



Decisão de Diretoria nº 135/2020/I, de 21/12/2020  
Publicada no Diário Oficial do Estado de São Paulo – Caderno Executivo I (Poder Executivo, Seção I), Edição nº 130 (254) do dia 23/12/2020 páginas: 205 a 206.

# NORMA TÉCNICA

L1.022

Nov/2007  
21 PÁGINAS

Avaliação do uso de produtos biotecnológicos para tratamento de efluentes líquidos, resíduos sólidos e remediação de solos e águas

REVOGADA

**Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**  
Avenida Professor Frederico Hermann Jr., 345  
Alto de Pinheiros CEP 05459-900 São Paulo SP  
Tel.: (11) 3133 3000 Fax.: (11) 3133 3402

<http://www.cetesb.sp.gov.br>

	<b>AVALIAÇÃO DO USO DE PRODUTOS BIOTECNOLÓGICOS PARA TRATAMENTO DE EFLUENTES LÍQUIDOS, RESÍDUOS SÓLIDOS E REMEDIAÇÃO DE SOLOS E ÁGUAS</b>	<b>L1.022</b>  <b>Nov/07</b>
---	---	------------------------------------

## SUMÁRIO

Página

<b>Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>1 Objetivo.....</b>	<b>2</b>
<b>2 Documentos Complementares.....</b>	<b>2</b>
<b>3 Definições.....</b>	<b>3</b>
<b>4 Condições gerais.....</b>	<b>4</b>
<b>5 Condições específicas.....</b>	<b>6</b>
<b>6 Monitoramento.....</b>	<b>11</b>
<b>7 Referências.....</b>	<b>12</b>
<b>Apêndice A – Fluxograma das etapas para avaliação do uso do produto biotecnológico.....</b>	<b>17</b>
<b>Apêndice B – Critérios para definição se o produto biotecnológico contém microrganismos patogênicos, geneticamente modificados, autóctones ou alóctones.....</b>	<b>18</b>
<b>Apêndice C – Ensaio para avaliação toxicológica, ecotoxicológica e de patogenicidade.....</b>	<b>20</b>

## Introdução

A capacidade dos microrganismos em degradar compostos orgânicos é cientificamente reconhecida e vem sendo utilizada ao longo do tempo em processos de tratamento biológico de efluentes líquidos e resíduos sólidos tanto domésticos como industriais. Devido a essa capacidade, têm sido desenvolvidos produtos biotecnológicos destinados a diversas finalidades, dentre as quais se destacam a degradação de poluentes, a lixiviação de minerais, a desobstrução de poços de petróleo e a recuperação de locais contaminados (solo, águas superficiais e subterrâneas).

Em função de seus riscos ambientais, tais produtos devem ser devidamente avaliados antes de sua aplicação para degradação de poluentes em sistemas de tratamento de resíduos ou em locais contaminados, visando sua utilização como prática segura e eficaz do ponto de vista ambiental e sanitário.

Os produtos biotecnológicos podem ser constituídos de microrganismos viáveis, metabólitos (como por exemplo enzimas), ou ainda misturas de microrganismos e metabólitos contendo produtos orgânicos e inorgânicos, atuando como conservantes, estabilizantes, nutrientes, ativadores e outros. Os microrganismos viáveis presentes no produto acabado podem reproduzir-se, disseminar-se por novos locais e transferir material genético para microrganismos naturalmente presentes no ambiente; enzimas podem catalisar reações que interfiram no metabolismo normal de organismos originariamente existentes; e a introdução de nutrientes e outros compostos pode provocar desequilíbrio no ecossistema.

Levando-se em consideração esses fatores, torna-se necessária a avaliação dos efeitos sobre o

ambiente do produto acabado e de seus componentes. Para que essa avaliação seja feita é preciso estabelecer normas para identificação e quantificação de cada constituinte do produto biotecnológico. Para produtos contendo microrganismos, além da classificação taxonômica, deve-se conhecer a quantidade, a atividade, a infecciosidade, a patogenicidade e outros dados relevantes específicos para cada aplicação pretendida. Para produtos contendo metabólitos são necessárias informações sobre sua atividade e, a critério da CETESB, sobre sua toxicidade. Além disso, é necessário conhecer a toxicidade dos demais componentes presentes no produto.

A CETESB, no cumprimento de suas atribuições como órgão responsável pelo controle ambiental no Estado de São Paulo, houve por bem elaborar a presente Norma de Procedimento para avaliar a utilização de produtos biotecnológicos destinados ao tratamento de efluentes líquidos, resíduos sólidos e remediação de solo e águas, tendo em vista promover a melhoria e garantir a qualidade do meio ambiente no Estado de São Paulo, visando ao desenvolvimento social e econômico sustentável.

## 1 Objetivo

Esta norma fixa as condições necessárias para avaliar o uso de produtos biotecnológicos quando destinados ao tratamento de efluentes líquidos, resíduos sólidos e remediação de solos e águas, exceto os bioestimuladores. Esta norma não se aplica a:

**1.1** Produtos domissanitários, os quais estão regulamentados por legislação específica do Ministério da Saúde

**1.2** Consórcios microbianos naturais enriquecidos de uma área contaminada para emprego na mesma.

## 2 Documentos Complementares

Os documentos relacionados a seguir contêm disposições que constituem fundamento para esta norma. As edições indicadas estavam em vigor no momento desta publicação. Como toda norma está sujeita à revisão e alterações, aqueles que realizam procedimentos com base nesta, devem verificar a existência de legislação superveniente aplicável ou de edições mais recentes das normas citadas.

Na aplicação desta norma, é necessário consultar:

- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA. Resolução n° 314, de 29 de outubro de 2002. Dispõe sobre o registro de produtos destinados à remediação e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 nov. 2002. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res02/res31402.html>>, Acesso em: abr. 2007
- BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução RDC n° 179, de 03 de outubro de 2006. Aprova o regulamento técnico para produtos saneantes à base de bactérias harmonizado no âmbito do Mercosul através da Resolução GMC n° 25/06. **Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 04 out. 2006. Disponível em:

<http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=24164&word=resolu%C3%A7%C3%A3o%20rdc>. Acesso: abr. 2007.

- SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Resolução SMA 37 de 30 ago. 2006. Dispõe sobre os requisitos dos laudos analíticos submetidos aos órgãos integrantes do Sistema Estadual de Administração da Qualidade Ambiental, Proteção, Controle e Desenvolvimento do Meio Ambiente e Uso Adequado dos Recursos Naturais – SEAQUA. **Diário Oficial Estado de São Paulo**, Poder Executivo, São Paulo, v. 116, n. 166. 31 ago. 2006. Seção 1, p. 26.

### 3 Definições

Para os efeitos desta norma, são adotadas as seguintes definições:

#### 3.1 Biotecnologia

Uso integrado da bioquímica, da microbiologia, da genética e da engenharia, com o propósito de viabilizar a aplicação tecnológica das potencialidades dos microrganismos, de células, de cultura de tecidos e de suas partes.

#### 3.2 Gene

Seqüência de ADN (ácido desoxirribonucleico), responsável pela síntese de uma ou mais cadeias polipeptídicas.

#### 3.3 Infecciosidade

Capacidade do microrganismo de invadir ou colonizar o hospedeiro.

#### 3.4 Microrganismo alóctone (não-indígena)

Microrganismo pertencente a espécie não nativa de determinada região biogeográfica, introduzido em um ecossistema, podendo persistir e até reproduzir-se por um tempo, participando ou não de interações e transformações ecológicas.

#### 3.5 Microrganismo autóctone (indígena)

Microrganismo pertencente a espécie nativa de determinada região biogeográfica, em que se pretende sua aplicação, onde participa de funções reprodutivas, ciclo de nutrientes e fluxos de energia.

#### 3.6 Microrganismo geneticamente modificado

Microrganismo cujo material genético, resposta genética ou ambos tenham sido modificados de uma forma que não ocorreria naturalmente.

#### 3.7 Patogenicidade

Capacidade do microrganismo causar danos (doença) ao hospedeiro após a infecção.

### 3.8 Patógeno

Microrganismo (incluindo vírus ou plasmídeo) que tem a capacidade de causar doença ao hospedeiro, após a infecção.

### 3.9 Produtos biotecnológicos

São os produtos resultantes da aplicação da biotecnologia, constituídos de microrganismos viáveis, metabólitos (como, por exemplo, enzimas), ou misturas de microrganismos e metabólitos.

### 3.10 Recursos ambientais

A atmosfera, as águas interiores, superficiais e subterrâneas, os estuários, o mar territorial, o solo, o subsolo, os elementos da biosfera, a fauna e a flora.

### 3.11 Tecnologia de ADN recombinante

Formação de novas combinações de material genético pela inserção de moléculas de ácidos nucleicos, produzidas por quaisquer meios *in vitro*, utilizando vetores de clonagem (vírus, plasmídeos bacterianos ou outros sistemas de vetores), que são capazes de propagação contínua quando inseridos em organismo hospedeiro, nos quais tais vetores não ocorrem naturalmente.

### 3.12 Toxicidade

Capacidade inerente de uma substância química de produzir um efeito adverso em consequência de sua interação com um organismo vivo.

## 4 Condições gerais

**4.1** Os produtos biotecnológicos sujeitos a esta norma devem estar registrados no IBAMA segundo Resolução CONAMA N° 314, de 29 de outubro de 2002 (BRASIL, 2002). A aplicação desses produtos será objeto de avaliação caso a caso, com base na sua identificação, classificação e seu uso pretendido e somente poderão ser utilizados se aprovados pela CETESB. Este procedimento é constituído das etapas seqüenciais e eliminatórias, descritas a seguir, que serão cumpridas e avaliadas uma a uma, conforme indicado no **Apêndice A**.

**4.2** Não será permitida a utilização de produtos biotecnológicos contendo microrganismos comprovadamente patogênicos, conforme definido no **Apêndice B**. O produtor deverá informar à CETESB a ocorrência de infecções oportunistas relatadas na literatura associadas aos microrganismos contidos no produto.

**4.3** Para o processo de avaliação o interessado deverá apresentar à CETESB a documentação estabelecida no **item 5** da presente norma, cuja terminologia, numeração e seqüência não devem ser alteradas. O formulário a ser utilizado está disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>

**4.3.1** O formulário devidamente assinado pelo representante legal e responsável técnico devidamente registrado em seu conselho profissional, juntamente com a documentação estabelecida, deverá ser encaminhado à Agência Ambiental da CETESB em cuja área de atuação está localizado o empreendimento no qual será utilizado o produto.

**4.3.2** A documentação dos ensaios requeridos, bem como quaisquer outros documentos ou informações adicionais, poderão ser solicitados ao empreendedor durante as etapas de avaliação.

**4.3.2.1** O não atendimento sem justificativa técnica por escrito no prazo previsto, implicará no arquivamento do processo, por despacho fundamentado, informando sobre a adoção das medidas cabíveis.

**4.3.3** Os ensaios para avaliação de uso de produtos biotecnológicos somente serão aceitos quando realizados em laboratórios acreditados conforme Resolução SMA N° 37 de 30.08.06 (SÃO PAULO, 2006).

**4.3.4** A CETESB somente aceitará ensaios provenientes de laboratórios estrangeiros com tradução juramentada, acompanhados de documento emitido pelo organismo responsável pela acreditação dos ensaios realizados em Boas Práticas de Laboratório – BPL (INMETRO, 2003) ou ISO/IEC 17025 (ISO; IEC, 2005) do país onde foi conduzido o estudo. O referido documento deverá ser assinado por responsável pelo organismo de acreditação e deverá conter as seguintes informações:

- Nome do laboratório executor do estudo;
- Endereço completo;
- Áreas de atuação;
- Data da última inspeção;
- Informações se o laboratório sofreu algum tipo de penalidade entre as inspeções.

**4.3.5** Quaisquer modificações a serem realizadas no produto, tais como, composição, condições de fabricação, fornecedores ou fabricantes, dosagem, indicações de uso, especificações enunciadas em rótulo, bula, embalagens, deverão ser submetidas à prévia aprovação do IBAMA e comunicadas à CETESB.

**4.3.5.1** Será cancelada a aprovação do uso do produto sempre que constatada modificação não autorizada, omissão de informações ou fornecimento de informações incorretas, sujeitando ainda o infrator às sanções legais cabíveis.

**4.3.6** As embalagens, os rótulos e as bulas dos produtos biotecnológicos deverão atender aos requisitos da legislação específica vigente.

**4.3.6.1** As embalagens devem ser projetadas e fabricadas de forma a impedir qualquer vazamento, evaporação, perda ou alteração de seu conteúdo e de modo a facilitar as operações de lavagem, classificação, reutilização, reciclagem e destinação final adequada.

**4.3.7** O licenciamento ambiental obtido para produção, fracionamento e reembalagem de produtos biotecnológicos não desobriga o interessado do atendimento a esta norma no ato da aplicação do produto comercial.

**4.3.8** O fabricante, distribuidor e o usuário do produto são responsáveis por sua preservação e cuidados necessários para seu armazenamento, manuseio e destinação final, tanto das embalagens como do produto comercial quando inservível.

## **5 Condições específicas**

No requerimento de solicitação de uso do produto, o interessado deverá apresentar as informações necessárias para a identificação, caracterização e uso pretendido do produto biotecnológico, que deverão ser fornecidas à CETESB em três etapas sequenciais e eliminatórias, descritas a seguir.

### **I – Primeira Etapa**

**5.1** Informações Gerais do Produto.

**5.1.1** Nome comercial do produto (comum, fantasia, nº de código).

**5.1.2** Identificação do fabricante e do distribuidor.

**5.1.2.1** Nome e endereço completos dos fabricantes (formuladores, manipuladores) e do distribuidor.

**5.1.2.2** Número do CNPJ.

**5.1.2.3** Cópias das licenças ambientais, se houver.

**5.1.3** Nome do responsável técnico e registro profissional.

**5.1.4** Cópia autenticada do registro no IBAMA.

**5.1.5** Descrição e forma de apresentação do produto.

**5.1.6** Usos indicados para o produto.

**5.1.7** Classificação taxonômica dos microrganismos e nome científico até nível de espécie.

**5.1.8** Características dos microrganismos presentes no produto utilizando os critérios definidos no **Apêndice B**.

**5.1.9** Composição do produto: concentração e identificação de todos os componentes, com suas respectivas funções, comprovadas por laudos técnicos, informando a metodologia de quantificação.

**5.1.10** Teores de impurezas significativas do ponto de vista toxicológico ou ambiental, comprovados por laudos técnicos.

**5.1.11** Descrição do processo de síntese, formulação ou ambos.

**5.1.12** Propriedades físico-químicas: aspecto (cor, forma); odor; pH; massa específica; e, quando aplicável, reatividade com outros compostos ou produtos e viscosidade.

**5.1.13** Condições de segurança e proteção individual no armazenamento, manuseio e aplicação: descrição do Equipamento de Proteção Individual (EPI) e dos efeitos na saúde. Orientação médica, quando pertinente. Quando cabível, apresentar as seguintes propriedades: ponto de ebulição (°C); pressão de vapor a 20°C (mm Hg); ponto de fusão (°C); solubilidade ou miscibilidade em água (g/100g água); coeficiente de evaporação; ponto de fulgor (°C) e limites de inflamabilidade.

**5.1.14** Descrição dos impactos ambientais potenciais decorrentes da aplicação do produto.

**5.1.15** Descrição do modo de ação do produto no(s) substrato(s) atingido(s).

**5.1.16** Controle de Qualidade do Produto: indicar o método utilizado para garantir a ausência de substâncias ou microrganismos indesejados, uniformidade e padronização do produto.

## **5.2** Informações Específicas do Produto

Dependendo das características do produto a ser utilizado e da sua origem, apresentar as informações listadas nos **itens 5.2.1, 5.2.2** ou ambos.

### **5.2.1** Produto contendo microrganismos

**5.2.1.1** Identificação dos organismos presentes no produto incluindo, além da classificação taxonômica e nome científico, a procedência, informações sobre ciclo biológico, características específicas e método de identificação (taxonomia convencional, molecular ou ambas), com os respectivos limites de quantificação, usando as técnicas específicas mais adequadas. No caso de cultura depositada em coleção, informar o local e referência: instituição, endereço completo e código do depósito.

**5.2.1.2** Descrição do *habitat* natural dos microrganismos ou de suas linhagens parentais, incluindo informações sobre predadores naturais, parasitas e organismos competidores.

- a) Ocorrência, distribuição geográfica e local de isolamento;
- b) Função ecológica ou papel na cadeia alimentar dos organismos.

**5.2.1.3** Informações sobre as interações dos microrganismos e os hospedeiros, especialmente infecciosidade e patogenicidade.

**5.2.1.4** Informações ou dados de literatura sobre a competitividade ambiental relativa do microrganismo.

**5.2.1.5** Informações ou dados de literatura sobre o potencial de sobrevivência, sua capacidade de reprodução no ambiente e trocas genéticas com outros microrganismos.

**5.2.1.6** Identificação e quantificação dos demais componentes não microbianos do produto, adicionados ou utilizados como suporte, tais como solventes, estabilizantes, conservantes,

nutrientes, emulsificantes, tensoativos (surfactantes), e outros.

**5.2.1.7** Caso contenha Organismos Geneticamente Modificados (OGM), além de atender na íntegra à legislação pertinente, devem ainda ser fornecidas as seguintes informações sobre o(s) microrganismo(s):

- a) Métodos usados para a alteração genética;
- b) Identidade e localização do segmento do gene alterado, inserido ou deletado (origem, natureza, dados de seqüência);
- c) Região de controle do gene e descrição do novo fenótipo ou características que são expressas;
- d) Potencial de troca e transferência genética com outro organismo e estabilidade genética de qualquer seqüência inserida;
- e) Competitividade ambiental relativa comparada com as linhagens parentais.

**5.2.2** Produto contendo metabólitos (enzimas, polímeros e biosurfactantes).

**5.2.2.1** Identificação do produto metabólito: nome, natureza, medida da atividade e formas de inativação.

**5.2.2.2** Identificação do(s) microrganismo(s) utilizado(s) na obtenção desse produto, conforme item 5.2.1.

**5.2.2.3** Identificação e quantificação dos demais componentes não biológicos do produto, adicionados ou utilizados como suporte, tais como solventes, estabilizantes, conservantes, nutrientes, emulsificantes, tensoativos (surfactantes), dentre outros.

**5.2.2.4** Para produtos aplicados no solo, deverá ser demonstrado, por meio de teste respirométrico, que esses não interferem na atividade microbiana do solo.

## **II – Segunda Etapa**

A segunda etapa é aplicável somente para os produtos cujo uso foi aprovado na etapa anterior.

**5.3** Informações sobre a aplicação do produto.

**5.3.1** Descrição do sistema ou local onde será feita a aplicação.

**5.3.2** Uso proposto do produto (sistema ou recurso ambiental onde será utilizado).

**5.3.3** Descrição da forma de aplicação: forma de preparo da diluição; dose de aplicação para cada uso pretendido; frequência de aplicação; método de aplicação e restrições de uso (situações onde não se recomenda o uso do produto).

**5.3.4** Destinação do produto e seus derivados ou subprodutos após utilização.

- 5.3.5** Eficiência estimada: relação entre quantidade aplicada e o resultado esperado.
- 5.3.6** Descrição do modo de ação do produto no(s) substrato(s) atingido(s).
- 5.3.7** Dados sobre a biodegradabilidade imediata (solos locais e água).
- 5.3.8** Dados toxicológicos e de patogenicidade em mamíferos especificados no **Apêndice C- item C1**.
- 5.3.9** Dados sobre a avaliação ecotoxicológica conforme especificado no **Apêndice C – item C2**.
- 5.3.10** Descrição do recipiente utilizado na aplicação do produto: tipo, material, capacidade volumétrica, resistência à corrosão.

### **III – Terceira Etapa**

#### **5.4** Avaliação ambiental da aplicação do produto.

Esta etapa se destina à apresentação de informações referentes aos efeitos ambientais da aplicação do produto biotecnológico, assim como à toxicidade da mistura deste produto, contaminantes, metabólitos e subprodutos.

Para obter amostras representativas dos efluentes líquidos, resíduos sólidos e emissões gasosas que serão lançados, direta ou indiretamente, ao ambiente, deverão ser realizados ensaios em escala reduzida (piloto ou bancada), para avaliação de potenciais riscos ambientais, com a aplicação do produto ao efluente, resíduo ou material específico a ser tratado, nas mesmas condições operacionais que se pretenda aprovar a utilização.

##### **5.4.1** Ensaios para avaliar os efeitos ambientais da aplicação do produto.

**5.4.1.1** O interessado deverá apresentar ensaios de avaliação dos efeitos ambientais de aplicação do produto.

**5.4.1.2** Caso já tenham sido realizados ensaios com a aplicação do produto biotecnológico para o uso ou tratamento específico que se pretenda obter aprovação, o interessado deverá apresentar um relatório detalhado contendo todas as informações sobre metodologia empregada, descrição dos resultados obtidos, avaliação das informações obtidas na parte experimental e as conclusões destes ensaios à CETESB, para apreciação e manifestação.

**5.4.1.3** Se a avaliação da CETESB concluir pela aceitação dos ensaios já realizados e aprovar o uso específico do produto biotecnológico em análise, deverão ser adotadas as orientações descritas a partir do **item 6**.

**5.4.1.4** Caso tais ensaios ainda não tenham sido efetuados, ou aqueles já realizados não tenham sido considerados adequados pela CETESB, o interessado em utilizar o produto biotecnológico deverá preparar uma “Proposta de Ensaios para Avaliação de Efeitos Ambientais” e submetê-lo à CETESB para apreciação e manifestação, previamente à realização destes estudos. As diretrizes para a realização destes ensaios são as seguintes:

- a) Os ensaios devem ser planejados e executados para um conjunto de três componentes:
- Meio específico em que o produto biotecnológico será aplicado (efluentes líquidos, resíduos sólidos, solo contaminado, etc.);
  - Condição de aplicação pretendida; e
  - Produto biotecnológico a ser aplicado.

A alteração de qualquer um dos componentes do conjunto implica na necessidade de planejamento e realização de novos ensaios.

- b) Os pareceres e resultados obtidos nos ensaios realizados serão única e exclusivamente válidos para as condições destes ensaios.
- c) As condições de todos os ensaios, bem como os critérios adotados para a definição das mesmas, devem ser descritas detalhadamente, incluindo:
- A escala em que serão realizados os ensaios;
  - A duração dos ensaios e critérios para avaliação de sua estabilidade operacional;
  - O número de condições experimentais avaliadas e suas replicatas;
  - Os parâmetros de controle das variáveis dos ensaios e do seu monitoramento;
  - Destinação dos materiais (efluentes líquidos, resíduos sólidos, solo contaminado, etc) remanescentes e não utilizados e resíduos gerados nos ensaios considerando sua caracterização.
- d) Os materiais nas correntes de saída dos sistemas de tratamento ou aplicação do produto biotecnológico (como material tratado, subprodutos, resíduos do tratamento, sólidos, líquidos ou gasosos) devem ser caracterizados de forma representativa em sua composição e toxicidade.

**5.4.1.5** Uma vez aprovada a “Proposta de Ensaio para Avaliação de Efeitos Ambientais” pela CETESB, o interessado deverá executar a referida proposta e elaborar um Relatório Técnico que deve conter, no mínimo, as seguintes informações:

- Descrição das características do produto testado (resumo do **item 5.1.**);
- Descrição detalhada das condições dos ensaios e dos subprodutos gerados, incluindo as metodologias operacionais e analíticas adotadas;
- Descrição de métodos estatísticos utilizados;
- Apresentação de todos os resultados obtidos durante os ensaios, inclusive os laudos de determinações analíticas;
- Apresentação de uma discussão detalhada dos resultados obtidos, considerando também eventuais informações já disponíveis na literatura;
- Apresentação das conclusões obtidas durante os ensaios;
- Identificação da entidade e/ou instituição onde se realizaram os ensaios e dos responsáveis pelo conteúdo do relatório.

**5.4.1.6** O referido relatório técnico deve ser entregue à CETESB que, após sua análise, se manifestará quanto à aprovação ou não do uso pretendido para o produto biotecnológico em questão.

## **6 Monitoramento**

O produto aprovado, após o cumprimento das etapas previstas nesta norma, deve ter sua aplicação no meio ambiente acompanhada por um programa de monitoramento previamente submetido à aprovação da CETESB, ou seja, o interessado somente poderá iniciar o uso do produto biotecnológico quando este plano for aprovado pela CETESB. Caso sejam constatados danos ambientais não previstos, no decorrer do uso do produto, este será imediatamente suspenso e o interessado/usuário deverá adotar medidas emergenciais de contenção, informar à CETESB e propor medidas de recuperação.

REVOGADA

## 7 Referências

ABNT. **NBR 12713**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2004a. 21 p.

ABNT. **NBR 15088**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro, 2004b. 19 p.

ABNT. **NBR 13373**: ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica - método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2005a. 15 p.

ABNT. **NBR 12648**: ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica - método de ensaio com algas. Rio de Janeiro, 2005b. 24 p.

ABNT. **NBR 15308**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - método de ensaio com misidáceos (Crustacea). Rio de Janeiro, 2005c. 17 p.

ABNT. **NBR 15411**: ecotoxicologia aquática - determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (ensaio de bactéria luminescente). Rio de Janeiro, 2006a. 18 p. Parte 1: método utilizando bactérias recém-cultivadas.

ABNT. **NBR 15411**: ecotoxicologia aquática - determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (ensaio de bactéria luminescente). Rio de Janeiro, 2006a. Parte 2: método utilizando bactérias desidratadas. 14 p.

ABNT. **NBR 15411**: ecotoxicologia aquática - determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (ensaio de bactéria luminescente). Rio de Janeiro 2006a. Parte 3: método utilizando bactérias liofilizadas. 15 p.

ABNT. **NBR 15350**: ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica de curta duração - método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea). Rio de Janeiro, 2006b. 17 p.

ADAMS, S.M. (Ed.). **Biological indicators of stress in fish**: symposium American Fish Society, 8. Maryland: American Fish Society, 1990. 1991 p.

ANVER, M. R.; POND, C. Biology and diseases of amphibians. In: FOX, J. G.; COHEN, E. J.; LOEW, F.M. (Ed.). **Laboratory animal medicine**. Orlando: Academic Press, 1984.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA. Resolução nº 314, de 29 de outubro de 2002. Dispõe sobre o registro de produtos destinados à remediação e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 nov. 2002. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res02/res31402.html>>. Acesso em: abr. 2007.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o

Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória nº 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 28 mar. 2005. Seção 1, p. 1. Disponível em: <<http://www.mct.gov.br/index.php/content/view/1034.html>>. Acesso em: abr. 2007.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Decreto nº 5.591, de 22 de novembro de 2005. Regulamenta dispositivos da Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, que regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 nov. 2005. Seção 1, p. 1. Disponível em: <<http://www.mct.gov.br/index.php/content/view/1041.html>>. Acesso em: abr. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução RDC nº 179, de 03 de outubro de 2006. Aprova o regulamento técnico para produtos saneantes à base de bactérias harmonizado no âmbito do Mercosul através da Resolução GMC nº 25/06. **Diário Oficial da União**: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 04 out. 2006. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=24164&word=resolu%C3%A7%C3%A3o%20rdc>>. Acesso: abr. 2007.

BRENNER, D.J.; KRIEG, N.R.; STALEY, J.T. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Springer, 2005. v. 2: the proteobacteria.

BUCHANAN, A. M. **Veterinary microbiology**. Amsterdam, Elsevier Scientific, 1982.

CASTRO, V.L.S.S. et al. **Protocolo**: avaliação de agentes microbianos de controle de pragas para registro como biopesticidas. Vol. II Testes toxicopatológicos em mamíferos. Jaguariúna, SP. EMBRAPA, 1999. 38 p.

COLLIER, L.; BALOWS, A.; SUSSMAN, M. **Microbiology and microbial infections**. 9<sup>th</sup> ed. Edited by D. Brian, W. J. Mahy and Leslie Collier. London: Arnold, 1998. 1086 p. v. 1: virology.

COLLIER, L.; BALOWS A.; SUSSMAN, M. **Microbiology and microbial infections**. 9<sup>th</sup> ed. Edited by Albert Balows and Brian I. Duerden. London: Arnold, 1998. 1501 p. v. 2: systematic bacteriology.

COLLIER, L.; BALOWS A.; SUSSMAN, M. **Microbiology and microbial infections**. 9<sup>th</sup> ed. Edited by William J. Hausler Jr and Max Sussman. London: Arnold, 1998. 1163 p. v. 3: bacteriology infections.

COLLIER, L.; BALOWS A.; SUSSMAN, M. **Microbiology and microbial infections**. 9<sup>th</sup> ed. Edited by Libero Ajello and Roderick J. Hay. London: Arnold, 1998. 711 p. v. 4: medical mycology.

COLLIER, L.; BALOWS A.; SUSSMAN, M. **Microbiology and microbial infections**. 9<sup>th</sup> ed. Edited by Julius P. Kreier and Derek Wakelin. London: Arnold, 1998. 701 p. v. 5: parasitology.

DAVIDSON, E. **Pathogenesis of invertebrate microbial diseases**. Osmun: Allanheld, 1981.

DORNER, F.; DREWS, J. (Ed.). Pharmacology of bacterial toxins. In: BOVET, D.; SARTORELLI, A.C.; BOWMAN, W.C. (Ed.). **International encyclopedia of pharmacology and therapeutics**. Oxford: Pergamon, 1986. Section 119, 748 p. (Pharmacology and therapeutics, suppl. 19).

ELLIS, A.E. **Fish and shellfish pathology**. London: Academic Press, 1985.

EUROPA. Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de marzo de 2001, sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente y por la que se deroga la Directiva 90/220/CEE del Consejo. **Diário Oficial de Las Comidades Europeas**, Bruselas, L 106, v. 44, 17 abr. 2001. 38 p. Disponível em: <[http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/es/oj/2001/l\\_106/l\\_10620010417es00010038.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/es/oj/2001/l_106/l_10620010417es00010038.pdf)>. Acesso em: abr. 2007.

FEACHEM, R.G. et al. **Sanitation and disease: health aspects of excreta and wastewater management**. Chichester: John Wiley & Sons, 1983.

FRIGHETTO, R.T.S.; VALARINI, P.J. **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo: manual técnico**. Jaguariúna, SP. EMBRAPA: FUNEP, 2000. 198 p.

HITCHNER, S.B. **Isolation and identification of avian pathogens**. 2<sup>nd</sup> ed. College Station: American Association of Avian Pathologists, 1980.

INMETRO. **NIT - DICLA 028: critérios para o credenciamento de laboratórios de ensaios segundo os princípios BPL - boas práticas de laboratório**. Rio de Janeiro, 2003. 30 p. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/laboratorios/bpl.asp>>. Acesso em: abr. 2007.

ISO; IEC. **ISO/IEC 17025: general requirements for the competence of testing and calibration laboratories**. [S.L.], 2005.

LENNETTE, E.H. **Manual of clinical microbiology**. 4<sup>th</sup> ed. Washington: American Society for Microbiology, 1985.

MARCUS, L.C. **Veterinary biology and medicine of captive amphibians and reptiles**. Philadelphia: Lea and Febiger, 1981.

MILEWSKI, E.A. Field testing of microorganisms modified by recombinant DNA techniques: applications issues and development of "Points to Consider" document. **Recombinant DNA. Technical Bulletin**, v. 8, p. 102-108, 1985.

NATIONAL ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY APPLICATIONS CORPORATION (United States). **Evaluation methods manual for oil spill response agents**. Pittsburgh, PA: University of Pittsburgh: Applied Research Center, 1993. 53 p.

OECD. OECD:207 - eathworm, acute toxicity tests. In: \_\_\_\_\_. **Guidelines for testing of chemicals**. Bedfordshire, 1984. v. 1, n. 2, p.1-9.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 2.ed. Maringá: EDUEM, 2002. 305 p.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Resolução SMA 37 de 30 ago. 2006. Dispõe sobre os requisitos dos laudos analíticos submetidos aos órgãos integrantes do Sistema Estadual de Administração da Qualidade Ambiental, Proteção, Controle e Desenvolvimento do Meio Ambiente e Uso Adequado dos Recursos Naturais – SEAQUA. **Diário Oficial Estado de São Paulo**, Poder Executivo, São Paulo, v. 116, n. 166, 31 ago. 2006. Seção 1, p. 26.

SCHUHARDT, V.T. **Pathogenic microbiology**. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1978.

SIMBERLOFF, D. Community effects of introduced species. In: NITECKI, M.H. **Biotic crises in ecological and evolutionary time**. New York: Academic Press, 1981. p. 79-107.

SPARKS, A.K. **Synopsis of invertebrate pathology exclusive of insects**. Holland: Elsevier, 1985.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERS, O.F. **Microbiologia**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1999.

UNITED STATES. Microbial products of biotechnology: final regulation under the toxic substances control act. **Federal Register**, v. 62, n. 72, apr. 1997. p. 17909-17958.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services Center for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. **Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (BMBL)**. 4<sup>th</sup> ed. Washington, 1999. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl4/bmbl4toc.htm>>. Acesso em: abr. 2007.

UNITED STATES. EPA. **Accomplishments and goals in reducing toxic chemical risk: FY 1989 Report to Congress on the Toxic Substances Control Act (TSCA) - pesticides and toxic substances**. Washington, DC, 1990. (TS-799).

UNITED STATES. EPA. OPPTS. **Ecological effects test guidelines**. Washington, DC, 1996. (EPA 712-C-96-154). OPPTS 850.4200: seed germination/root elongation toxicity tests. Disponível em: <[http://www.epa.gov/opptsfrs/publications/OPPTS\\_Harmonized/850\\_Ecological\\_Effects\\_Test\\_Guidelines/Drafts/850-4200.pdf](http://www.epa.gov/opptsfrs/publications/OPPTS_Harmonized/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines/Drafts/850-4200.pdf)>. Acesso em: abr. 2007.

UNITED STATES. EPA. **Microbial pesticide test guidelines**. Washington, DC, [2006]. (Group C: toxicology test guidelines - Series 885.3000). Disponível em: <[http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/regtools/guidelines/microbial\\_gdlns.htm](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/regtools/guidelines/microbial_gdlns.htm)>. Acesso em: abr. 2007.

UNITED STATES. EPA. **Biochemical pesticide test guidelines**. Washington, DC, [2006]. (Biochemical pesticides toxicology data requirements: series 870). Disponível em: <[http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/regtools/guidelines/biochem\\_gdlns.htm](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/regtools/guidelines/biochem_gdlns.htm)>. Acesso em: abr. 2007.

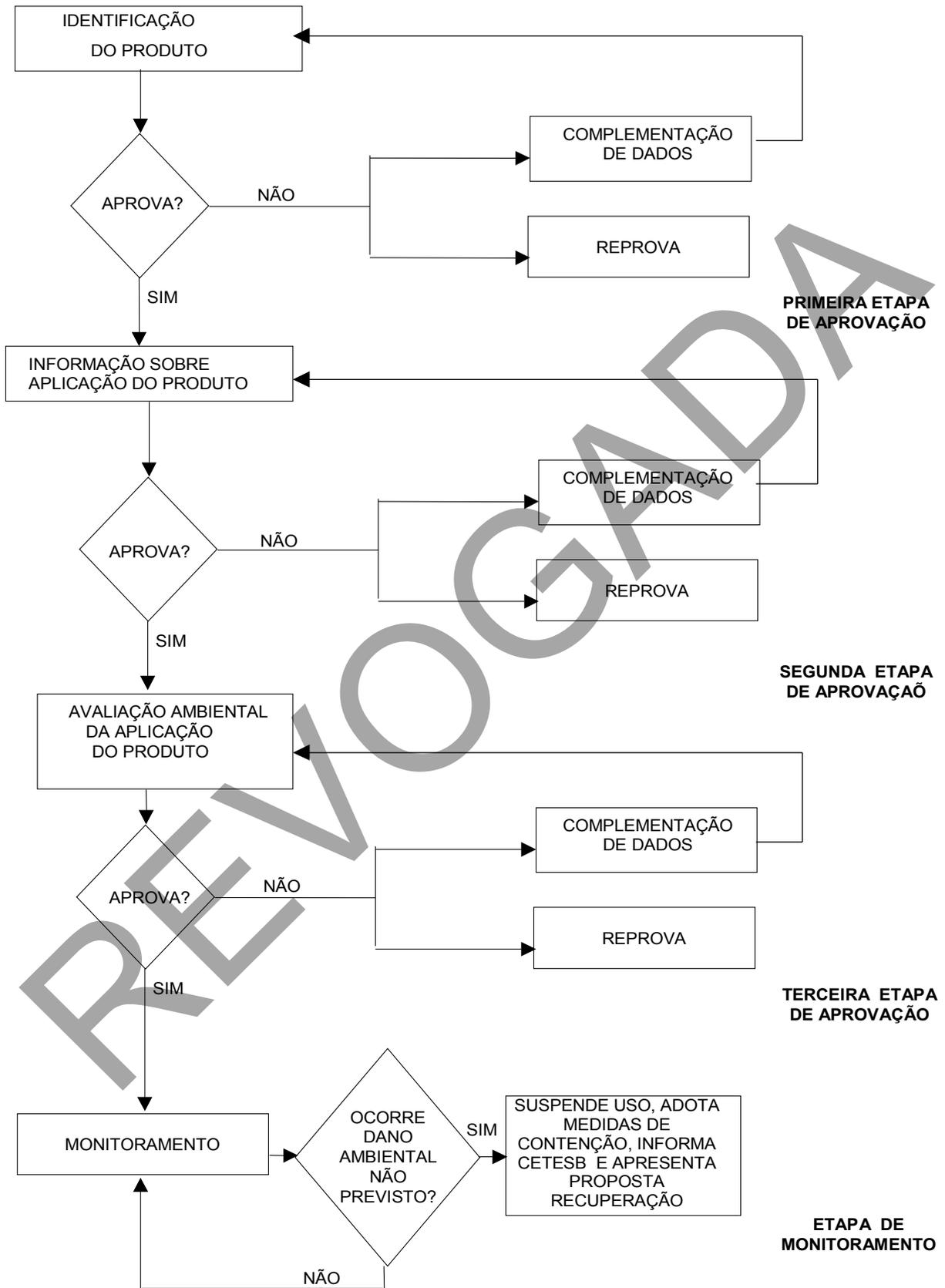
VERONESI, R. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976.

WARREN, J.W. **Diseases of hatchery fish**. 6<sup>th</sup> ed. United States: Fish and Wildlife Service Pacific Region, 1991. 92 p.

... / Apêndice A

REVOGADA

**APÊNDICE A - Fluxograma das etapas para avaliação do uso do produto biotecnológico**



... / Apêndice B

**APÊNDICE B - Critérios para definições se o produto biotecnológico contém microrganismos patogênicos, geneticamente modificados, autóctones ou alóctones.**

**B1 Microrganismo patogênico**

O microrganismo será considerado patogênico:

- a) Se pertencer a uma espécie patogênica ou a espécie contendo linhagens patogênicas de acordo com fontes técnico-científicas reconhecidas;
- b) Se for derivado ou intencionalmente modificado de forma a conter material genético de um microrganismo patogênico, exceto se o material transferido não contiver seqüências codificadoras de características diretamente associadas à patogenicidade;
- c) Quando existirem dúvidas ou controvérsias a respeito da patogenicidade, ele será considerado patogênico até que o fabricante, distribuidor, ou ambos demonstrem o contrário.

**Nota:** Os vírus ou qualquer microrganismo que contenha material genético de vírus serão avaliados em relação à sua patogenicidade por uma comissão técnica de especialistas.

Os patógenos oportunistas estarão excluídos desse grupo, exceto se for observado um aumento no número de relatos de infecções oportunistas.

**B2 Microrganismo geneticamente modificado**

O microrganismo será considerado geneticamente modificado se submetido a quaisquer técnicas genéticas que não ocorram no pareamento, recombinação natural ou ambos, a saber:

- a) Técnicas de ADN recombinante;
- b) Técnicas que utilizam incorporação direta em um organismo de material genético preparado fora dele, incluindo microinjeção, macroinjeção e microencapsulamento;
- c) Técnicas de fusão celular (envolvendo duas ou mais células) ou de hibridação, nas quais se formam células vivas com novas combinações de material genético por meio da utilização de métodos que não ocorrem naturalmente;
- d) Técnicas que utilizam agentes físicos e químicos, ou ambos para indução e seleção de mutantes.

**B3 Microrganismo autóctone (indígena)**

Microrganismo pertencente à espécie nativa dentro dos limites continentais geográficos do Brasil e de seus arquipélagos e ilhas, reservadas as características ecológicas locais.

**B4 Microrganismo alóctone (não-indígena)**

Um microrganismo será considerado alóctone se evoluiu ou foi isolado fora dos limites continentais geográficos do Brasil e de seus arquipélagos e ilhas, reservadas as características ecológicas locais.

... / Apêndice C

REVOGADA

## APÊNDICE C - Ensaios para avaliação toxicológica, ecotoxicológica e de patogenicidade

### C1 Avaliação Toxicológica e de Patogenicidade

As avaliações toxicológicas, para produtos que contenham metabólitos, e de patogenicidade, para produtos que contenham microrganismos, deverão ser realizadas por meio de uma série de ensaios, divididos em duas fases distintas:

- Fase I – Ensaios de curta duração listados na **Tabela C1** em mamíferos empregando uma dose máxima única do produto testado para avaliar a toxicidade, infecciosidade e patogenicidade. Se nenhum efeito adverso for observado na Fase I, não haverá necessidade de se realizar nenhum dos outros ensaios da Fase II.

**Tabela C1 - Avaliação toxicológica e de patogenicidade em mamíferos**

Ensaio (E) / Informação (I)	Método (Bibliografia de Referência)
Toxicidade e patogenicidade oral aguda (E)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• EPA Series 885 – Group C (USEPA on line)</li> <li>• EPA Series 870 (USEPA on line)</li> <li>• Protocolo 3-TTM EMBRAPA (EMBRAPA, 1999)</li> </ul>
Toxicidade e patogenicidade pulmonar aguda (E)	
Toxicidade e patogenicidade intravenosa aguda (E)	
Incidentes de hipersensibilidade (I)	
Toxicidade cutânea aguda (E)	
Irritação e Infecção ocular primária (E)	
Irritação dérmica primária (E)	

- Fase II – Ensaios para avaliar uma situação particular, quando se observa toxicidade ou infectividade na Fase I, sem evidências de patogenicidade. Nessa fase estudos de toxicidade e patogenicidade subcrônica serão solicitados e as vias de exposição devem ser correspondentes àquelas em que foram observados os efeitos adversos na Fase I.

### C2 Avaliação Ecotoxicológica

Os ensaios ecotoxicológicos listados na **Tabela C2** devem ser realizados para os ambientes que possam ser impactados pela aplicação do produto.

**Tabela C2 – Ensaios ecotoxicológicos**

<b>Ambiente</b>	<b>Ensaio</b>	<b>Método (norma – Referência)</b>
Água doce	<i>Daphnia</i> spp (CE(I)50)	NBR 12713 - ABNT, 2004a
	Peixes (CL(I)50)	NBR 15088 - ABNT, 2004b
	<i>Ceriodaphnia</i> spp	NBR 13373 - ABNT, 2005a
	Algas	NBR 12648 - ABNT, 2005b
	<i>Hyalella</i> spp	NBR 15470 - ABNT, 2007
	<i>Vibrio fischeri</i> (CE 20)	NBR 15411 - ABNT, 2006a
Marinho e estuarino	Misidáceos	NBR 15308 - ABNT, 2005c
	Ouriço-do-mar	NBR 15350 - ABNT, 2006b
	<i>Vibrio fischeri</i> (CE 20)	NBR 15411 - ABNT, 2006a
Solo	Minhoca	OECD:207 - OECD, 1984
	Plantas	EPA OPPTS 850.4200 - USEPA, 1996

**Nota:** Ensaios complementares poderão ser solicitados de acordo com o uso específico do produto.