para o efeito, ou em suporte informático, onde deverão constar informações sobre o tipo de amostra, ID, quantidade (se aplicável), atividade realizada (ex: armazenamento no frigorífico ou arca, para crescimento, para ser analisada no lab, etc) e nome do utilizador. O responsável deverá verificar todas as entradas no livro de registos, e manter os livros e cópias de segurança em arquivo.

7.4. Procedimentos em todos os laboratórios onde ocorram atividades com plantas geneticamente modificadas

1. É obrigatório utilizar bata à base de algodão (tecido pouco inflamável), preferencialmente abotoada com molas ou Velcro® para facilitar a remoção em caso de acidente. Os punhos da bata deverão ser ajustáveis.
2. As luvas deverão ser mudadas sempre que se encontrem contaminadas e não devem ser utilizadas para mexer em objetos de uso comum (telefone, computador, puxadores de porta ou gavetas, etc.).
3. No laboratório devem existir dispensadores para sabonete líquido ou em pó. Os dispensadores devem ser sempre lavados antes de novo enchimento. Em alternativa, podem ser utilizados produtos em embalagens descartáveis.
4. Se contaminar as mãos acidentalmente deverá utilizar um agente desinfetante (ex. álcool a 70% v/v) para além da lavagem.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



a) Procedimentos em câmaras de crescimento de plantas geneticamente modificadas em terra

Manipulação em condições de segurança

- Para minimizar o risco de derramamento, todo o material utilizado nas manipulações deve ser mantido em tabuleiros durante as atividades a decorrer. Todos os derramamentos devem ser imediatamente limpos de acordo com os procedimentos descritos no Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa.
- Os resíduos sólidos que incluem material de laboratório descartável, terra, papel e material de proteção devem ser recolhidos em sacos para autoclavagem. Os resíduos biológicos sólidos devem ser colocados em saco próprios e colocados nos contentores de resíduos sólidos do Grupo III para recolha pela empresa de gestão de resíduos.
- Os resíduos líquidos, incluindo soluções e águas de escoamento, devem ser transportados em contentores e feita a sua descontaminação por autoclave antes de serem descartados. Todo o equipamento e acessórios devem ser limpos e descontaminados antes de serem removidos das instalações para reparação ou manutenção.

b) Limpeza e desinfeção das instalações

- As instalações (superfícies e estruturas permanentes) devem ser facilmente laváveis e limpas, e mantidas em boas condições de higiene. Todas as operações de limpeza devem ser efetuadas pelos utilizadores autorizados após cada ciclo de utilização.
- Deverão ser tomadas precauções adicionais para evitar a disseminação de pólen a partir dos fitoclimas/*walk-in* localizados no edifício C2 (piso 1). Se as plantas forem crescidas até atingirem a fase reprodutiva, deverá ser utilizado um saco em material adequado para envolver os órgãos florais completamente desenvolvidos. Quando necessário, as superfícies expostas devem ser higienizadas, recomendando-se a aplicação de vapor de peróxido de hidrogénio (não gera resíduos tóxicos), ou um desinfetante adequado.
- Todas as superfícies de crescimento devem ser regularmente limpas com soluções desinfetantes (ex. lixívia). As bancadas de apoio devem ser descontaminadas com lixívia ou etanol 70% v/v no final do trabalho. O material dos ensaios deve ser inativado por métodos químicos ou autoclavagem, incluindo recipientes de crescimento (vasos) e outros acessórios. A autoclavagem deve ser efetuada a 1.2 bar e 121°C durante 15-180 minutos dependendo do tipo e estado do material. Os acessórios de limpeza e as batas de laboratório deverão ser esterilizados antes da lavagem.

c) Transporte de materiais vegetais geneticamente modificados entre instalações

O transporte entre as várias instalações aqui referidas, de qualquer tipo de material biológico OGM/MGM, seja em caixas de *Petri*, tubos/microtubos ou outros recipientes, deve ser feito, obrigatoriamente, em caixas tapadas ou tabuleiros apropriados para transporte. As culturas crescidas em meio líquido devem ser transportadas dentro de caixas, alguidares ou baldes, utilizando os suportes adequados ou carrinhos de laboratório. O material com contaminação biológica deve ser transportado para as salas de lavagem nos carrinhos de laboratório em alguidares ou tabuleiros. Acondicionar os materiais cuidadosamente dentro dos recipientes de modo a evitar a quebra, queda e/ou derrame durante o transporte.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



d) Utilização da sala de lavagens ou dos serviços aí prestados

No edifício C2 existem duas salas de apoio para lavagem de material (pisos 1 e 4) onde se procede às tarefas de (i) lavagem de material de laboratório; (ii) descontaminação de resíduos biológicos, meios de cultura e de material de laboratório; (iii) esterilização de material de laboratório, meios de cultura e soluções. A utilização destas salas ou o envio de materiais deverá seguir as normas necessárias de modo a proteger os utilizadores e funcionários da exposição a perigos de natureza química e biológica, nomeadamente:

- a) Recipientes de vidro com contaminação biológica ou com meios para descontaminação devem ser transportados tapados para a sala de lavagens, para evitar derrames.
- b) Agulhas e lâminas com contaminação biológica são colocadas em recipientes próprios de acordo com a gestão de resíduos implementada em CIÊNCIAS ULisboa.
- c) Devem ser utilizadas luvas adequadas para a manipulação e lavagem de materiais sujos e/ou contaminados com agentes biológicos/químicos.
- d) Sempre que for necessário proceder a descontaminação dos materiais com lixívia ou solução desinfetante.
- e) As condições normais de esterilização por autoclavagem são: 121°C, 20 min.
- f) Os recipientes com meio líquido para autoclavar não devem estar cheios acima de 80% do seu volume nominal.
- g) Todos os utilizadores das salas de lavagem (lavagem, descontaminação e esterilização) ou dos equipamentos que nelas se encontram (ex.: autoclaves e estufas de secagem) deverão seguir as normas aí implementadas.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



8. BOAS PRÁTICAS MICROBIOLÓGICAS

A preparação de culturas microbianas ou culturas de células envolve uma série de procedimentos em assepsia que devem ser realizados em condições apropriadas.

Assepsia é a técnica utilizada para evitar a contaminação dos materiais e ambientes durante procedimentos microbiológicos. Envolve o uso adequado de equipamentos de proteção individual, descontaminação de superfícies, uso de chamas para esterilizar instrumentos e a manipulação cuidadosa dos microrganismos.

Ao longo deste capítulo são abordadas boas práticas microbiológicas em contextos como área de trabalho, higiene pessoal, reagentes e materiais estéreis, pipetagem, etc.

8.1. Área de Trabalho

A forma mais simples e económica de reduzir contaminações provenientes de partículas e aerossóis, como pó, esporos e espirros, é a utilização de uma Câmara de Fluxo Laminar ou de Segurança Biológica (CFL/CSB) para a manipulação de microrganismos e/ou linhas celulares. A CFL/CSB deve estar corretamente instalada numa área restrita à cultura de células e com pouca circulação de pessoas.

A área de trabalho deve estar limpa e organizada, contendo apenas os itens necessários para a realização de um determinado procedimento, não devendo ser utilizada como área de armazenamento. Antes e depois de cada utilização, a área de trabalho assim como todos os equipamentos utilizados devem ser limpos com um desinfetante apropriado (ver Anexo VI – Lista de agentes desinfetantes e tempos de contacto). A sala deve ser limpa regularmente com o uso de desinfetante apropriado de acordo com o procedimento de limpeza previsto na [INSTRUÇÃO OPERACIONAL – USO CONFINADO DE MGM/OGM, IO-7: PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA](#).

8.2. Câmaras de Fluxo Laminar / Câmaras de Segurança Biológica

De acordo com as recomendações da Organização Mundial de Saúde, as limitações e o procedimento de utilização das CFL/CSB devem ser explicadas a todos os potenciais utilizadores. A CFL/CSB só deverá ser utilizada se estiver em pleno funcionamento e o painel de vidro não deverá ser aberto quando a mesma estiver em uso.

Na CFL/CSB, deve ser evitada presença excessiva de aparelhos e materiais para garantir a circulação adequada de ar no espaço traseiro da mesma. A utilização de Bicos de *Bunsen* dentro da CFL/CSB é proibida.

Todas as operações devem ser realizadas no centro ou na parte traseira da área de trabalho, e devem ser visíveis através do painel de vidro.

Deve ser reduzida a circulação de pessoas em torno do operador ao mínimo necessário.

O operador não deve interromper o fluxo de ar ao inserir ou remover os braços da câmara repetidamente nem colocar documentos dentro da CFL/CSB.

As grelhas de ar não devem ser obstruídas com papéis, pipetas ou outros materiais, uma vez que tal interrompe o fluxo de ar e aumenta o risco de contaminação do material e exposição do operador.

Ao iniciar/finalizar o trabalho e no final do dia, a superfície da CFL/CSB deve ser limpa com um desinfetante adequado. O ventilador da câmara deve funcionar por pelo menos 5 minutos antes e depois do trabalho ser realizado de forma a garantir a esterilidade da área de trabalho.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



Além disso, é possível utilizar a luz ultravioleta da CFL/CSB para esterilizar o ar e a área de trabalho dentro da mesma entre as utilizações. Preferencialmente, a CFL/CSB deve permanecer ligada durante todo o dia de trabalho e apenas ser desligada quando não for utilizada por longos períodos, como durante a noite e fins de semana.

8.3. Higiene Pessoal

É importante lavar as mãos antes e depois de trabalhar com microrganismos e cultura de células. Além disso, o uso de EPI adequados não só protege o profissional de materiais perigosos, mas também reduz a probabilidade de contaminações.

A aplicação de cosméticos está proibida nos laboratórios.

8.4. Reagentes e Materiais Estéreis

Todos os reagentes e materiais utilizados na manipulação de microrganismos e cultura de células devem estar estéreis podendo ser ou não descartáveis.

8.5. Manipulação

Antes de começar, é necessário desinfetar as mãos e a área de trabalho com o desinfetante adequado. Frascos de cultura e placas devem ser desinfetados antes de serem colocados dentro da CFL/CSB.

Deve ser evitado o uso direto de reagentes a partir das suas garrafas e frascos.

As garrafas e frascos de reagentes devem ser fechadas após o seu uso. Nenhum um frasco estéril, garrafa, placa de Petri, etc., deve ser aberto até o momento em que se estiver pronto a utilizá-lo. As garrafas e frascos de reagentes bem como os materiais a utilizar na manipulação nunca devem ser abertos fora da CFL/CSB.

Ao remover uma tampa, se necessário, esta deve ficar com a abertura voltada para baixo sobre a superfície de trabalho.

Evitar falar durante os procedimentos realizados em ambiente estéril.

Os procedimentos devem ser realizados o mais rapidamente possível para minimizar a contaminação.

8.6. Pipetagem

No decorrer do trabalho com microrganismos ou linhas celulares, quando se está a pipetar, é obrigatório o uso de um dispositivo de pipetagem adequado, como um pipetador ou pompette. É proibido pipetar com a boca assim como soprar para dentro da pipeta para expelir os líquidos da pipeta.

Todas as pipetas serológicas (descartáveis ou de vidro) devem encontrar-se esterilizadas e ter um filtro de algodão para evitar a contaminação dos dispositivos de pipetagem.

Deve dar-se preferência às pipetas graduadas que não exigem a expulsão das últimas gotas.

A pipetagem com recurso a micropipetas deve ser feita usando pontas adequadas para as mesmas. Sempre que haja suspeita de produção de aerossóis devem usar-se pontas de filtro.

A pipetagem nunca deve ser feita usando como recurso seringas com agulha hipodérmica.



8.7. Aerossóis

As partículas e gotículas (>5 µm de diâmetro), produzidas durante a manipulação microbológica, depositam-se rapidamente nas áreas de trabalho e nas mãos do operador. É recomendado o uso de luvas descartáveis. O pessoal de laboratório deve evitar tocar na boca, nos olhos e na face. Durante procedimentos que possam gerar projéteis de materiais com potencial risco para a saúde do operador, é necessário proteger a face, os olhos e a boca.

8.8. Utilização de centrífugas

A utilização de centrífugas no âmbito da cultura de microrganismos e linhas celulares é um procedimento rotineiro que deve ser realizado cumprindo as regras de boa utilização das mesmas. É essencial que as centrífugas de laboratório estejam em perfeito funcionamento mecânico para garantir a segurança biológica durante a sua utilização bem como seguir cuidadosamente todas as instruções fornecidas pelo fabricante.

Devem-se utilizar tubos/microtubos/copos de centrífuga apropriados para centrifugação. Ao colocar os tubos na centrífuga, estes deverão estar bem tapados, posicionados e equilibrados de forma a prevenir acidentes durante a centrifugação e potenciais contaminações. O volume de líquido no tubo/microtubo/copo deverá ser respeitado seguindo as orientações do fabricante garantindo assim uma operação segura. Este ponto é particularmente importante quando se utilizam rotores basculantes.

Para equilibrar os tubos/microtubos/copos vazios recomenda-se a utilização de água destilada.

8.9. Manutenção e utilização de frigoríficos, congeladores e arcas

Os frigoríficos e congeladores são equipamento importantes na prática de cultura de microrganismos ou linhas celulares. São usados para armazenamento não só de amostras como de reagentes e por isso garantir o seu bom funcionamento é essencial.

Desta forma, os frigoríficos, congeladores e arcas devem ser descongelados e limpos periodicamente. Durante a limpeza deverão ser usados EPI apropriados.

Todos os materiais conservados em frigoríficos, congeladores e arcas deverão estar adequadamente etiquetados e bem tapados.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



9. DESINFEÇÃO E ESTERILIZAÇÃO

9.1. Definições

Diversos termos são usados para desinfeção e esterilização. Destacam-se abaixo os mais comuns em biossegurança:


- Antimicrobiano – Agente que mata microrganismos ou suprime o seu crescimento e multiplicação.
- Antisséptico – Substância que inibe o crescimento e desenvolvimento de microrganismos sem necessariamente matá-los. Os antissépticos são geralmente aplicados nas superfícies do corpo.
- Biocida – Termo geral para qualquer agente que mata organismos.
- Germicida químico – Produto químico ou mistura de produtos químicos utilizados para matar microrganismos.
- Descontaminação – Qualquer processo de remoção e/ou eliminação de microrganismos. O mesmo termo também é usado para referir a remoção ou neutralização de produtos químicos perigosos e materiais radioativos.
- Desinfetante – Produto químico ou mistura de produtos químicos usados para matar microrganismos, mas não necessariamente esporos. Os desinfetantes são geralmente aplicados em superfícies ou objetos inanimados.
- Desinfeção – Um meio físico ou químico de matar microrganismos, mas não necessariamente esporos.
- Microbicida – Produto químico ou mistura de produtos químicos que mata microrganismos. O termo é frequentemente utilizado em vez de "biocida", "germicida químico" ou "antimicrobiano".
- Esporocida – Produto químico ou mistura de produtos químicos utilizados para matar microrganismos e esporos.
- Esterilização – Processo que mata e/ou remove todas as classes de microrganismos e esporos.

9.2. Procedimento

Os procedimentos de desinfeção e esterilização devem ter em conta o OGM/MGM ao qual dizem respeito, bem como ao local onde são aplicados (ex., Câmara de Fluxo Laminar ou de Segurança Biológica, CFL/CSB; centrífuga). A [INSTRUÇÃO OPERACIONAL – USO CONFINADO DE MGM/OGM, IO-7: PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA](#), pertencente ao PLANO DE SEGURANÇA – PLANO DE PREVENÇÃO de CIÊNCIAS ULisboa, descreve o procedimento a executar. Caso exista a necessidade de aplicação de procedimentos específicos associados à instalação em causa, os mesmos deverão estar devidamente documentados e ser do conhecimento dos utilizadores envolvidos. As operações de limpeza deverão ser documentadas no registo correspondente (Anexo IX – Registo de Limpeza ou equivalente).

Quaisquer acidentes e derrames devem ser comunicados ao investigador responsável ou pessoa designada para o efeito e caso necessário deve ligar para o número de emergência de CIÊNCIAS ULisboa (ext. 20000; 217 500 600). Os procedimentos associados a uma ocorrência de derrame envolvendo OGM/MGM encontram-se detalhados no [Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa](#).

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	<i>Data: dezembro 24</i>
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	<i>Página 39 de 84</i>

10. DIRETIVAS PARA A AUTORIZAÇÃO DE INSTALAÇÕES LABORATORIAIS

10.1. Princípios gerais

A **Agência Portuguesa do Ambiente (APA)** é a autoridade competente para a libertação deliberada no ambiente e para o uso confinado de MGM/OGM, sendo responsável neste âmbito pela avaliação dos riscos ambientais bem como pela autorização da(s):

- colocação no mercado de produtos que contenham ou sejam constituídos por OGM (exceto os que se destinem à alimentação humana e animal);
- libertação deliberada no ambiente de OGM para qualquer fim diferente da colocação no mercado, nomeadamente para fins experimentais;
- operações de utilização confinada de MGM/OGM.

A **Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV)** é a autoridade competente para:

- regular a cultura de variedades geneticamente modificadas, visando assegurar a sua coexistência com culturas convencionais e com o modo de produção biológico;
- autorizar a colocação no mercado de produtos que contenham OGM que se destinem à alimentação humana e animal.

De acordo com o Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril, que regula a utilização confinada de MGM/OGM, quando se pretende realizar operações de utilização confinada com MGM/OGM deve ser submetida uma notificação à APA, de acordo com a respetiva classe de risco:

- Classe 1 - operações de risco nulo ou insignificante, em que é necessário um confinamento de nível 1 (Anexo III – Formulário de Notificação Classe 1);
- Classe 2 - operações de baixo risco, em que é necessário um confinamento de nível 2 (Anexo IV - Formulário de Notificação Classe 2);
- Classe 3, operações de risco moderado, em que é necessário um confinamento de nível 3;
- Classe 4, operações de alto risco, em que é necessário um confinamento de nível 4.

O utilizador de MGM ou OGM em ambientes confinados está obrigado a:

- Avaliar a utilização confinada em função dos eventuais riscos para a saúde humana e o ambiente, incluindo a evacuação de resíduos e efluentes;
- Classificar a operação de utilização confinada numa das classes;
- Aplicar os princípios gerais e as medidas de confinamento e outras medidas de proteção apropriadas, a fim de que a exposição no ambiente e no local de trabalho seja mantida ao nível mais baixo possível e seja garantido um elevado grau de segurança;

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---




- d) Realizar os procedimentos de notificação e autorização;
- e) Rever anualmente a avaliação de risco, as medidas de confinamento e quaisquer outras medidas de proteção adotadas;
- f) Rever de imediato, sem prejuízo do disposto na alínea anterior, a avaliação de risco, as medidas de confinamento aplicadas e quaisquer outras medidas de proteção adotadas;
- g) Submeter à APA, I. P., a notificação alterada em resultado da revisão prevista na alínea anterior;
- h) Manter um registo anual das avaliações de risco das atividades de utilização confinada efetuadas, as quais devem ser disponibilizadas à APA, I. P., e demais entidades competentes, sempre que solicitado;
- i) Elaborar procedimentos relativos à prevenção de acidente, à atuação em caso de emergência, à formação do pessoal e ao tratamento de resíduos e efluentes, devendo para o efeito:
 - i. Elaborar um plano de emergência que contemple a salvaguarda da saúde humana e do ambiente, a adotar em caso de falha das medidas de confinamento previstas;
 - ii. Informar os organismos e entidades suscetíveis de serem afetados em caso de acidente, sobre os planos de emergência e sobre as medidas de segurança que devem ser aplicadas, dando disso conhecimento à APA, I. P.;
 - iii. Informar a APA, I. P., sobre as questões relacionadas com a segurança;
 - iv. Em caso de acidente, executar as medidas previstas no n.º 1 do artigo 15º e no disposto no [Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa](#);
- j) Garantir, nos termos da lei, a proteção da segurança e saúde dos trabalhadores contra riscos resultantes da exposição a agentes biológicos durante o trabalho, proporcionando um elevado nível de segurança, sem prejuízo das medidas correspondentes à respetiva classe de utilização confinada, previstas no Decreto-Lei 55/2015 de 17 de abril;
- k) Garantir, nos termos da lei, a aplicação das boas práticas de microbiologia e de segurança e higiene no trabalho;
- l) Facultar à APA, I. P., as seguintes informações:
 - i. Informações relevantes de que tenha conhecimento;
 - ii. Alterações na utilização confinada de um MGM ou OGM que possam implicar uma modificação nos níveis de risco associados;
 - iii. Alterações na classe de utilização confinada;
 - iv. Apresentação anual das atividades realizadas de acordo com o presente Decreto-Lei, conforme modelo disponibilizado no site da APA, I. P., na Internet, incluindo as conclusões de auditoria, se realizada;
 - v. Comunicação da eventual interrupção da atividade de utilização confinada;
 - vi. Envio de documentação ou informação adicional solicitada pela APA, I. P.;

Antes de iniciar a utilização confinada, a APA, I. P., deve garantir:

- a) A elaboração de um plano de emergência para casos em que a falha nas medidas de confinamento represente um perigo grave e imediato ou tardio para pessoas fora das instalações e/ou para o ambiente, a menos que o plano de emergência já tenha sido elaborado de acordo com outra legislação;

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	<i>Data: dezembro 24</i>
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	<i>Página 41 de 84</i>

- b) Comunicação dos planos de emergência às autoridades e organismos que possam ser afetados por um acidente, incluindo as medidas de segurança a serem adotadas.

10.2. Notificação da realização da primeira operação de utilização confinada

- a) O responsável pela instalação ou laboratório onde serão utilizados OGM/MGM comunica à Comissão de Segurança Biológica (CSB.C) via e-mail (csbciencias@ciencias.ulisboa.pt) a intenção de iniciar trabalho com MGM/OGM, enviando o formulário de MGM/OGM (Anexo II - Documento de Avaliação de Trabalho com OGM/MGM) devidamente preenchido.
- b) Cabe à CSB.C, avaliar o pedido verificando se a instalação tem condições para o cumprimento dos requisitos necessários à utilização confinada de OGM/MGM. A avaliação é realizada com recurso à lista de verificação corresponde ao nível de segurança biológico exigido, disponível em anexo (Anexo XI – Lista de verificação de requisitos para utilização confinada Classe 1 e Anexo XII – Lista de verificação de requisitos para utilização confinada Classe 2). Após verificação, em caso de cumprimento dos requisitos necessários para a utilização confinada de OGM/MGM, a CSB.C encaminha o pedido para o G3S para envio do pedido à APA.
- c) CIÊNCIAS ULisboa, através do G3S, notifica a APA, I. P., da intenção de proceder à utilização de instalações para a realização da primeira operação de utilização confinada, com vista à obtenção de autorização e, independentemente da classificação de risco da operação, submetendo a informação constante no Formulário Notificação Utilização Confinada de MGM e/ou OGM associado ao nível de segurança respetivo (Anexo III – Formulário de Notificação Classe 1 ou Anexo IV - Formulário de Notificação Classe 2) e que estão disponíveis no sítio da internet da APA: <https://apambiente.pt/prevencao-e-gestao-de-riscos/procedimento-autorizacao-de-uso-confinado>. O preenchimento do formulário é da responsabilidade do responsável pela instalação ou laboratório onde serão utilizados OGM/MGM e deve ser posteriormente revisto pelos membros da CSB.C antes da sua submissão à APA.

A primeira operação de utilização confinada de classe 2 pode iniciar-se:

- a) Imediatamente, mediante autorização da APA, I. P.;
- b) 45 dias após a apresentação da notificação contendo os elementos previstos na alínea a) do número anterior, mediante autorização da APA, I. P.

10.3. Operações subsequentes de utilização confinada de classe 1

Após a apresentação da notificação prevista no artigo anterior, as operações subsequentes de utilização confinada de classe 1 podem ter lugar sem ulteriores procedimentos.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



10.4. Operações subsequentes de utilização confinada de classe 2

As operações subsequentes de utilização confinada de classe 2 podem ter lugar imediatamente após a submissão do Formulário Notificação Utilização Confinada de MGM e/ou OGM (Anexo IV - Formulário de Notificação Classe 2) e que estão disponíveis no sítio da internet: <https://apambiente.pt/prevencao-e-gestao-de-riscos/procedimento-autorizacao-de-uso-confinado> e que tenham sido sujeitas a um processo de notificação anterior com vista à realização de operações de utilização confinada de classe 2, ou superior, e se encontrem preenchidos os requisitos previstos no Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril. O preenchimento do formulário é da responsabilidade do responsável pela instalação ou laboratório onde serão utilizados OGM/MGM e deve ser posteriormente revisto pelos membros da Comissão de Segurança Biológica.

Pela análise da notificação pela APA neste âmbito, é devido o pagamento de uma taxa, nos termos da Portaria n.º 295/2018.

A decisão sobre o uso confinado do MGM/OGM é tomada com base na avaliação dos riscos do MGM/OGM para a saúde humana e ambiente considerando as características do MGM/OGM, condições das instalações, medidas de confinamento implementadas, gestão dos resíduos entre outros aspetos.

No processo de avaliação e nos termos da legislação, a APA, pronuncia-se sobre o uso confinado de MGM/OGM sendo ouvido o Instituto de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA), a Direção Geral de Saúde (DGS) e, sempre que se trate de plantas superiores, a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), e tidos em consideração os resultados da consulta pública quando considerada pertinente.

Compete à APA, I. P., ouvidas as entidades consultadas:

- a) Verificar a conformidade das notificações da realização de operações de utilização confinada de OGM e MGM, incluindo:
 - i. A documentação entregue e a fiabilidade da informação prestada;
 - ii. A avaliação dos eventuais riscos para a saúde humana e o ambiente resultantes de utilização confinada, incluindo a evacuação de resíduos e efluentes, e a classe da utilização confinada;
 - iii. As medidas de confinamento, de gestão de resíduos e de efluentes, bem como de atuação em caso de emergência e outras medidas de proteção e segurança;
- b) Autorizar o início da utilização confinada;
- c) Realizar visitas às instalações de utilização confinada ou adotar outras medidas de monitorização ou controlo destinadas a garantir que o utilizador cumpre.

De acordo com o Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril, que regula a utilização confinada de MGM/OGM, o notificador deve realizar o reporte anual da atividade desenvolvida das operações de utilização confinada com MGM/OGM submetendo um relatório à Agência Portuguesa do Ambiente.

O relatório anual deverá ser submetido no início de cada ano, reportando à atividade desenvolvida no ano anterior (Anexo XIII - Formulário de reporte anual da atividade de utilização confinada de MGM/OGM).

Em caso de acidente o notificador deve informar a APA. Informação detalhada no [Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa](#).

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



10.5. Ações periódicas e responsabilidades

As autorizações confinadas de OGM/MGM obrigam à garantia de procedimentos da responsabilidade da Comissão de Segurança Biológica, dos responsáveis pelas instalações autorizadas e respetivos utilizadores.

a) Utilizadores de instalações de utilização confinada de OGM/MGM

É da responsabilidade dos utilizadores de instalações de utilização confinada de OGM/MGM:


- Cumprir as regras e boas práticas previstas neste manual;
- Cumprir os procedimentos de operação e limpeza;
- Cumprir regras e procedimentos de eliminação de resíduos;
- Identificar jerricans de recolha de resíduos com designação de resíduo e respetivo código LER;
- Cumprir regras de acesso e procedimentos específicos implementados pela instalação;
- Garantir o registo de utilizações confinadas de OGM/MGM (ver Regras básicas de segurança em laboratórios de Classe 1 e de Classe 2 e Anexo VIII – Registo de utilização);
- Garantir o registo de ações de limpeza e descontaminação de equipamentos e espaços (Anexo IX – Registo de Limpeza);
- Comunicar derrames ou acidentes que envolvam OGM/MGM ao/à responsável de laboratório e responsáveis de Infraestruturas Laboratoriais, ou pela gestão de instalações, se existirem (ver Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa);
- Comunicar falhas ou dificuldades de implementação de medidas previstas neste manual ao/à responsável de laboratório e/ou responsáveis de Infraestruturas Laboratoriais, ou pela gestão de instalações, se existirem.

b) Responsáveis pelo laboratório/instalação onde serão utilizados OGM/MGM

É da responsabilidade do responsável pelo laboratório/instalação onde serão utilizados OGM/MGM:

- Garantir a formação de novos utilizadores e respetivo registo (ver Regras básicas de segurança em laboratórios de Classe 1 e de Classe 2 e exemplo de registo disponível no Anexo VII – Registo de formação);
- Garantir a respetiva avaliação de uso confinado de OGM/MGM;
- Garantir a elaboração/clarificação de procedimentos específicos complementares a este manual;
- Estabelecer e implementar regras de controlo de acesso para instalações de Classe 2 conjuntamente com o G3S;
- Garantir a atualização de procedimentos e regras;
- Assegurar que na instalação/laboratório encontra-se disponível informação, meios e recursos necessários para a aplicação dos procedimentos previstos neste manual, designadamente a disponibilidade de material e agentes de limpeza adequados e de um kit de contenção de derrames, para atuação em caso de derrame, libertação ou exposição a gentes que envolvam risco biológico;
- Assegurar a sensibilização dos utilizadores para as boas práticas de utilização confinada de OGM/MGM e cumprimento de todas as regras associadas nomeadamente o Manual de Segurança Biológica (MSB) e no Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa (PIEB);

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	Data: dezembro 24
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	Página 44 de 84

- Acompanhar ações inspetivas;
- Organizar e manter atualizado o dossier de registos e documentação referente à instalação;
- Comunicar à CSB.C qualquer necessidade de alteração à autorização de utilização confinada de OGM/MGM.

b.1) Responsabilidades anuais

Anualmente, os responsáveis pela instalação ou laboratório onde serão utilizados OGM/MGM devem:

- Elaborar e enviar à CSB.C, o reporte anual das atividades de utilização confinada até 31 de janeiro referente ao ano anterior (Anexo XIII - Formulário de reporte anual da atividade de utilização confinada de MGM/OGM);
- Garantir a execução da Instrução Operacional 8 (IO-8) PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE DE DESINFECÇÃO, pertencente ao PLANO DE SEGURANÇA – PLANO DE PREVENÇÃO de CIÊNCIAS ULisboa e respetivo registo;
- Assegurar a manutenção e certificação anual das Câmaras de Fluxo Laminar e incubadoras existentes em instalações de classe 2 e manter respetivos registos disponíveis no dossier da instalação (Anexo X – Registo de Manutenção);
- Elaborar a avaliação de risco anual das atividades de utilização confinada efetuadas (Anexo V – Formulário para reavaliação anual de risco das atividades de utilização confinada efetuadas) e comunicar à CSB.C alterações necessárias à autorização de utilização confinada decorrentes da avaliação (ex. utilização de novos OGM/MGM).

c) Comissão de Segurança Biológica de CIÊNCIAS

É da responsabilidade da Comissão de Segurança Biológica:


- Definir os mecanismos de avaliação dos utilizadores, nomeadamente, os questionários de avaliação;
- Comunicar ao G3S novos pedidos de utilização confinada de OGM/MGM ou alterações às utilizações confinadas de OGM/MGM autorizadas a submeter à APA;
- Em caso de necessidade de resposta a uma falha nas medidas de confinamento previstas, garantir a aplicabilidade do Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa;
- Garantir a revisão do Manual de Segurança Biológica e do Plano Interno de Emergência Biológica sempre que forem identificadas necessidades de atualização de procedimentos e regras;
- Acompanhar ações inspetivas;
- Responder a pedidos decorrentes de ações inspetivas.

c.1) Responsabilidades anuais

Anualmente, a CSB.C deve:

- Submeter à APA o reporte anual das atividades de utilização confinada até 28 de fevereiro do ano seguinte ao período do reporte da atividade;

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---


 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	<i>Data: dezembro 24</i>
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	<i>Página 45 de 84</i>

Em anexo (Anexo XIV - Modelo de Calendário anual de responsabilidades), encontra-se disponível um exemplo de cronograma que pode ser utilizado como calendário de procedimentos da responsabilidade da CSB.C e dos responsáveis pelas instalações autorizadas e respetivos utilizadores.

10.6. AÇÕES INSPETIVAS

Sem prejuízo das competências próprias de outras entidades, a fiscalização do cumprimento das normas constantes do DL nº 55/2015 compete à Inspeção-Geral da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território (IGAMAOT) e à Autoridade para as Condições do Trabalho (ACT), no âmbito das respetivas competências.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	<i>Data: dezembro 24</i>
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	<i>Página 46 de 84</i>

11. BIBLIOGRAFIA

Organização Mundial da Saúde. Manual de segurança biológica em laboratório. Terceira edição. Genebra 2004. ISBN 92 4 154650 6 (Classificação LC/NLM: QY 25) WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11


<https://apambiente.pt/>

https://osp.od.nih.gov/wp-content/uploads/NIH_Guidelines.pdf

<https://www.thermofisher.com/pt/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/aseptic-technique.html>

Plano Interno de Emergência Biológica de CIÊNCIAS ULisboa,
<https://cirrus.ciencias.ulisboa.pt/owncloud/s/DR4eY6Jx9p25P64>

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	<i>Data: dezembro 24</i>
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	<i>Página 47 de 84</i>

12. ANEXOS

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



12.1. Anexo I- Despacho D/16/2022 Regras gerais de segurança em laboratório

Despacho D/16/2022

Sumário: Regras gerais de segurança em laboratório.

Considerando o Regime Jurídico da Promoção da Segurança e Saúde no Trabalho estabelecido pela Lei n.º 102/2009, de 10 de setembro, na sua atual redação;

considerando que o referido Regime Jurídico estabelece no seu artigo 15.º que o empregador deve zelar, de forma continuada e permanente, pelo exercício da atividade em condições de segurança e de saúde para o trabalhador, tendo em conta princípios gerais de prevenção;

ao abrigo das competências que me são conferidas nos termos da alínea y) do artigo 55.º dos Estatutos da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, publicados em anexo ao Despacho n.º 11913/2021, de 2 de dezembro, e ouvido o Gabinete de Segurança, Saúde e Sustentabilidade, determino que a utilização de laboratórios por parte de trabalhadores, alunos e visitantes, obedeça ao cumprimento das seguintes regras gerais de segurança em laboratório:

- conheça previamente os riscos e as medidas de prevenção associados às atividades, aos equipamentos e aos agentes químicos, físicos e biológicos com que vai trabalhar;
- Conheça previamente as fichas de dados de segurança de todos os agentes químicos que vai manusear;
- não fume, coma, beba ou guarde alimentos no laboratório;
- use vestuário e calçado apropriados e equipamentos de proteção individual adequados. Prenda os cabelos compridos;
- não utilize telemóveis nem toque em botões de elevadores e puxadores de portas com luvas contaminadas;
- identifique inequivocamente todos os recipientes contendo materiais e produtos. Minimize a quantidade de reagentes armazenados no laboratório;
- cumpra as regras para eliminação de resíduos perigosos produzidos no laboratório, e nunca os elimine diretamente para o esgoto ou balde do lixo comum;
- mantenha a bancada de trabalho limpa e arrumada;
- conheça a localização e o modo de utilização dos equipamentos de emergência (extintores, lava olhos, chuveiros, caixas de primeiros socorros, manta ignífuga, etc.);
- mantenha desobstruídos os acessos a percursos de evacuação, saídas de emergência ou equipamentos de emergência;
- não permita que o som dos dispositivos eletrónicos e a utilização de auscultadores no laboratório interfiram com a audição clara de alarmes e instruções;
- não permaneça com a bata vestida em espaços comuns, nomeadamente em bares e bibliotecas;
- lave as mãos antes de sair do laboratório;

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



- em caso de emergência: mantenha a calma, ligue ext. 20000 ou +351 217 500 600, identifique o tipo e local da ocorrência (edifício, piso e sala) e coloque-se em segurança até à chegada da equipa de emergência, prestando todas as informações sobre o sucedido.

Assinado por: **JORGE AUGUSTO MENDES DE**

MAIA ALVES

Num. de Identificação: BI050394304

Data: 2022.03.11 19:16:01 GMT Standard Time



CARTÃO DE CIDADÃO

Jorge Maia Alves

Subdiretor

(Em substituição do Diretor, nos termos do disposto no Despacho n.º 5364/2018, de 29 de maio)

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



12.2. Anexo II - Documento de Avaliação de Trabalho com OGM/MGM

(disponível em: <https://cirrus.ciencias.ulisboa.pt/owncloud/s/yARgcJeDxtxsc5k>)

Documento de Avaliação de Trabalho com OGM/MGM			
- Comissão de Segurança Biológica de CIÊNCIAS ULisboa, csbciencias@ciencias.ulisboa.pt			
1 – O trabalho envolve a utilização de (assinalar com X):			
a) animais			
b) plantas			
c) microrganismos			
2 – Existe (aquando da obtenção) ou está previsto existir (no decurso dos procedimentos experimentais) alteração(ões) do genoma do organismo/microrganismos comparativamente ao selvagem (<i>wildtype</i>), nomeadamente através da introdução material genético (ex. plasmídeos, genoma viral)? (assinalar com X)			
a) Sim			
b) Não			
3 – Os organismos/microrganismos inserem-se em qual dos grupos abaixo indicados (assinalar com X):			
Material biológico de classe 1 (BSL1, biosafety level 1)		Assinalar (X)	Notas
	<i>Bacillus subtilis</i>		
	Estirpes não patogénicas de <i>Escherichia coli</i>		
	Vetores virais adeno-associados (AAV)		
	Linhas celulares de ratinho (<i>Mus musculus</i>) quando não contêm ou estão contaminadas com patógenos humanos ou animais, e quando não alteradas com vetores de um nível de segurança superior (ex. utilização de vetores lentivirais).		
	Linhas celulares humanas (<i>especificar no campo notas</i>)		
	Amostras de mamíferos de laboratório		
Organismos transgénicos que contêm ácidos nucleicos que não existem na estirpe selvagem e que não podem replicar nem gerar ácidos nucleicos que se possam replicar numa célula viva (por exemplo, oligonucleótidos ou outros ácidos nucleicos sintéticos que não contêm uma origem de replicação ou contêm elementos conhecidos por			



Material biológico de classe 1 (BSL1, biosafety level 1)	interagirem com DNA ou RNA polimerase); ii) não foram concebidos para se integrarem no DNA; e iii) não produzem uma toxina letal em vertebrados com uma LD50 inferior a 100 ng por kg de massa corporal.	
	Plantas modificadas por moléculas de ácidos nucleicos recombinantes ou sintéticos que não sejam infestantes nocivas ou que não se possam cruzar com ervas daninhas nocivas na área geográfica imediata	
	Plantas inteiras e ácidos nucleicos recombinantes ou ácidos nucleicos de moléculas modificadas de microrganismos não exóticos, que não tenham potencial reconhecido para rapidez e disseminação generalizada ou com impacto negativo grave nos ecossistemas (por exemplo, <i>Agrobacterium</i> spp.)	
	Outros similares a uma das anteriores categorias	
Material biológico de classe 2 (BSL2, biosafety level 2)	Amostras humanas (especificar no campo notas)	
	Linhas celulares humanas (especificar no campo notas)	
	Vetores lentivirais de terceira geração	
	Vetores adenovirais	
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
	<i>Toxoplasma gondii</i>	
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	
	Influenza A	
	Plantas modificadas por moléculas de ácidos nucleicos recombinantes ou sintéticos que sejam ervas daninhas nocivas ou possam cruzar-se com ervas daninhas nocivas na área geográfica imediata.	
	Plantas associadas a moléculas de ácidos nucleicos recombinantes ou sintéticos modificadas de microrganismos não exóticos com um potencial reconhecido de impacto prejudicial grave na gestão de ecossistemas.	



Material biológico de classe 2 (BSL2, biosafety level 2)	Plantas associadas a moléculas de ácidos nucleicos recombinantes ou sintéticos modificadas de microrganismos exóticos que não tenham potencial reconhecido para um impacto prejudicial grave na gestão de ecossistemas.		
	Experiências com moléculas de ácidos nucleicos recombinantes ou sintéticos modificadas de artrópodes ou pequenos animais associados a plantas, ou de microrganismos associados a estes, se os microrganismos modificados por moléculas de ácidos nucleicos sintéticos não tiverem potencial reconhecido para impacto negativo nos ecossistemas.		
	Outros similares a uma das anteriores categorias		

Participantes:

Nome (função/qualidade na qual participa na avaliação)

Nome (função/qualidade na qual participa na avaliação)

(...)

(local), (data)

(assinatura, nome)

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



12.3. Anexo III – Formulário de Notificação Classe 1



Formulário de Notificação

para Utilização Confinada de MGM e/ou OGM de Classe 1 (1.ª utilização)

A apresentar à APA, para efeitos de cumprimento do artigo 8.º do Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril, em formato conforme com o artigo 16.º do mesmo diploma, o qual deverá ser acompanhado da respetiva avaliação de risco para a saúde humana e ambiente (de acordo com anexo II do formulário em apreço) e incluir os potenciais efeitos nocivos e consequentes medidas de confinamento relativas: a) ao organismo/microrganismo dador; b) ao vetor ou sistema vetor/hospedeiro; c) ao organismo/ microrganismo recetor; d) ao MGM/OGM resultante; e) aos organismos que embora não estejam diretamente envolvidos no processo em questão são o ponto de partida (dão origem) a outros que vão ser utilizados. Note-se que de acordo com o artigo 9.º do Decreto-Lei 55/2015, as utilizações subsequentes de classe 1 não carecem de notificação.

I) Identificação do notificador

Nome do notificador

NIPC

Endereço

Telefone

Fax

E-mail

II) Descrição da Utilização Confinada (1.ª utilização)

MGM

☐

OGM

☐

(Assinalar a opção correta)

Classe da utilização confinada



Descrição das atividades desenvolvidas

[ver nota de apoio constante do anexo I]

(Incluir o respetivo plano de trabalho)

III) Descrição do MGM/OGM

Identificação e características do MGM/OGM

[ver nota de apoio constante do anexo I]

IV) Descrição da instalação

Endereço da instalação

Descrição geral da instalação

[ver nota de apoio constante do anexo I]

(Incluir a(s) respetiva(s) planta(s) da instalação evidenciando a localização dos MGM/OGM)

V) Descrição dos utilizadores

Nome dos utilizadores e dos responsáveis pela vigilância e segurança

Formação, qualificação e experiência (anos) dos responsáveis pela vigilância e segurança



Dados sobre eventuais comissões ou grupos de trabalho constituídos (segurança, manutenção, emergência, avaliação de risco ou outras)

VI) Avaliação de risco

Resumo da avaliação de risco para a saúde humana e ambiente

Fundamentação da classe de risco em função do resultado da avaliação de risco

(Incluir o respetivo relatório de avaliação elaborado de acordo com o anexo I ao presente formulário, bem como o mapa da localização que deverá ser parte integrante do mesmo)

VII) Medidas de gestão de risco implementadas

Medidas de confinamento/ proteção implementadas

Medidas de gestão de resíduos

Medidas de prevenção de incidentes, acidentes e atuação em caso de emergência

(Incluir o plano de emergência a adotar em caso de falha das medidas de confinamento previstas)



VIII) Conclusão sobre o risco

Conclusão sobre a
aceitabilidade do risco
(tendo em conta a classe
de risco, a envolvente e a
adequabilidade das
medidas implementadas)

IX) Pedido de confidencialidade

Identificação e
fundamentação da
informação considerada
confidencial

X) Responsável pela notificação

Assinatura

Nome

Data

Anexos:

- Plantas da instalação

- Relatório da avaliação de Risco para a Saúde Humana e Ambiente efetuada nos termos do anexo I ao presente formulário

- Mapa da localização

- Plano de Emergência Interno



Anexo I

Notas de apoio ao preenchimento do formulário

II. Descrição da Utilização Confinada

Descrição das atividades desenvolvidas

Pretende-se que o notificador apresente sucintamente uma descrição genérica das atividades desenvolvidas nas instalações no âmbito da utilização confinada de MGM/OGM (incluindo as atividades que envolvem a manipulação, bem como as atividades que originem MGM/OGM).

[Esta informação deve ser complementada com o plano de trabalhos].

III. Descrição do MGM/OGM

Caso sejam utilizados MGM/OGM como dadores, vetores ou recetores o notificador terá de referir qual/ quais o/os microrganismo/os/organismo/os que lhe/lhes deram origem, se a manipulação ocorreu no local de instalação e terá de identificar e descrever este/estes OGM/MGM.

Exemplo:

No caso de utilização de vetores sem possibilidade de recombinação autónoma (“desarmados”) que provêm de microrganismos patogénicos (ex. HIV) é importante que o notificador refira qual o microrganismo (classificar de acordo com o Decreto-Lei n.º 84/97 e Portaria 1036/98) que originou o vetor, e se o microrganismo vai, ou não, ser manipulado no local da instalação pois as medidas de confinamento terão de ser avaliadas consoante a situação.

Identificação e características do MGM/OGM

Identificação e descrição das características de todos os MGM/OGM envolvidos nos procedimentos a efetuar, incluindo não só o OGM/MGM final mas também todos os OGM/MGM manipulados durante os procedimentos efetuados.

Exemplo:

Se for pretendido introduzir na planta de arroz genes responsáveis pela produção de beta-caroteno e se, para tal, for necessário fazer amplificação de um dado plasmídeo em E. coli e utilizar a bactéria Agrobacterium tumefaciens modificada (sem T-DNA e transformada com o plasmídeo amplificado em E. coli) para inserir os genes de interesse na planta de arroz, o notificador terá de identificar como MGM/OGM envolvidos no processo, a planta de arroz transformada com os genes responsáveis pela síntese do beta caroteno, a estirpe de E. coli utilizada para amplificar o plasmídeo e a estirpe de Agrobacterium tumefaciens modificada.

IV. Descrição da instalação

Descrição geral da instalação

Descrever sucintamente a instalação (tipo de edifício, nº de pisos, como estão divididas os vários tipos de áreas laboratoriais e a área administrativa, sistema de ventilação previsto e OGM/MGM manuseados ou produzidos nessas áreas). Anexar mapa da mesma evidenciando a localização dos MGM/OGM.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



Anexo II

Elementos necessários à avaliação de risco para a Saúde Humana e Ambiente

I. Identificação dos efeitos nocivos

Identificar os efeitos potencialmente nocivos associados ao microrganismo/organismo recetor, material genético inserido, vetor, microrganismo/organismo dador, ao MGM/OGM resultante e outros efeitos considerados relevantes.

São considerados efeitos potencialmente nocivos, doenças no ser humano, incluindo os efeitos alergénicos ou tóxicos, doenças em animais ou plantas; efeitos que não tem tratamento ou para os quais não se dispõe de uma profilaxia eficaz; efeitos que resultam da fixação ou disseminação no ambiente; efeitos que resultam da transferência natural para outros organismos, de material genético inserido.

a) Doenças no ser humano

Descrever quaisquer efeitos significativos do MGM no ser humano, incluindo as interações prováveis, diretas ou indiretas e quaisquer características perigosas e suscetíveis de causar efeitos alergénicos ou tóxicos.

b) Doenças em animais ou plantas

Descrever quaisquer efeitos significativos do MGM nos animais ou plantas incluindo insetos, simbioses, patogénicos (ex: vírus e bactérias), aves e mamíferos. Devem ser consideradas interações prováveis, diretas ou indiretas e quaisquer características perigosas e suscetíveis de causar efeitos alergénicos ou tóxicos.

c) Efeitos que não tem tratamento ou para os quais não existe uma profilaxia eficaz disponível

Referir os efeitos do MGM para os quais não se conhece tratamento.

d) Efeitos que resultam da fixação ou disseminação no ambiente

Referir os efeitos do MGM na eventualidade da sua disseminação no ambiente.

e) Efeitos que resultam da transferência natural para outros organismos, de material genético inserido

Referir os efeitos resultantes do aumento ou diminuição do potencial de transferência do material genético do MGM.

II. Gravidade dos efeitos considerados como potencialmente nocivos

Descrever a gravidade dos efeitos identificados no ponto I.

III. Probabilidade de ocorrência dos efeitos considerados como potencialmente nocivos

Indicar a probabilidade de ocorrência dos e efeitos identificados no ponto I.

IV. Classificação da operação de utilização confinada

A classificação das operações de utilização confinada deve basear-se na informação relevante existente, devendo ser mencionadas as referências bibliográficas que suportam essa classificação.

Em caso de dúvida quanto à classe a adotar deve ser atribuída a classificação correspondente ao nível seguinte de forma a salvaguardar a proteção da saúde humana e do ambiente.

São considerados adequadamente incluídos na classe 1 os MGM/OGM com as seguintes características:

a) ser improvável que o microrganismo recetor ou parental cause doença no ser humano, em animais ou plantas

b) ser improvável que o MGM cause doença no ser humano, em animais ou plantas e apresente efeitos



adversos no ambiente

c) a natureza do vetor e do elemento inserido não originar um MGM com um fenótipo suscetível de causar doença no ser humano, em animais ou no ambiente

V. Descrição da envolvente

Identificação e caracterização da envolvente passível de ser afetada. Identificar, especificamente, elementos ambientalmente sensíveis e/ou passíveis de contaminação.

Incluir mapa de localização da instalação, onde sejam identificáveis os elementos supra referidos.

VI. Identificação e seleção das medidas de confinamento/proteção

Identificar e concluir sobre a adequabilidade das medidas de confinamento/proteção implementadas, tendo por base a classe de risco do OGM/ MGM, bem como as características do ambiente suscetíveis de ser negativamente afetadas, características da atividade e operações não convencionais (vide requisitos mínimos aplicáveis quadros IA-C e II do anexo IV do Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril).

12.4. Anexo IV- Formulário de Notificação Classe 2



Formulário de Notificação para Utilização Confinada de MGM e/ou OGM de Classe 2

A apresentar à APA, para efeitos de cumprimento dos artigos 8.º e 10.º do Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril, em formato conforme com o artigo 16.º do mesmo diploma, o qual deverá ser acompanhado da respetiva avaliação de risco para a saúde humana e ambiente (de acordo com anexo II do formulário em apreço) e incluir os potenciais efeitos nocivos e consequentes medidas de confinamento relativas: a) ao organismo/microrganismo dador; b) ao vetor ou sistema vetor/hospedeiro; c) ao organismo/ microrganismo recetor; d) ao MGM/OGM resultante; e) aos organismos que embora não estejam diretamente envolvidos no processo em questão são o ponto de partida (dão origem) a outros que vão ser utilizados.

XI) Identificação do notificador

Nome do notificador

NIPC

Endereço

Telefone

Fax

E-mail

XII) Enquadramento da Utilização Confinada

MGM

☐

OGM

☐

(Assinalar a opção correta)

1.ª Utilização

☐

Utilização Subsequente

☐

(Assinalar a opção correta)

Classe da utilização confinada



Descrição das atividades desenvolvidas

[ver nota de apoio constante do anexo I]

III) Identificação da Utilização Confinada anteriormente autorizada (preencher apenas para utilizações subsequentes)

Classe de utilização autorizada

Data

N.º notificação

Data

IV) Descrição da Utilização Confinada

Descrição dos trabalhos a desenvolver, incluindo o respetivo planeamento, o objetivo e os resultados previstos

[ver nota de apoio constante do anexo I]

(Incluir o respetivo plano de trabalho)

Volume/quantidade aproximado(a) de cultura/ a utilizar



V) Descrição do MGM/OGM

Identificação
caraterísticas
MGM/OGM

e
do

[ver nota de apoio constante do anexo I]

Origem e função do
material genético
envolvido na
modificação genética
(dador)

[ver nota de apoio constante do anexo I]

Sistema vetor/
hospedeiro utilizado

[ver nota de apoio constante do anexo I]

Identificação do
microrganismo/
organismo recetor

[ver nota de apoio constante do anexo I]

VI) Descrição da instalação

Endereço da instalação

Descrição geral da
instalação

[ver nota de apoio constante do anexo I]

(Incluir a(s) respetiva(s) planta(s) da instalação, evidenciando a localização dos MGM/OGM)

VII) Descrição dos utilizadores

Nome dos utilizadores e
responsáveis pela
vigilância e segurança



Formação, qualificação e experiência (anos) dos responsáveis pela vigilância e segurança

Dados sobre eventuais comissões ou grupos de trabalho constituídos (segurança, manutenção, emergência, avaliação de risco ou outras)

VIII) Avaliação de risco

Fundamentação da classe de risco em função do resultado da avaliação de risco

(Incluir o respetivo relatório de avaliação elaborado de acordo com o anexo II ao presente formulário, bem como o mapa da localização que deverá ser parte integrante do mesmo)

IX) Medidas de gestão de risco implementadas

Medidas de gestão de resíduos

Medidas de prevenção de incidentes, acidentes e atuação em caso de emergência

(Incluir o plano de emergência a adotar em caso de falha das medidas de confinamento previstas)

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---



X) Conclusão sobre o risco

Conclusão sobre a aceitabilidade do risco (tendo em conta a classe de risco, a envolvente e a adequabilidade das medidas de confinamento e de gestão de risco implementadas)

XI) Pedido de confidencialidade

Identificação e fundamentação da informação considerada confidencial

XII) Responsável pela notificação

Assinatura

Nome

Data

Anexos:

- Plantas da instalação

- Relatório da avaliação de Risco para a Saúde Humana e Ambiente efetuada nos termos do anexo II ao presente formulário

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

- Mapa da localização

- Plano de Emergência Interno

Anexo I

Notas de apoio ao preenchimento do formulário

II. Enquadramento da utilização confinada

Descrição das atividades desenvolvidas

Pretende-se que o notificador apresente sucintamente uma descrição genérica das atividades desenvolvidas nas instalações no âmbito da utilização confinada de MGM/OGM (incluindo as atividades que envolvem a manipulação, bem como as atividades que originem MGM/OGM).

IV. Descrição da utilização confinada

Descrição dos trabalhos a desenvolver, incluindo o respetivo planeamento, o objetivo e os resultados previstos

Pretende-se que o notificador apresente a descrição dos trabalhos de utilização confinada a desenvolver incluindo um resumo e explicação de todos os procedimentos, bem como o objetivo e os resultados previstos.

Exemplo:

Pretende-se neste trabalho aumentar a expressão/reduzir a expressão/silenciar/introduzir, em linhas celulares/em microrganismos/em organismos, os genes x, utilizando para tal a técnica y, que envolve a utilização do vetor z. Os procedimentos descritos têm por objetivo estudar os mecanismos celulares envolvidos nos processos w e qual o papel do gene x no mecanismo k.

[Esta informação deve ser complementada com o plano de trabalhos].

V. Descrição do MGM/OGM

Caso sejam utilizados MGM/OGM como dadores, vetores ou recetores o notificador terá de referir qual/quais o/os microrganismo/os/organismo/os que lhe/lhes deram origem, se a manipulação ocorreu no local de instalação e terá de identificar e descrever este/estes OGM/MGM não só nos itens respetivos ("Origem e função do material genético envolvido na modificação genética (dador)", "Sistema vetor/hospedeiro utilizado", "Identificação do microrganismo/organismo recetor") mas também no item "identificação/descrição do MGM/OGM".

Exemplo:

No caso de utilização de vetores sem possibilidade de recombinação autónoma ("desarmados") que provêm de microrganismos patogénicos (ex. HIV) é importante que o notificador refira qual o microrganismo (classificar de acordo com o Decreto-Lei n.º 84/97 e Portaria 1036/98) que originou o vetor, e se o microrganismo vai, ou não, ser manipulado no local da instalação pois as medidas de confinamento terão de ser avaliadas consoante a situação.

Identificação e características do MGM/OGM

Identificação e descrição das características de todos os MGM/OGM envolvidos nos procedimentos a efetuar, incluindo não só o OGM/MGM final mas também todos os OGM/MGM manipulados durante os procedimentos efetuados.

Exemplo:

Se for pretendido introduzir na planta de arroz genes responsáveis pela produção de beta-caroteno e se, para tal, for necessário fazer amplificação de um dado plasmídeo em *E. coli* e utilizar a bactéria *Agrobacterium tumefaciens* modificada (sem T-DNA e transformada com o plasmídeo amplificado em *E. coli*) para inserir os genes de interesse na planta de arroz, o notificador terá de identificar como MGM/OGM envolvidos no processo, a planta de arroz transformada com os genes responsáveis pela síntese do beta caroteno, a estirpe de *E. coli* utilizada para amplificar o plasmídeo e a estirpe de *Agrobacterium tumefaciens* modificada.

Origem e função do material genético envolvido na modificação genética (dador)

Identificar de onde provêm os genes a introduzir no organismo recetor, com identificação clara do organismo dador (organismo de onde provém o material genético de interesse) e qual a função pretendida (vide esquema em anexo). Explicitar se os organismos dadores vão ou não ser manipulados durante o procedimento, pois as medidas de confinamento terão de ser adequadas às classes de todos os microrganismos/organismos manipulados durante o processo. Caso o microrganismo/organismo dador seja patogénico é importante saber se este vai ser manipulado na instalação ou se o notificador vai apenas manipular o seu ácido nucleico.

Exemplo:

Na introdução, na planta de arroz, de genes responsáveis pela produção de beta-caroteno, os genes responsáveis pela síntese do beta-caroteno poderiam, por exemplo, provir da planta do milho, e a função pretendida seria o aumento do teor em beta-caroteno no grão de arroz.

Sistema vetor/hospedeiro utilizado

Descrever o sistema vetor/hospedeiro utilizado (vide esquema em anexo).

Este sistema pode simplesmente ser utilizado para amplificar o material genético de interesse, mas também pode ser utilizado para efetuar a transferência do vetor recombinante para o recetor.

Entende-se por vetor, a molécula de ácido nucleico utilizada para o transporte do material genético de interesse para uma célula recetora. São exemplos de vetores, designadamente, plasmídeos e vírus.

Exemplo:

Na introdução na planta de arroz de genes responsáveis pela produção de beta-caroteno, seria necessário descrever o sistema vetor/hospedeiro *E. coli*/plasmídeo recombinante (para amplificação do material genético de interesse) e *Agrobacterium tumefaciens*/plasmídeo recombinante (para efetuar a transferência do vetor recombinante para o recetor).

Identificação do microrganismo/organismo recetor

Identificação do organismo/microrganismo que receberá o material genético de interesse tendo em vista a obtenção do OGM/MGM (vide esquema em anexo)

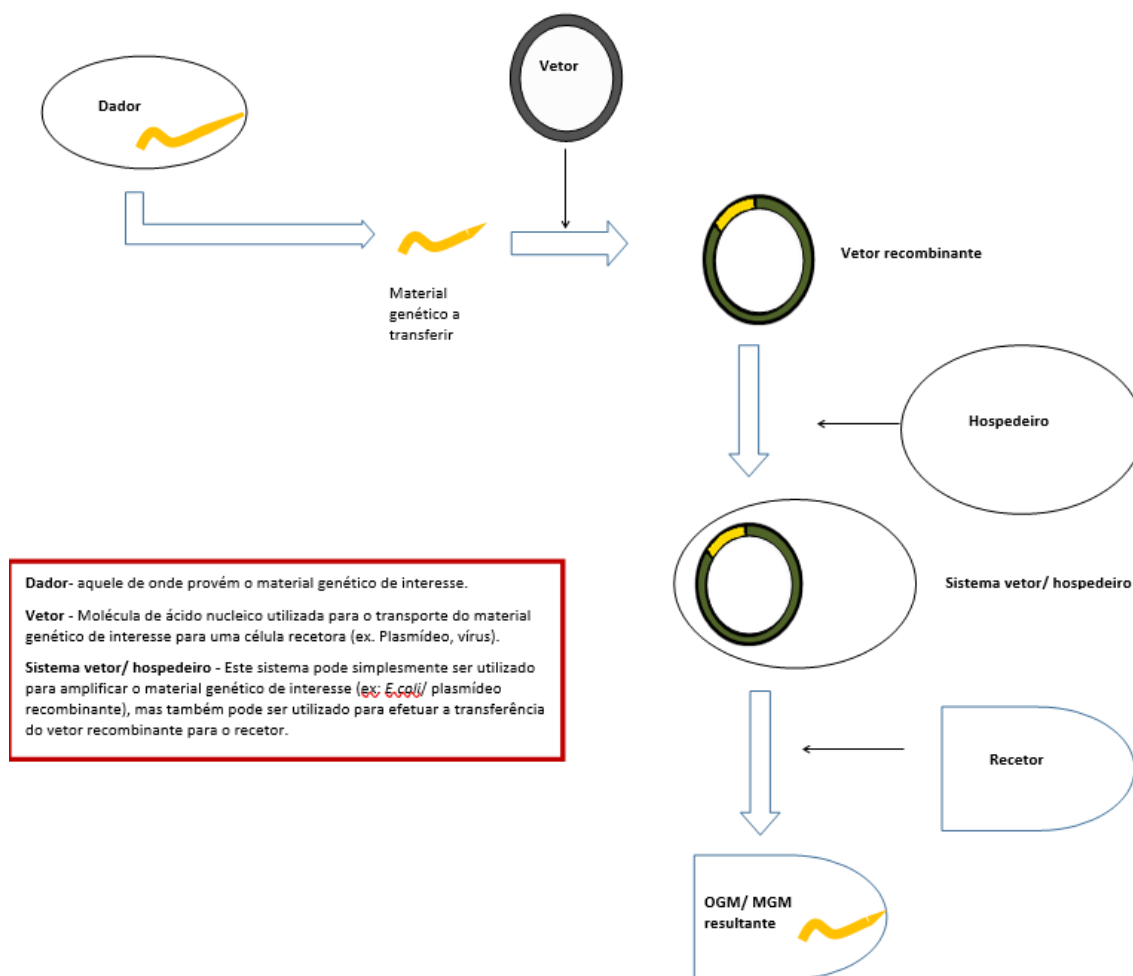
VI. Descrição da instalação

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---

Descrição geral da instalação

Descrever sucintamente a instalação (tipo de edifício, nº de pisos, como estão divididas os vários tipos de áreas laboratoriais e a área administrativa, sistema de ventilação previsto e OGM/MGM manuseados ou produzidos nessas área). Anexar mapa da mesma evidenciando a localização dos MGM/OGM.

Figura 1: Esquema ilustrativo da manipulação genética



Anexo II

Elementos necessários à avaliação de risco para a Saúde Humana e Ambiente

VII. Identificação dos efeitos nocivos

Identificar os efeitos potencialmente nocivos associados ao microrganismo/organismo dador, material genético inserido, vetor, microrganismo/organismo recetor, ao MGM/OGM resultante e outros efeitos considerados relevantes.

São considerados efeitos potencialmente nocivos, doenças no ser humano, incluindo os efeitos alergénicos ou tóxicos, doenças em animais ou plantas; efeitos para os quais não exista tratamento ou profilaxia eficaz; efeitos que resultam da fixação ou disseminação no ambiente; efeitos que resultam da transferência natural do material genético inserido, para outros organismos.

f) Efeitos no ser humano

Descrever quaisquer efeitos significativos do MGM/OGM no ser humano, incluindo as interações prováveis, diretas ou indiretas e quaisquer características perigosas e suscetíveis de causar infeção, efeitos alergénicos ou tóxicos.

g) Efeitos em animais ou plantas

Descrever quaisquer efeitos significativos do MGM/OGM nos animais ou plantas incluindo insetos, simbiontes, patogénicos (ex: vírus e bactérias), aves e mamíferos. Devem ser consideradas interações prováveis, diretas ou indiretas e quaisquer características perigosas e suscetíveis de causar efeitos alergénicos ou tóxicos.

h) Efeitos para os quais não existe tratamento ou profilaxia eficaz disponível

Referir os efeitos do MGM/OGM para os quais não se conhece tratamento.

i) Efeitos nefastos que resultam do estabelecimento ou disseminação no ambiente

Referir os efeitos do MGM/OGM na eventualidade da sua disseminação no ambiente.

j) Efeitos que resultam da transferência natural do material genético inserido, para outros organismos

Referir os efeitos resultantes do aumento ou diminuição do potencial de transferência do material genético do MGM/OGM.

VIII. Gravidade dos efeitos considerados como potencialmente nocivos

Descrever a gravidade dos efeitos identificados no ponto I.

IX. Probabilidade de ocorrência dos efeitos considerados como potencialmente nocivos

Indicar a probabilidade de ocorrência dos efeitos identificados no ponto I.

X. Classificação da operação de utilização confinada

A classificação das operações de utilização confinada deve basear-se na informação relevante existente, devendo ser mencionadas as referências bibliográficas que suportam essa classificação.


Em caso de dúvida quanto à classe a adotar deve ser atribuída a classificação correspondente ao nível seguinte de forma a salvaguardar a proteção da saúde humana e do ambiente.

XI. Descrição da envolvente

Identificação e caracterização da envolvente passível de ser afetada. Identificar, especificamente, elementos ambientalmente sensíveis e/ou passíveis de contaminação.

Incluir mapa de localização da instalação, onde sejam identificáveis os elementos supra referidos.

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	<i>Data: dezembro 24</i>
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	<i>Página 69 de 84</i>

XII. Identificação e seleção das medidas de confinamento/proteção

Identificar e concluir sobre a adequabilidade das medidas de confinamento/proteção implementadas, tendo por base a classe de risco do OGM/ MGM, bem como as características do ambiente suscetíveis de ser negativamente afetadas, características da atividade e operações não convencionais (vide requisitos mínimos aplicáveis quadros IA-C e II do anexo IV do Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril).

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



12.5. Anexo V – Formulário para reavaliação anual de risco das atividades de utilização confinada efetuadas

(disponível em: <https://cirrus.ciencias.ulisboa.pt/owncloud/s/yARqcJeDxtxc5k>)

(logotipo se aplicável)

Uso confinado de MGM e OGM

Registo anual das avaliações de risco das atividades de utilização confinada efetuadas

Data:		Laboratório:	
Autorização:		Instalação:	
Responsável:			

1. Descrição da Utilização Confinada:

- Descrição dos trabalhos a desenvolver
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")
- Volume/quantidade aproximado(a) de cultura a utilizar
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")

2. Descrição do MGM/OGM:

- Identificação e características do MGM/OGM
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")
- Origem e função do material genético envolvido na modificação genética (dador)
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")
- Sistema vetor/ hospedeiro utilizado
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")
- Identificação do microrganismo/ organismo recetor
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")

3. Descrição da instalação:

- Endereço da instalação
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")
- Descrição geral da instalação
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")

4. Descrição dos utilizadores:

- Nome dos utilizadores e responsáveis pela vigilância e segurança
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")
- Formação, qualificação e experiência (anos) dos responsáveis pela vigilância e segurança
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")
- Dados sobre eventuais comissões ou grupos de trabalho constituídos (segurança, manutenção, emergência, avaliação de risco ou outras)
(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")



(logotipo se aplicável)

5. Avaliação de risco

- a. Fundamentação da classe de risco em função do resultado da avaliação de risco

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

6. Medidas de gestão de risco implementadas

- a. Medidas de gestão de resíduos

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

- b. Medidas de prevenção de incidentes, acidentes e atuação em caso de emergência

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

7. Conclusão sobre o risco

- a. Conclusão sobre a aceitabilidade do risco (tendo em conta a classe de risco, a envolvente e a adequabilidade das medidas de confinamento e de gestão de risco implementadas)

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

8. Pedido de confidencialidade

- a. Identificação e fundamentação da informação considerada confidencial

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

Avaliação de risco para a Saúde Humana e Ambiente

1. Identificação dos efeitos nocivos

- a. Efeitos no ser humano

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

- b. Efeitos em animais ou plantas

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

- c. Efeitos para os quais não existe tratamento ou profilaxia eficaz disponível

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

- d. Efeitos nefastos que resultam do estabelecimento ou disseminação no ambiente

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

- e. Efeitos que resultam da transferência natural do material genético inserido, para outros organismos

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

2. Gravidade dos efeitos considerados como potencialmente nocivos

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)

3. Probabilidade de ocorrência dos efeitos considerados como potencialmente nocivos

(Descrever as alterações ou indicar “Nada a alterar”)



(logotipo se aplicável)

4. Classificação da operação de utilização confinada

(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")

5. Descrição da envolvente

(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")

6. Identificação e seleção das medidas de confinamento/proteção

(Descrever as alterações ou indicar "Nada a alterar")

Participantes na revisão:

Nome (função/qualidade na qual participa na avaliação de riscos)

Nome (função/qualidade na qual participa na avaliação de riscos)

(...)

Lista de anexos:

(eliminar se não aplicável)

Anexo 1: (...)

Anexo 2: (...)

(local), (data)


(assinatura, nome)

(função/qualidade na qual participa na avaliação de riscos)



12.6. Anexo VI – Lista de agentes desinfetantes e tempos de contacto

AGENTES DESINFETANTES E TEMPOS DE CONTACTO				
Produto	Agente Ativo	Concentração	Tempo de Contacto	Observações
Lixívia	Hipoclorito de Sódio	Soluções de 5000 ppm, 0,5% que corresponde a uma diluição de 1:10 v/v de lixívia comercial	Desinfecção de superfícies - 1 min Desinfecção de resíduos líquidos – 20 min	Corrosivo para superfícies metálicas pelo que deve ser limpo com água após o seu tempo de contacto. Soluções diluídas devem ser preparadas diariamente e mantidas em recipiente opaco. Frequentemente utilizado para desinfetar superfícies e equipamentos.
		Soluções de 10 000 ppm, 1% que corresponde a uma diluição de 1:5 v/v de lixívia comercial para resíduos biológicos contendo uma elevada carga orgânica (ex. sangue, proteínas ou lípidos)	Desinfecção de superfícies - 1 min Desinfecção de resíduos líquidos - 20 min	
Álcool	Etanol	70%	10 min	Inflamável. Frequentemente utilizado para desinfetar superfícies e equipamentos.
Oxidantes	Peróxido de hidrogénio	Conforme indicação do produto	1 min	Pode danificar alguns metais (por exemplo, ferro, cobre, latão, zinco, aço). Não tóxico e decompõe-se em água e oxigénio. Utilizado para desinfetar superfícies, equipamentos e resíduos. Deve haver precaução no uso de feridas.
Biocidal ZF™	Compostos Quaternários de Amónio	Conforme indicação do produto	10 min ou conforme indicação do produto	Alguns são irritantes para a pele, olhos e trato respiratório. Utilizados para desinfetar superfícies e equipamentos. Eficácia reduzida na presença de matéria orgânica.

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	Data: dezembro 24
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	Página 74 de 84

12.7. Anexo VII – Registo de formação

(disponível em: <https://cirrus.ciencias.ulisboa.pt/owncloud/s/yARqcJeDxtxsc5k>)

Formação: "Regras de utilização da Sala de Cultura (*a especificar*)"

DADOS DA AÇÃO

Nome da ação
de formação:

Centro de
investigação
ou
departamento
formador:

Local:

Duração:

Programa/su
mário da
formação

Regime de *Presencial*
formação

DADOS DOS FORMANDOS E FORMADOR

Nome do Utilizador	Data da Formação	Categoria	Assinatura	Formador e assinatura	Data da Avaliação

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



12.8. Anexo VIII – Registo de utilização

(disponível em: <https://cirrus.ciencias.ulisboa.pt/owncloud/s/yARgcJeDxtxsc5k>)

Observações								
Placas/ Frascos								
Teste micoplasma								
MGM/ OGM								
Incubadora								
CFL/CSB								
Hora de fim								
Hora de início								
Utilizador								
Data								

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



12.11. Anexo XI – Lista de verificação de requisitos para utilização confinada Classe 1

Check-list – Nível 1 de segurança biológica

Data:		Laboratório:	
Responsável:			

	Sim	Não	N/A	Comentários
Laboratório/Instalação				
Bancadas resistentes a água, ácidos, bases, solventes, desinfetantes e agentes de descontaminação, fáceis de limpar?				
Controlo eficaz de vetores (por exemplo, roedores e insetos)?				
As portas são mantidas fechadas?				
Aviso para manter as janelas fechadas afixado?				
Agentes de limpeza e desinfeção disponíveis?				
Kit de derrames disponível na instalação?				
Procedimentos				
Vestuário/Equipamento de proteção adequado?				
Procedimento e regras de boas práticas transmitidas na formação de novos utilizadores?				
Procedimentos de limpeza em caso de derrame?				
Procedimentos de utilização de equipamentos?				
Proibição de aplicação de cosméticos, guardar alimentos para consumo humano, comer, beber, fumar no laboratório/instalação?				
Proibição de pipetagem com a boca?				
Equipamento				
Autoclave nas instalações?				
Resíduos				
Procedimentos de descarte de resíduos (sólidos e líquidos) de risco biológico?				
Inativação dos MGM e ou OGM no material e nos resíduos contaminados?				opcional
Recipientes devidamente etiquetados e fechados? (código LER colocado nos jerricans com os resíduos biológicos)				
Normas de eliminação de resíduos afixadas no laboratório/instalação?				
Registos				
Registo de derrames e acidentes envolvendo OGM/MGM?				
Registo anual das avaliações de risco das atividades de utilização confinada efetuadas?				

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:	Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	---------	---	----------	---



12.12. Anexo XII – Lista de verificação de requisitos para utilização confinada Classe 2

Check-list – Nível 2 de segurança biológica

Data:		Laboratório:	
Responsável:			

	Sim	Não	N/A	Comentários
Laboratório/Instalação				
Bancadas resistentes a água, ácidos, bases, solventes, desinfetantes e agentes de descontaminação, fáceis de limpar?				
Aviso de risco biológico na porta?				
Acesso restrito?				
Controlo eficaz de vetores (por exemplo, roedores e insetos)?				
As portas são mantidas fechadas?				
Aviso para manter as janelas fechadas afixado?				
Agentes de limpeza e desinfecção disponíveis?				
Kit de derrames disponível na instalação?				
Procedimentos				
Superfícies de trabalho descontaminadas antes e depois de cada procedimento, diariamente e após derrames?				
Medidas de controlo na fonte				
Vestuário/Equipamento de proteção adequado?				
Medidas implementadas de controlo para vestuário de proteção individual reutilizável (e.g. lavagem de batas)?				
Procedimento de formação de novos utilizadores?				
Procedimentos de limpeza em caso de derrame?				
Procedimento de comunicação em caso de derrame?				
Todos os derrames e acidentes com OGM/MGM notificados ao supervisor do laboratório?				
Procedimentos de utilização de equipamentos?				
Medidas específicas para o controlo da disseminação de aerossóis?				
Testes realizados <u>bianualmente</u> para deteção da presença de organismos manipulados viáveis fora da zona primária de confinamento físico?				
Proibição de aplicação de cosméticos, guardar alimentos para consumo humano, comer, beber, fumar no laboratório/instalação?				
Proibição de pipetagem com a boca?				
Equipamento				
Autoclave no edifício				
Aviso de risco biológico colado nos equipamentos?				

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



	Sim	Não	N/A	Comentários
Câmara de fluxo laminar com manutenção anual realizada?				
Incubadoras de CO ₂ com certificação anual realizada?				
Chamas vivas utilizadas dentro da câmara?				Proibido!
Resíduos				
Procedimentos de descarte de resíduos (sólidos e líquidos) de risco biológico?				
Inativação dos MGM e ou OGM no material e nos resíduos contaminados?				
Recipientes devidamente etiquetados e fechados? (código LER colocado nos jerricans com os resíduos biológicos)				
Normas de eliminação de resíduos afixadas no laboratório/instalação?				
Comprovativo de eliminação de filtros HEPA por operador credenciado?				
Registos				
Registo de formação de novos utilizadores?				
Registo de utilização da sala/equipamentos com indicação do utilizador/data/linha celular utilizada?				
Registo de limpezas periódicas realizadas aos equipamentos e instalação?				
Registo de derrames e acidentes envolvendo OGM/MGM?				
Registo anual das avaliações de risco das atividades de utilização confinada efetuadas?				
Registo de controlo de qualidade de desinfeção na CSB e fora da zona de confinamento primário (bancada) (IO-8)?				

Elaborado por:	Comissão de Segurança Biológica	Aprovado por:		Versão:	1	Revisão:	0
----------------	---------------------------------	---------------	--	---------	---	----------	---



12.13. Anexo XIII - Formulário de reporte anual da atividade de utilização confinada de MGM/OGM

Formulário de reporte anual da atividade

Utilização Confinada de MGM/OGM

A apresentar à APA, para efeitos de cumprimento do artigo 6.º do Decreto-Lei n.º 55/2015, de 17 de abril, em formato conforme com o artigo 16.º do mesmo diploma.

XIII) Informação geral

Período de reporte

Tipo de Utilização Confinada autorizada

N.º(s) notificação

Classe(s) de utilização confinada

XIV) Identificação do notificador

Nome do notificador

Endereço

Telefone

E-mail

XV) Descrição das atividades de Utilização Confinada desenvolvidas

MGM/OGM utilizado

Classe de utilização confinada

Origem

Quantidade

Elaborado por:

Comissão de Segurança Biológica

Aprovado por:

Versão:

1

Revisão:

0



Descrição da atividade realizada

--

Especificar as eventuais alterações relativamente ao previsto na(s) notificação(ões)

--

Especificar, nomeadamente, as alterações ao nível do(s) MGM/OGM utilizado(s); das operações de utilização confinada; das Instalações (incluindo eventuais alterações ao nível das mediadas de confinamentos; do(s) programa(s) de trabalhos; dos utilizadores e responsáveis pelo uso confinado, vigilância e segurança; dos procedimentos de emergência e da gestão de resíduos)

Indicar se ocorreu algum acidente ou situação anómala

--

XVI) Responsável pelo relatório

Assinatura

--

Nome do responsável pela elaboração do relatório

--

Data

--

12.14. Anexo XIV - Modelo de Calendário anual de responsabilidades

Uso confinado de MGM e OGM – RESPONSÁVEIS PELAS INSTALAÇÕES

Laboratório:		ANO:	
Autorização:		Instalação:	
Responsável:			

CALENDÁRIO ANUAL DE RESPONSABILIDADES

- ☐ ATÉ 31 JAN: Elaboração do reporte anual das atividades de utilização confinada
- ☐ ATÉ _____: Elaborar a avaliação de risco anual das atividades de utilização confinada efetuadas e comunicar à Comissão de Segurança Biológica alterações necessárias
- ☐ ATÉ _____: Assegurar a manutenção e certificação anual das Câmaras de Fluxo Laminar e incubadoras existentes em instalações de classe 2
- ☐ ATÉ _____: Executar IO-8 – PROC. DE CONTROLO DE QUALIDADE DE DESINFEÇÃO
- ☐ ATÉ _____: Executar IO-8 – PROC. DE CONTROLO DE QUALIDADE DE DESINFEÇÃO

NÃO ESQUECER:


- ☐ Garantir a atualização de procedimentos e regras
- ☐ Assegurar a disponibilização de material e agentes de limpeza adequados e de um kit de contenção de derrames

NOVOS UTILIZADORES:

- ☐ Garantir a formação e assegurar a avaliação de novos utilizadores e respetivo registo
- ☐ Assegurar a sensibilização dos utilizadores para as boas práticas de utilização confinada de OGM/MGM e cumprimentos de todas as regras associadas nomeadamente o cumprimento do MSB e no PIEB

NOTAS:

--

 Ciências ULisboa	PLANO DE SEGURANÇA INTERNO - PLANO DE PREVENÇÃO	
	PLANO DE ATUAÇÃO - USO CONFINADO DE MGM/OGM	<i>Data: dezembro 24</i>
	MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO	<i>Página 84 de 84</i>

Uso confinado de MGM e OGM –COMISSÃO DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

CALENDÁRIO ANUAL DE RESPONSABILIDADES

- ☐ ATÉ 28 FEV: Submissão do reporte anual das atividades de utilização confinada
- ☐ ATÉ _____: Garantir a revisão do Manual de Segurança Biológica
- ☐ ATÉ _____: Garantir a revisão do Plano Interno de Emergência Biológica
- ☐ ATÉ _____: Comunicar à APA novos pedidos de utilização confinada de OGM/MGM ou alterações às utilizações confinadas
- ☐ ATÉ _____: responder a pedidos decorrentes de ações de Fiscalização

NÃO ESQUECER:

- ☐ Comunicar à APA novos pedidos de utilização confinada de OGM/MGM ou alterações às utilizações confinadas;
- ☐ Garantir a revisão do Manual de Segurança Biológica e do Plano Interno de Emergência Biológica sempre que forem identificadas necessidades de atualização de procedimentos e regras
- ☐ Acompanhar e responder a pedidos decorrentes de ações inspetivas

NOTAS / NÃO ESQUECER: