



MANUAL DE SEGURANÇA
BIOLÓGICA
UNIFESP

Incidentes com exposição a agentes biológicos

Informar imediatamente o incidente; você pode precisar de socorro imediato!

1. Ferimentos com agulhas / perfuração: Lavar a área afetada com sabão antisséptico e água morna por 15 minutos.
2. Exposição à membrana mucosa: Lavar a área afetada por 15 minutos utilizando lava-olhos.

Para todos os incidentes de exposição: Notificar o investigador principal ou supervisor (se disponível) para iniciar um relatório de acidente ou incidente de exposição.

Procure assistência médica imediatamente (dentro de 1-2 horas).

Telefones de emergência

Polícia: 190

Corpo de Bombeiros: 192

Ambulância: 193

SESMT: 5576-4842 - Segunda à sexta-feira das 8h às 17h.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	4
PROCEDIMENTOS GERAIS DE EMERGÊNCIA	5
PREFÁCIO	7
ESCOPO	7
RESPONSABILIDADES	8
REGRAS, REGULAMENTOS E ORIENTAÇÕES	10
DEFINIÇÃO DE RISCO BIOLÓGICO E BIOSSEGURANÇA	13
AVALIAÇÃO DE RISCO	14
CLASSES DE RISCO	14
AVALIAÇÃO DE RISCO DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS	15
AVALIAÇÃO DE RISCO DE CULTURA DE CÉLULAS E TECIDOS	16
PROCEDIMENTOS DE RISCO EM LABORATÓRIO	16
REGRAS BÁSICAS EM CASO DE INCÊNDIO	17
PRÁTICAS GERAIS DE LABORATÓRIO	18
Vias de infecção	18
Acesso	21
Equipamento de proteção individual	21
Serviço de limpeza	23
Treinamento	24
Alimentos e Bebidas	24
Saúde e vigilância médica	24
NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA	25
Nível de Biossegurança 1 (NB-1)	26
Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-1	26
Práticas adicionais para o NB-1	28
Equipamentos de contenção para o NB-1	28
Instalações laboratoriais (NB-1)	28
Nível de Biossegurança 2 (NB-2)	30
Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-2	30
Práticas adicionais para o NB-2	31
Equipamentos de contenção para o NB-2	32
Instalações laboratoriais (NB-2)	32
Nível de Biossegurança 3 (NB-3)	33
Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-3	33
Práticas adicionais para o NB-3	34

Equipamentos de contenção para o NB-3	35
Instalações laboratoriais (NB-3)	35
CABINES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA (CSB)	38
PRÁTICAS RECOMENDADAS	43
Pipetadores e pipetas	43
Homogeneizadores, agitadores, liquidificadores e sonicadores	44
Autoclave	45
Citômetros de fluxo	46
Perfurocortantes	46
Criostatos	47
Centrífugas	48
Liofilizadores e ampolas	48
Esterilizadores de alça e Bicos de Bunsen	49
DIRETRIZES PARA TRABALHAR COM CULTURA DE TECIDOS/ LINHAGENS CELULARES	49
PROCESSOS DE DESCONTAMINAÇÃO	50
Limpeza de material de laboratório	51
Métodos de descontaminação	52
Métodos de esterilização	54
RESÍDUOS POTENCIALMENTE INFECTANTES	59
RESÍDUOS PERFUROCORTANTES	62
DERRAMAMENTO DE MATERIAL COM RISCO BIOLÓGICO	63
TRANSPORTE DE MATERIAL BIOLÓGICO	67
UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS NA PESQUISA	72
USO DE MATERIAL HUMANO NA PESQUISA	73
UTILIZAÇÃO DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS (OGM)	73
PESQUISAS COM A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA	73

INTRODUÇÃO

A Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) é uma instituição de ensino superior pública internacionalmente reconhecida. Preocupada com as questões ambientais e a segurança de pesquisadores, servidores, funcionários e estudantes, e visando ao desenvolvimento de melhores práticas na área de biossegurança e biotecnologia, a UNIFESP tem promovido diversas ações. A elaboração deste Manual de Segurança Biológica, a ser utilizado como um guia pelos laboratórios da instituição (elencando procedimentos adequados para contenção de riscos biológicos por meio dos princípios das boas práticas laboratoriais e da legislação pertinente), vem complementar a implantação da Política de Segurança Biológica da UNIFESP. A PBio-UNIFESP estabelece normas técnicas de segurança e mecanismos de gerenciamento sobre construção, cultivo, produção, manipulação, transporte, transferência, importação, exportação, armazenamento, pesquisa, liberação no meio ambiente e descarte de quaisquer materiais que ofereçam risco biológico, tais como agentes infecciosos e etiológicos causadores de doenças humanas, animais e plantas, toxinas de origem biológica e material de origem humana. Além disso, a Pbio-UNIFESP tem como diretrizes prevenir, reduzir, controlar ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam comprometer a saúde humana, animal, vegetal e meio ambiente.

No Brasil, o termo biossegurança compreende tanto os processos legais referentes à manipulação de organismos geneticamente modificados (OGMs) e de células tronco, regulamentada pela Lei no 11.105/05, quanto a biossegurança praticada, relacionada aos riscos químicos, físicos, biológicos, ergonômicos e de acidentes encontrados nos ambientes laborais, amparada principalmente pelas normas regulamentadoras do Ministério do Trabalho e Emprego (MTE), Ministério da Saúde (MS), Resoluções da Agência Nacional de Vigilância em Saúde (ANVISA) e do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Os laboratórios da UNIFESP em que existem riscos biológicos são ambientes onde geralmente se realizam atividades de ensino, pesquisa e extensão de forma isolada ou em conjunto. Dessa forma, no mesmo espaço, convivem pessoas, equipamentos, reagentes, soluções, agentes e amostras biológicas e os resíduos gerados nessas atividades. Desse modo, é inevitável a exposição das pessoas aos diferentes tipos de riscos conhecidos. É fundamental, portanto, o conhecimento da biossegurança a fim de gerenciar os riscos nas atividades desenvolvidas, eliminando-os ou minimizando-os.

Este manual se concentra nos Níveis de Biossegurança 1 e 2, uma vez que mais de 99% dos laboratórios da UNIFESP se enquadram nessas designações. Um manual separado está disponível para pesquisadores que trabalham em laboratórios de pesquisa de Biossegurança Nível 3. Nenhum trabalho com agentes do Nível de Biossegurança 4 pode ser conduzido na UNIFESP.

PROCEDIMENTOS GERAIS DE EMERGÊNCIA

A seguir, encontram-se procedimentos gerais em casos de emergência que possam vir a ocorrer na Universidade e, em seguida, links para recursos adicionais que podem ajudá-lo a desenvolver procedimentos de emergência mais específicos para sua área de pesquisa e/ou departamento.

Situações de emergência

Os seguintes tipos de eventos devem ser tratados como uma emergência:

- Se houver incêndio e/ou explosão, ou se houver sinais de fumaça.
- Se houver derramamento ou exposição a radioativos, produtos químicos, material biológico ou qualquer substância potencialmente perigosa.
- Se alguém foi ferido ou está passando por algum tipo de intercorrência médica. Alguns sintomas a se observar são:
 - ✓ hemorragia descontrolada;
 - ✓ perda de consciência;
 - ✓ dificuldade respiratória.

Procedimentos gerais

- Informe a todos ao seu redor a respeito da situação de emergência.
- **Ligue 192** (Serviço Público de Remoção de Doentes - ambulância) ou **193** (Corpo de Bombeiros)
 - Certifique-se de chamar o 192 ou 193 para qualquer situação semelhante à descrita acima, mesmo se você não tiver certeza se a situação é uma emergência. O atendente pode determinar se é necessário enviar o pessoal de emergência.
 - Se o incidente envolver produtos químicos, materiais biológicos ou radioativos, contate também o Divisão de Gestão Ambiental do seu *campus* durante o horário comercial (segunda a sexta-feira, 8:00 – 17:00).
 - Certifique-se de dizer ao atendente a sua localização e descrever claramente o incidente.
- Administrar os primeiros socorros, se necessário.
- Evacuar a área, se necessário.

Para assistência envolvendo a segurança do trabalhador, contatar:

Coordenadoria de Segurança, Medicina do Trabalho e Perícias Médicas (SESMT)

De segunda-feira a sexta-feira, das 08:00 às 17:00.

Endereço: Rua Mirassol, 315, Vila Clementino - CEP: 04020-060 - São Paulo/SP.

Tel.: (11) 5576-4842.

E-mail: sesmt@unifesp.br.

Para assistência envolvendo radiação, químicos e/ou segurança biológica, contatar:

Departamento de Gestão e Segurança Ambiental - UNIFESP (DGA-UNIFESP)

De segunda-feira a sexta-feira, das 08:00 às 17:00.

Endereço: Rua Sena Madureira, 1500, 3º andar, Vila Clementino – CEP: 04021-001 - São Paulo/SP.

Voip: 8821.

E-mail: dga@unifesp.br.

Divisão de Gestão Ambiental	VoIP
Campus Baixada Santista	3913
Campus Diadema	3326
Campus Guarulhos	6185
Campus Osasco	5563
Campus São José dos Campos	9706
Campus São Paulo	1800
Hospital São Paulo	5576-4694

PREFÁCIO

Este manual foi desenvolvido pelo Departamento de Gestão e Segurança Ambiental (DGA) da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) e faz parte da Política de Segurança Biológica da UNIFESP, que tem como principais objetivos:

- proteger os indivíduos da exposição a agentes infecciosos;
- evitar a contaminação do ambiente;
- fornecer um ambiente para a pesquisa de alta qualidade, mantendo um local de trabalho seguro;
- cumprir os requisitos federais, estaduais e locais aplicáveis.

O Manual de Segurança Biológica fornece a toda Universidade diretrizes de segurança, políticas e procedimentos para o uso e manipulação de material que ofereça risco biológico. Embora a implementação desses procedimentos seja de responsabilidade do Pesquisador Principal, o seu sucesso depende em grande parte dos esforços combinados de supervisores de laboratório, servidores, funcionários e estudantes. O planejamento e implementação das normas de segurança biológica devem ser parte das atividades dos laboratórios em que são utilizados materiais que oferecem risco biológico.

ESCOPO

Este manual é aplicável a todas as atividades de laboratório, pesquisa, serviço e suporte que podem envolver a exposição a agentes de risco biológico, além de materiais que estão sob a alçada da Comissão Interna de Biossegurança (CIBio). Este manual não é aplicável aos serviços hospitalares.

De modo geral, este manual deve ser utilizado pelos laboratórios cujas pesquisas envolvam:

- moléculas de ácidos nucleicos recombinantes e sintéticos;
- micro-organismos, incluindo vírus, bactérias, fungos, parasitas e seus metabólitos tóxicos que poderiam ser prejudiciais para os seres humanos, plantas ou animais;
- linhagens e culturas celulares;
- animais de pesquisa experimentalmente infectados;
- sangue, tecidos e fluidos corporais humanos;
- organismos geneticamente modificados (OGM);
- recebimento, manuseio e descarte de materiais biológicos.

O Manual de Segurança Biológica da UNIFESP foi desenvolvido para o benefício de quem manipula, direta ou indiretamente, agentes biológicos potencialmente infecciosos e aplica-se a todos os docentes, servidores, funcionários, estudantes, pesquisadores convidados, trabalhadores voluntários, funcionários terceirizados ou qualquer outro indivíduo que manipule material com risco biológico nas dependências da UNIFESP. Este manual tenta abordar as preocupações mais frequentemente manifestadas por profissionais, especialmente de saúde e segurança ambiental, que trabalham em áreas onde os materiais que oferecem risco biológico são utilizados.

RESPONSABILIDADES

1. Os **Chefes de Departamento** assumem a responsabilidade geral pela implementação e manutenção de práticas e procedimentos seguros nos diversos laboratórios e setores que o compõem. No caso dos grandes departamentos, os chefes podem compartilhar essa responsabilidade com um comitê de segurança biológica departamental e/ou com um diretor da unidade.
2. O **Investigador Principal (PI)** é definido como o docente ou técnico-administrativo em cujo espaço designado é conduzida uma atividade de pesquisa. O PI é responsável pelo pleno cumprimento das práticas e dos procedimentos estabelecidos neste Manual. Esta responsabilidade abrange os aspectos da biossegurança envolvendo todos os indivíduos que entram ou trabalham no laboratório do PI ou colaboram na realização de sua pesquisa. O PI possui autoridade para avaliar os riscos, estabelecer políticas e procedimentos, capacitar a equipe de laboratório e manter a instalação e os equipamentos em conformidade com a legislação. O investigador principal é responsável por:
 - a. Realizar uma avaliação de risco dos projetos de pesquisa. Esta avaliação deve ser feita antes de o trabalho ser executado, de modo a utilizar uma estrutura física e práticas laboratoriais adequadas ao Nível de Biossegurança estabelecido. A avaliação deve incluir uma análise dos riscos determinada pelo micro-organismo manipulado e de quaisquer métodos de pesquisa específicos que possam afetar esse risco (por exemplo, procedimentos que exigem quantidades altamente concentradas de vírus ou inoculação de animais de laboratório). Os agentes patológicos devem ser registrados e as informações sobre esses agentes devem ser fornecidas ao Departamento de Gestão e Segurança Ambiental, em formulário apropriado.
 - b. Aplicação de práticas e procedimentos de segurança apropriados em seus laboratórios, instruindo estudantes e trabalhadores de perigos potenciais.

- c. Selecionar, treinar e supervisionar a equipe de pesquisa autorizada a trabalhar no laboratório, certificando a competência da mesma. A documentação do treinamento e o cumprimento das práticas e dos procedimentos de biossegurança apropriados são obrigatórios.
 - d. Desenvolver políticas que regem o funcionamento do laboratório e implementar protocolos para garantir uma operação segura.
 - e. Solicitar autorização à Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) para a realização de projetos que envolvam Organismos Geneticamente Modificados (OGM).
3. A **Equipe de Laboratório** abrange todos os indivíduos que realizam atividades geradoras de risco biológico nas dependências da UNIFESP e é responsável por:
- a. Participar do treinamento fornecido pela UNIFESP antes de iniciar as atividades no laboratório.
 - b. Garantir que todas as atividades laboratoriais sejam conduzidas de acordo com as diretrizes recomendadas pela UNIFESP e outras diretrizes aplicáveis. Seguir o Manual de Segurança Biológica da UNIFESP.
 - c. Aprender os procedimentos operacionais para o laboratório, os perigos potenciais dos agentes infecciosos em uso e os procedimentos de emergência. Ajudar a manter a instalação em boas condições de funcionamento.
 - d. Informar ao Investigador Principal sobre quaisquer restrições médicas, doenças notificáveis e qualquer evento que possa ser uma exposição ou resultar na criação de um risco potencial. Informar todas as condições irregulares ou anormais.
 - e. Se o indivíduo for inexperiente na manipulação de agentes patogênicos ou culturas de tecidos humanos, deverá receber treinamento do Investigador Principal e demonstrar proficiência em práticas microbiológicas-padrão.
 - f. Cumprir as responsabilidades atribuídas pelo Investigador Principal. O funcionamento da instalação é da responsabilidade dos usuários, que deverão manter o laboratório em boas condições de uso.
4. O **Departamento de Gestão e Segurança Ambiental da UNIFESP** (DGA-UNIFESP) é responsável por:
- a. Auxiliar os investigadores principais e a equipe de laboratório no desenvolvimento de planos de controle de exposição, fornecendo diretrizes para facilitar o manuseio, o armazenamento e o uso seguro de materiais biológicos perigosos.

- b. Fornecer informações sobre os regulamentos que se aplicam ao laboratório.
- c. Aconselhar métodos seguros para novos procedimentos e fornecer informações em caso de derramamento de materiais biológicos perigosos de grande ou alto risco.
- d. Promover um programa de inspeção de laboratório para assegurar o cumprimento contínuo das normas de segurança. O DGA-UNIFESP identifica possíveis áreas problemáticas e sugere que os objetivos de segurança da UNIFESP sejam alcançados.
- e. Avaliar e inspecionar instalações laboratoriais para o trabalho com agentes infecciosos e outros agentes biológicos perigosos.
- f. Manutenção dos registros de treinamento para o cumprimento dos requisitos federais, estaduais, municipais e institucionais.
- g. Atualização periódica do Manual de Segurança Biológica da UNIFESP.
- h. Divulgação de informações para a segurança na pesquisa biológica, através de boletins informativos periódicos, demonstrações ou cursos de treinamento especiais, conforme necessário.

REGRAS, REGULAMENTOS E ORIENTAÇÕES

Segue-se um breve resumo das autoridades reguladoras que fornecem diretrizes para o uso de materiais biológicos, agentes infecciosos e moléculas de DNA recombinante. Cópias desses documentos estão disponíveis no site do DGA-UNIFESP.

1. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio):** A CTNBio é uma instância colegiada multidisciplinar, criada através da Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, cuja finalidade é prestar apoio técnico consultivo e assessoramento ao Governo Federal na formulação, atualização e implementação da Política Nacional de Biossegurança relativa a Organismos Geneticamente Modificados (OGM), bem como no estabelecimento de normas técnicas de segurança e pareceres técnicos referentes à proteção da saúde humana, dos organismos vivos e do meio ambiente, para atividades que envolvam a construção, experimentação, cultivo, manipulação, transporte, comercialização, consumo, armazenamento, liberação e descarte de OGM e derivados. Dentre as orientações, a criação de Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) em cada instituição com autoridade para aprovar ou desaprovar investigação proposta usando as diretrizes da CTNBio como um padrão mínimo. Para mais informações, consulte o website (<http://ctnbio.mcti.gov.br/inicio>).

2. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA):** Criada pela Lei nº 9.782, de 26 de janeiro 1999, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) é uma autarquia sob regime especial, que tem sede e foro no Distrito Federal, e está presente em todo o território nacional por meio das coordenações de portos, aeroportos, fronteiras e recintos alfandegados. Tem por finalidade institucional promover a proteção da saúde da população, por intermédio do controle sanitário da produção e consumo de produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária, inclusive dos ambientes, dos processos, dos insumos e das tecnologias a eles relacionados, bem como o controle de portos, aeroportos, fronteiras e recintos alfandegados. Para ter acesso a todas as diretrizes emitidas pela ANVISA acesse o website (<http://portal.anvisa.gov.br>).

3. **Ministério da Saúde (MS):** O Ministério da Saúde é o órgão do Poder Executivo Federal responsável pela organização e elaboração de planos e políticas públicas voltados para a promoção, prevenção e assistência à saúde dos brasileiros. É função do ministério dispor de condições para a proteção e recuperação da saúde da população, reduzindo as enfermidades, controlando as doenças endêmicas e parasitárias e melhorando a vigilância à saúde, dando, assim, mais qualidade de vida ao brasileiro. A Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE) disponibiliza a Classificação de Risco dos Agentes Biológicos e Diretrizes Gerais para o Trabalho em Contenção com Material Biológico, utilizados na elaboração deste manual.

4. **Ministério do Trabalho e Previdência Social (MTPS):** O MTPS, por meio da Secretaria de Inspeção do Trabalho, elaborou o Guia Técnico de Riscos Biológicos que tem por objetivo trazer subsídios a empregadores, trabalhadores e técnicos da área de saúde para uma melhor compreensão e aproveitamento da Norma Regulamentadora No. 32, Segurança e Saúde no Trabalho em Serviços de Saúde, publicada em 2005.

5. **Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) e os Institutos Nacionais de Saúde (NIH):** *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (BMBL). Em 1984, o CDC / NIH publicou a primeira edição do BMBL. Este documento descreve combinações de práticas microbiológicas padrão e especiais, equipamentos de segurança e instalações que constituem os Níveis de Biossegurança de 1-4, que são recomendados para trabalhar com uma variedade de agentes infecciosos em várias configurações de laboratório. Este documento também descreve os requisitos para os níveis de Biossegurança Animal. O BMBL foi revisto várias vezes e é comumente visto como o padrão para a biossegurança. A UNIFESP está usando o BMBL como base para este manual de segurança biológica.

6. **Departamento de Gestão e Segurança Ambiental (DGA) da UNIFESP:** Em 2013, foi criado o DGA-UNIFESP com o intuito de apoiar, orientar e implementar as ações e políticas de responsabilidade socioambiental e sustentabilidade na instituição, auxiliando no processo administrativo e desempenho ambiental da UNIFESP, realizando diagnóstico e propondo soluções. Para tanto, baseado nas leis, normas e diretrizes vigentes, o DGA elaborou a Política de Gerenciamento de Resíduos Sólidos (PGRS-UNIFESP) e de Política de Segurança Biológica (PBio-UNIFESP). Para mais informações, acesse <http://www.unifesp.br/reitoria/dga>.
7. **Comissão Interna de Biossegurança da UNIFESP (CIBio-UNIFESP):** A Comissão Interna de Biossegurança, constituída pela UNIFESP de acordo com a Lei Federal nº 8.974/95, é encarregada de obter licenças junto à Comissão Nacional de Biossegurança (CTNBio) do Ministério da Ciência e Tecnologia, para o desenvolvimento de atividades de qualquer natureza relacionadas a Organismos Geneticamente Modificados (OGMs), assim como de monitorar essas atividades, no âmbito desta instituição. Para solicitações à CIBio-UNIFESP, acesse <https://cibio.unifesp.br/>.
8. **Núcleo de Proteção Radiológica da UNIFESP (NPR-UNIFESP):** O NPR foi criado em julho de 1996 por meio da Portaria 217 atendendo solicitação da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e tem como objeto de atenção garantir condições seguras na utilização dos radioisótopos nas atividades de pesquisa. Para entrar em contato com o NPR, acesse <https://npr.sites.unifesp.br/>.
9. **Comissão de Ética no Uso de Animais da UNIFESP (CEUA-UNIFESP):** É dever da CEUA, entre outros: “cumprir e fazer cumprir, no âmbito de suas atribuições, o disposto na Lei nº 11.794/2008, e nas demais normas aplicáveis à utilização de animais para ensino e pesquisa, especialmente nas resoluções do CONCEA”. Para maiores informações, consultar as resoluções da CEUA, acesse <http://www.unifesp.br/reitoria/ceua>.
10. **Departamento de Compras e Importação da UNIFESP:** A Divisão de Importação e Exportação realiza os serviços de importação e exportação em nome da UNIFESP com equipe própria. Seus colaboradores realizam operações de comércio internacional para importação e exportação de materiais e equipamentos nos vários *campi* da UNIFESP, processam as operações de importação e exportação, analisam o mercado internacional de produtos e serviços, prestam orientações técnicas aos requisitantes ou participantes do processo de importação ou exportação, orientam e procedem todas as etapas do processo de importação e exportação até o desembaraço aduaneiro, expressam-se em língua estrangeira.

DEFINIÇÃO DE RISCO BIOLÓGICO E BIOSSEGURANÇA

Laboratórios de pesquisa, ensino e prestação de serviços apresentam uma grande diversidade de agentes de riscos biológicos, químicos e físicos, associados aos materiais e métodos utilizados. O estabelecimento de uma Política de Segurança Biológica visa minimizar os riscos, fornecendo informações para dotar o laboratório de estrutura física, administrativa e técnica, promovendo assim ações preventivas.

Risco Biológico é a probabilidade de exposição ocupacional a agentes biológicos. Os agentes biológicos podem ser vírus, bactérias, fungos, parasitas, culturas celulares, organismos geneticamente modificados, toxinas, príons, amostras biológicas (tecidos, secreções e excreções) ou outro material biológico com capacidade de provocar danos à saúde humana, animal ou vegetal.

Biossegurança é o conjunto de medidas e procedimentos técnicos voltados para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços que possam comprometer a saúde humana, animal, vegetal e o meio ambiente. Estabelece as condições seguras para a manipulação e a contenção de agentes biológicos potencialmente patogênicos, incluindo os equipamentos de segurança, a estrutura física dos laboratórios, as técnicas e práticas de laboratório, além da gestão administrativa.

A palavra-chave, quando se fala em biossegurança, é contenção. **Contenção** é o termo usado para descrever os métodos de segurança utilizados na manipulação de materiais infecciosos em um laboratório e tem por objetivo reduzir ou eliminar a exposição da equipe de um laboratório, de outras pessoas e do meio ambiente em geral aos agentes potencialmente perigosos. A contenção pode ser primária ou secundária.

Contenção Primária envolve a utilização de boas técnicas de microbiologia, uso de equipamento de segurança adequado e vacinação. Enquanto a **Contenção Secundária** é uma combinação do projeto de instalações e práticas operacionais.

Para que o princípio da contenção seja obedecido, são fundamentais os seguintes princípios e dispositivos:

- 1- boas práticas e técnicas laboratoriais;
- 2- equipamentos de segurança (barreiras primárias);
- 3- projetos e construção das instalações adequados (barreiras secundárias).

AVALIAÇÃO DE RISCO

A avaliação dos riscos é fundamental para a prática da segurança biológica. É um processo que avalia vários fatores associados a um procedimento que envolve materiais biológicos, a fim de identificar as características perigosas do material, as atividades que podem resultar na exposição de um indivíduo a um agente infeccioso, a probabilidade de que a exposição irá causar uma infecção adquirida em laboratório e as prováveis consequências de uma infecção. As informações identificadas pela avaliação de risco irão providenciar um guia para a seleção de níveis de biossegurança, práticas microbiológicas, equipamentos de proteção e instalações seguras que podem prevenir infecções adquiridas em laboratório e reduzir o risco de contaminação ambiental. É importante ressaltar que a avaliação dos riscos deve ser preferencialmente feita por profissionais competentes e que possuem conhecimento específicos dos eventuais organismos. As avaliações de risco devem ser reanalisadas sempre que necessário, levando-se em consideração novos dados que tenham impacto no grau de risco, bem como informações pertinentes na literatura científica.

Diversos fatores devem ser considerados na avaliação de risco, entre eles:

- patogenicidade do agente e dose infecciosa;
- virulência medida pela gravidade da doença;
- via natural de infecção e outras vias de infecção, resultantes de manipulação laboratoriais;
- dose infectante;
- estabilidade do agente no ambiente;
- presença de hospedeiro apropriado;
- natureza endêmica;
- relatórios de infecções laboratoriais adquiridas;
- origem do agente;
- manipulações genéticas que possam alterar a patogenicidade do agente ou a sensibilidade a tratamentos eficazes conhecidos;
- disponibilidade de medidas preventivas e tratamentos eficazes para a doença.

CLASSES DE RISCO

De acordo com o documento "Classificação de Risco dos Agentes Biológicos", do Ministério da Saúde, os agentes biológicos são distribuídos em quatro classes de risco:

- **Classe de risco I** (nenhum ou baixo risco individual e coletivo): inclui os agentes biológicos com pouca probabilidade de causar doenças no homem ou nos animais. Exemplo: *Lactobacillus sp.* e *Bacillus subtilis*.
- **Classe de risco II** (moderado risco individual e baixo risco coletivo): inclui os agentes biológicos que provocam infecções no homem ou nos animais, porém dispõem-se de medidas terapêuticas e profiláticas eficazes, sendo limitado o potencial de propagação na comunidade e de disseminação no meio ambiente. Exemplo: *Schistosoma mansoni* e Vírus da Rubéola.
- **Classe de risco III** (alto risco individual e limitado risco coletivo): inclui os agentes biológicos que causam patologias graves nos homens ou animais, potencialmente letais, para as quais existem usualmente medidas de profilaxia e/ou tratamento. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de pessoa a pessoa. Exemplo: *Bacillus anthracis* e Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).
- **Classe de risco IV** (elevado risco individual e coletivo): inclui os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade por via respiratória ou de transmissão desconhecida e que não há nenhuma medida profilática ou terapêutica eficaz contra infecções ocasionadas por estes. Causam doenças humanas e animais de alta gravidade, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no meio ambiente. Exemplo: Vírus Ebola e Vírus Lassa.

A UNIFESP possui, atualmente, apenas agentes de Classe de Risco I, II e III.

É proibida a manipulação de agentes de Classe de risco IV nas dependências da UNIFESP.

AVALIAÇÃO DE RISCO DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS

A avaliação do risco de organismos geneticamente modificados deve levar em consideração os mesmos fatores utilizados na avaliação de risco do organismo selvagem. No entanto, é importante considerar a possibilidade de que a modificação genética possa alterar (isto é, aumentar ou diminuir) a patogenicidade do agente ou afetar a sua susceptibilidade a antibióticos ou a outros tratamentos. Muitas vezes, informações importantes podem não estar disponíveis para um agente recém-delineado, e a avaliação do risco pode ser

difícil ou incompleta. Nesses casos, a atribuição do nível de biossegurança deve ser feita de forma conservadora. Uma vez que mais informações estejam disponíveis, outra avaliação de risco deve ser realizada.

AVALIAÇÃO DE RISCO DE CULTURA DE CÉLULAS E TECIDOS

Tecidos e células humanas e animais têm o potencial para abrigar agentes infecciosos latentes, e a equipe que manipula tais materiais está exposto ao risco. Caso precise de informações adicionais e requisitos para trabalhar com culturas de células humanas, consulte o tópico Diretrizes para trabalhar com linhagens celulares e cultura de tecidos (página XX).

PROCEDIMENTOS DE RISCO EM LABORATÓRIO





















- Inoculações parenterais: a inoculação de materiais potencialmente perigosos pode ocorrer por agulha ou outro objeto perfurocortante contaminado, por mordidas de animais infectados ou vetores artrópodes.
- Derramamento ou respingos na pele e membranas mucosas: membranas mucosas incluem os olhos, nariz e boca.
- Ingestão por pipetagem com a boca.
- Uso de equipamento de proteção individual fora do ambiente de trabalho, uso inadequado do equipamento de proteção individual no ambiente de trabalho ou, ainda, realização das atividades laborais sem os respectivos equipamentos de proteção individual.
- Mordidas e arranhões de animais.
- Exposição à inalação de aerossóis infecciosos: aerossóis, ou partículas de tamanhos respiráveis, são extremamente perigosos porque são gerados em muitos procedimentos de laboratório e são geralmente não-detectáveis. A geração de aerossóis infecciosos coloca em risco o indivíduo que realiza o procedimento e os outros usuários do laboratório. Qualquer processo que promove a quebra da tensão superficial de um líquido irá produzir aerossóis. Pipetagem, liquidificadores, centrífugas, sonicadores e misturadores do tipo vórtex produzem aerossóis. Os procedimentos e equipamentos que geram aerossóis também criam gotas maiores. Estas gotículas podem permanecer em superfícies e, portanto, contaminar as mãos enluvadas, espaços de trabalho e membranas mucosas.

REGRAS BÁSICAS EM CASO DE INCÊNDIO

Fique atento a possíveis focos de incêndio e proceda conforme descrição a seguir:

- Ao perceber indícios de incêndio (fumaça, cheiro de queimado, estalidos, etc), aproxime-se a uma distância segura para verificar o que está queimando e a extensão do fogo;
- Dê o alarme pelo meio disponível aos responsáveis;
- Se puder, combata o fogo com extintor adequado (Tabela 1);
- Se não souber combater o fogo, ou não puder dominá-lo, saia do local, fechando todas as portas e janelas atrás de si, mas sem trancá-las, desligando a eletricidade, alertando os demais ocupantes do andar e informando os laboratórios vizinhos da ocorrência do incêndio;
- Não perca tempo tentando salvar objetos, salve sua vida;
- Mantenha-se vestido, pois a roupa protege o corpo contra o calor e a desidratação;
- Procure alcançar o térreo ou as saídas de emergência do prédio, sem correr;
- Jamais use o elevador, pois a energia é normalmente cortada, e ele poderá ficar parado, sem contar que existe o risco dele abrir justamente no andar em chamas;
- É da responsabilidade de cada chefe de laboratório conhecer os disjuntores de suas instalações.

Tabela 1: Agentes extintores adequados para cada classe de incêndio

Classes de Incêndio	Agentes Extintores			
	Água	Espuma mecânica	Gás carbônico	Pó químico
 <p>Aparas de papel e madeiras</p>				
 <p>Líquidos inflamáveis</p>				
 <p>Equipamentos elétricos</p>				
 <p>Metais combustíveis</p>				

PRÁTICAS GERAIS DE LABORATÓRIO

As informações a seguir aplicam-se a todos os laboratórios que abrigam materiais biológicos. Informações específicas a respeito dos níveis de biossegurança estão a seguir.

1. Vias de infecção

Uma infecção ocorre quando micro-organismos causadores de doenças penetram no corpo humano em número suficiente e por uma rota determinado e suplantam o sistema de defesa do organismo. Uma vez dentro do organismo, os agentes biológicos devem atender outros requisitos para efetivamente causar doenças; eles devem colonizar e se

estabelecer em células, tecidos e/ou órgãos do corpo, superar os mecanismos naturais de defesa do corpo e mutar ou se adaptar às mudanças corporais. Outros fatores contribuem para a susceptibilidade de um indivíduo ao processo da doença, como idade, estado imunológico, ocupação, ambiente físico e geográfico e condições preexistentes (como alcoolismo e outros abusos de drogas, gravidez e doenças como diabetes). É difícil determinar uma dose infecciosa mínima quando se discute os riscos biológicos, uma vez que a mesma dose de um agente patogênico pode não produzir sintomas de doença em um indivíduo, mas pode causar doença grave ou mesmo fatal em outro. As seguintes rotas têm sido relatadas para infecções adquiridas em laboratório:

1.1. Via oral

- Comer, beber e fumar no laboratório
- Pipetagem com a boca
- Transferência de micro-organismos para a boca por meio dos dedos ou material contaminados

1.2. Via cutânea

- Inoculação acidental com agulha hipodérmica, outro instrumento perfurocortante ou vidro
- Cortes, arranhões

1.3. Via ocular

- Respingos de material infeccioso no olho
- Transferência de micro-organismos para os olhos com os dedos contaminados

1.4. Via inalatória

- A inalação de micro-organismos existentes no ar

A maioria das infecções adquiridas em laboratório relatadas na literatura apontam a acidentes laborais com algum tipo de agente infeccioso. Estes incluem derramamentos, respingos e acidentes envolvendo agulhas ou outros objetos perfurocortantes. Os procedimentos gerais de laboratório descritos neste manual abordam essas questões e proporcionam orientação na manipulação de materiais infecciosos ou potencialmente infecciosos (Tabela 2).

Tabela 2: Rotas de exposição e medidas de proteção à contaminações laboratoriais.

Rotas de exposição	Medidas de Proteção
 <p>Membranas mucosas</p> <ul style="list-style-type: none"> - Respingos de material infeccioso nas mucosas dos olhos (via ocular), nariz ou boca 	<p>Efetuar proteção facial</p> <ul style="list-style-type: none"> - Utilizar máscaras faciais completas ou óculos de segurança e máscara cirúrgica - Manipular material infeccioso em cabines de segurança biológica ou atrás de anteparos de proteção - Obedecer aos princípios das boas práticas microbiológicas
 <p>Ingestão (via oral)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pipetagem com a boca - Comer, beber e fumar no laboratório 	<p>Prevenir exposição por ingestão</p> <ul style="list-style-type: none"> - Utilizar pipetadores mecânicos - Nunca comer, beber ou fumar no laboratório - Obedecer aos princípios das boas práticas microbiológicas
 <p>Inalação (via inalatória)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Inalar aerossóis de tamanho inferior a 5µm - Geração de aerossóis por vazamentos de centrífugas, derramamentos, pipetagem, etc 	<p>Prevenir exposição a aerossóis</p> <ul style="list-style-type: none"> - Utilizar cabines de segurança biológica - Utilizar rotores selados para centrífugas, equipamentos de contenção de segurança, respiradores providos de filtro HEPA - Obedecer aos princípios das boas práticas microbiológicas
 <p>Percutâneo (via cutânea)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Arranhão ou mordedura de animal - Transferência de micro-organismos através de feridas, abrasões ou eczemas - Inoculação acidental com agulha hipodérmica ou objetos afiados contaminados em pele intacta ou não 	<p>Prevenir lesões percutâneas</p> <ul style="list-style-type: none"> - Usar objetos afiados com extremo cuidado - Após o uso, descartar as agulhas em recipiente rígido resistente a punctura - Usar contêntores de animais - Usar luvas resistentes ou duplas e aventais com manga - Cobrir pele não intacta com ataduras a prova de água
 <p>Transmissão indireta por contato</p> <ul style="list-style-type: none"> - Transferência de micro-organismos por meio dos dedos ou objetos que estiveram em contato com uma superfície contaminada - Falta de lavagem das mãos após o trabalho 	<p>Prevenir a exposição indireta</p> <ul style="list-style-type: none"> - Descontaminar as superfícies de trabalho - Sempre lavar as mãos após o trabalho - Evitar tocar o rosto com as mãos enluvadas ou não - Não aplicar cosméticos ou manipular lentes de contato dentro do laboratório

2. Acesso

As portas dos laboratórios devem permanecer fechadas durante os procedimentos e trancadas na ausência de usuários. O acesso ao laboratório deve ser restrito aos profissionais envolvidos nas atividades desenvolvidas.

2.1. Sinal de aviso de risco biológico

O símbolo internacional de risco biológico deve ser afixado em todos os locais e equipamentos nos quais agentes de classe de risco II ou superior são manipulados ou armazenados. Essa exigência também se aplica a locais e equipamentos em que são necessários procedimentos NB-2 ou superior. As etiquetas devem ser afixadas na(s) porta(s) de entrada principal dos laboratórios e biotérios, em equipamentos como geladeiras, freezers, cabines de segurança biológica, armários, incubadoras e contentores de transporte.

A sinalização para laboratório NB-2 ou superior (Anexo 1) deve incluir as seguintes informações:

- organismos manipulados;
- nível de biossegurança;
- nome do pesquisador principal ou outra pessoa responsável;
- número de telefone (inclusive celular);
- procedimentos necessários para entrar e sair do laboratório.

3. Equipamentos de proteção individual

Os equipamentos de proteção individual (EPI) são utilizados para proteger o indivíduo do contato com material perigoso e agentes infecciosos. Roupas apropriadas também podem proteger o material de contaminação. Equipamentos de proteção individual, bem como o treinamento no uso adequado desses dispositivos de segurança, devem ser fornecidos a todos os usuários. Estes, por sua vez, têm a responsabilidade de utilizar corretamente os equipamentos disponíveis.

O uso de EPI é uma exigência da legislação trabalhista brasileira, através da Norma Regulamentadora (NR) 6. O MTE atesta a qualidade dos EPI nacionais ou importados disponíveis no mercado, ao emitir o Certificado de Aprovação (CA). São proibidos o fornecimento e a comercialização de EPI (assim classificados) sem o CA, de modo que comerciante e empregador ficam sujeitos às penalidades previstas em lei

É pertinente registrar que, no portal do Ministério do Trabalho e Emprego, podem ser consultados os Certificados de Aprovação para os diferentes EPI, como luvas, protetor facial e auricular, respirador e purificador de ar, óculos e vestimenta do tipo jaleco ou avental. Para

realizar a busca, acesse <http://caepi.mte.gov.br/internet/ConsultaCAInternet.aspx>.

3.1. *Proteção Ocular e Facial*

Sempre que exigido, as operações de laboratório devem ser realizadas em equipamentos de contenção, como cabine de segurança biológica ou capela, ou na bancada atrás de um escudo de proteção, a fim de minimizar a possibilidade de respingos na pele ou mucosas. Se os procedimentos não permitirem a utilização dos equipamentos de contenção adequados, EPI devem ser usados conforme descrito:

- Óculos são a única forma de proteção adequada para os olhos para os riscos de respingo. Óculos de segurança devem ser usados no laboratório sempre que os procedimentos em curso apresentem a probabilidade de respingos decorrentes da manipulação de material infeccioso e produtos químicos (incluindo água sanitária) ou um risco de impacto.
- Protetor facial para o rosto deve ser usado para procedimentos que gerem respingos, sprays de materiais infecciosos ou se houver um elevado potencial de geração de aerossol. Protetores faciais não substituem a proteção ocular.

Consulte o SESMT de seu *Campus* para obtenção de equipamentos de proteção individual adequados.

3.2. *Vestimenta de laboratório*

Aventais de mangas compridas devem ser utilizados para minimizar a contaminação da pele ou roupa pessoal. Na possibilidade de respingos, o tecido deve ser resistente à penetração de líquidos para proteger a pele e a roupa de contaminação. Se a peça de vestuário não for descartável, ele deve ser capaz de suportar esterilização, caso venha a ser contaminado.

O avental é recomendado para todas as atividades em laboratório NB-1 e obrigatório para manipulação de agentes potencialmente infecciosos em laboratórios NB-2 ou superior. Os vestuários de proteção devem ser removidos e mantidos no laboratório antes de deixar o ambiente laboratorial. Aventais descartáveis devem estar disponíveis para os visitantes, trabalhadores de serviços de manutenção e em outros casos necessários. É recomendado que as roupas de proteção não descartáveis sejam descontaminadas no laboratório.

3.3. *Luvas*

As luvas devem ser selecionados com base nos riscos envolvidos e na atividade a ser realizada. As luvas devem ser descartadas após manipulação de material com risco biológico, substâncias tóxicas,

produtos químicos perigosos e outros agentes danosos. Luvas resistentes a temperatura devem ser utilizadas para manusear material quente ou gelo seco.

Trabalhos delicados que requerem um elevado grau de precisão e, portanto, demandam a utilização de luvas de paredes finas. As luvas devem ser trocadas rapidamente quando contaminadas, quando a sua integridade for comprometida ou quando necessário. As mãos devem ser devidamente lavadas com água e sabão após remoção das luvas. É importante frisar que o uso do álcool (etanol) não substitui a lavagem com água e sabão. Luvas descartáveis não devem ser lavadas e reutilizadas. As luvas devem ser removidas e as mãos lavadas, após manipulação de material biológico ou ao deixar o laboratório. Se você está transportando materiais potencialmente infecciosos (isto é, culturas, resíduos, etc) para outra parte do edifício, use a regra de uma luva: use uma mão enluvada para lidar com o material mantendo a outra mão sem luva para tocar superfícies comuns, tais como maçanetas das portas e botões de elevador.

Para compatibilidade dos materiais das luvas com produtos químicos diversos, acesse o site <http://coleparmer.com/chemical-resistance>.

Para obter ajuda na seleção de luva, entre em contato com SESMT.

3.4. Protetores respiratórios

Para certos ensaios, faz-se necessária a utilização de EPI adicionais, como protetores respiratórios. A seleção do protetor é baseada no perigo e no fator de proteção necessário. Indivíduos que necessitem de proteção respiratória devem contactar o SESMT para assistência na escolha do equipamento e treinamento apropriado no seu uso.

A proteção respiratória tem a função de evitar que o trabalhador inale vapores orgânicos, névoas, partículas ou fumos metálicos. Deve estar sempre higienizada e os filtros saturados precisam ser substituídos. Se utilizados de forma inadequada, os respiradores tornam-se desconfortáveis e podem transformar-se numa verdadeira fonte de contaminação. Este equipamento deve ser inserido em saco plástico e armazenado em local seco e limpo. O respirador é usado apenas quando as medidas de proteção coletiva não existem, não podem ser implantadas ou são insuficientes, em casos como: acidentes, limpeza de almxarifados de produtos químicos e operações nas quais não seja possível a utilização de sistemas exaustores ou capela. Em caso de incêndio, principalmente envolvendo compostos que liberam gases tóxicos, é necessário o uso de uma máscara de oxigênio independente do ar ambiente.

4. Serviço de limpeza

Limpeza apropriada em laboratórios é essencial para reduzir os riscos e proteger a integridade dos experimentos biológicos. Limpeza de rotina deve ser providenciada para obtenção de áreas de trabalho livres de fontes significativas de contaminação. Procedimentos de limpeza devem basear-se no mais alto grau de risco ao qual o pessoal e a integridade experimental podem estar submetidos. O pessoal do laboratório é responsável pela limpeza de bancadas do local, equipamentos e áreas que requerem conhecimento técnico especializado. Para facilitar a descontaminação, o laboratório deve ser mantido limpo e organizado, as superfícies devem estar limpas e livres de produtos químicos, vidrarias e equipamentos pouco utilizados. O acesso a pias, lava-olhos, chuveiros, saídas de emergência e extintores de incêndio deve estar desobstruído.

5. Treinamento

Boas práticas microbiológicas e laboratoriais são essenciais para um ambiente de trabalho seguro. Todas as pessoas que trabalham com agentes de classe de risco 2 ou 3 devem receber treinamento específico, ministrado pelo Investigador Principal, supervisor do laboratório ou outro profissional com experiência e conhecimento compatíveis.

O treinamento deve incluir:

- boas práticas laboratoriais;
- ética em experimentação animal, se necessário;
- informações específicas sobre os riscos, perigos e procedimentos do laboratório em questão;
- práticas específicas para atividades em laboratórios NB-2 ou 3;
- treinamento em princípios de biossegurança;
- treinamento em radioatividade, se necessário;
- treinamento em sustentabilidade;
- treinamento em gerenciamento de resíduos químicos e biológicos.

6. Alimentos e Bebidas

É proibido comer, beber, consumir medicamentos, fumar, aplicar cosméticos, manusear lentes de contato em laboratórios que manipulem material infectante, radioativo e reagentes químicos. É proibido armazenar, utilizar e descartar esses consumíveis no laboratório (incluindo freezers e geladeiras). Salas adjacentes, mas separadas por paredes e portas e que não contenham qualquer produto químico, radioativo ou agentes biológicos, podem ser utilizadas para o consumo de alimentos, preparação ou aplicação de cosméticos, a critério do investigador principal responsável pelas áreas.

7. Saúde e vigilância médica

A vigilância médica dos trabalhadores é essencial para identificar fatores de saúde que podem aumentar o risco de infecções adquiridas no laboratório. Em circunstâncias específicas, manipular agentes de alto risco pode exigir a consideração de vacinas para alguns indivíduos e acesso restrito para outros. No caso de exposição a material biológico, a vigilância médica irá incluir vigilância da saúde, conforme prescrito pelo SESMT. O investigador principal é responsável por assegurar que todo o pessoal de laboratório e de apoio e os visitantes estejam plenamente informados sobre:

- os riscos associados com a manipulação dos materiais biológicos em uso, incluindo vias de transmissão e sinais e sintomas;
- restrição de acesso para as pessoas com risco elevado de infecção por qualquer agente infeccioso em uso;
- os riscos adicionais para indivíduos imunossuprimidos.

Para garantir a saúde do pessoal do laboratório e dos visitantes devem ser observadas as seguintes condições:

1) A entrada em laboratórios onde materiais biológicos estão em uso ou armazenados (independentemente do nível de segurança biológica) pode representar um elevado risco de infecção para os indivíduos imunocomprometidos.

2) A consulta com um agente de saúde ocupacional antes de trabalhar em um laboratório é fortemente aconselhável, se você acredita que pode estar imunocomprometido. Por favor, lembre-se de que eventos como gravidez, doenças recentes causadas por um agente infeccioso (por exemplo, a gripe), quimioterapia, entre outros, podem resultar em um estado imunocomprometido de saúde.

A vacinação dos indivíduos que manipulam material infeccioso deve ser considerada quando existem vacinas específicas para o agente manipulado.

NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA

Os princípios da biossegurança e as avaliações de risco definem as condições de contenção em que agentes infecciosos podem ser manipulados com segurança. O objetivo da contenção é reduzir ou eliminar a exposição da equipe de um laboratório, de outras pessoas e do meio ambiente em geral aos agentes potencialmente infecciosos. A aplicação de boas práticas microbiológicas, a utilização de equipamentos de segurança adequados e uso de vacinas são os componentes da contenção primária. A contenção secundária, por sua vez, integra a combinação de projetos de instalações e práticas operacionais.

Portanto, diferentes níveis de contenção física podem ser alcançados pela associação de boas práticas laboratoriais, equipamento de contenção e instalações laboratoriais. Atualmente, quatro Níveis de Biossegurança (1- 4) definem os níveis de contenção necessários para proteger o indivíduo e o meio ambiente durante a manipulação de agentes biológicos. O Nível de Biossegurança 1 (NB-1) é o menos restritivo, enquanto o Nível de Biossegurança 4 (NB-4) exige instalações laboratoriais de confinamento extremo. Este manual abordará todos os requisitos necessários para implementação de laboratórios NB-1, NB-2 e NB-3, uma vez que a maior parte dos projetos de pesquisa da UNIFESP é conduzida com agentes de classe de risco I e II e apenas algumas experiências com agentes de classe III. A UNIFESP não permite a manipulação em suas dependências de agentes biológicos de classe IV, por não possuir laboratórios de confinamento máximo NB-4. Para mais informações sobre os requisitos para manipulação de agentes em nível de biossegurança 4 procure literatura apropriada ou contate a Divisão de Biossegurança da UNIFESP.

O elemento mais importante na manutenção de um ambiente de trabalho seguro é a estrita observância das boas práticas microbiológicas e técnicas de laboratório. Todos os que trabalham com agentes infecciosos ou materiais potencialmente infectantes devem estar cientes dos riscos potenciais. Além disso, todos os usuários devem ser treinados nas práticas e técnicas necessárias para lidar com tal material. É da responsabilidade do Investigador Principal ou do responsável pelo laboratório fornecer ou providenciar formação adequada de todo o pessoal.

1. Nível de Biossegurança 1 (NB-1): procedimentos e infraestrutura necessários em atividades que envolvam os agentes biológicos da classe de risco 1. Representa um nível básico de contenção, que se fundamenta na aplicação das Boas Práticas Laboratoriais (BPL), na utilização de EPI e equipamentos de proteção coletiva e na adequação das instalações. Em geral, as atividades são realizadas sobre as bancadas.

Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-1

- Acesso limitado ao laboratório. Somente indivíduos autorizados pelos coordenadores e pesquisadores podem ingressar nos ambientes laboratoriais. Não é permitida a presença de crianças e animais. As portas dos laboratórios devem permanecer fechadas durante a execução dos experimentos.
- As áreas de circulação de acesso ao laboratório devem estar desobstruídas e livres de equipamentos e estoques de materiais.
- Recomenda-se que o símbolo internacional de risco biológico seja afixado à porta de acesso ao laboratório que manipule agentes biológicos, contendo advertência de área restrita, identificação e telefone de contato do Pesquisador Responsável (verificar Anexo 1).

- Os Procedimentos Operacionais Padrão (POP) para o manuseio dos equipamentos e descrição das técnicas empregadas nos laboratórios devem estar organizados e acessíveis a todos que frequentam o laboratório.
- Lavar as mãos antes e depois da manipulação de agentes de risco e antes da saída do laboratório. O uso de luvas não substitui a lavagem das mãos.
- É proibida a ingestão e/ou o preparo de alimentos e bebidas, consumir medicamentos, fumar, mascar chicletes, manipular lentes de contato, a utilização de cosméticos e perfumes, o armazenamento de alimentos para consumo nas áreas de manipulação de agentes biológicos e químicos. Recomenda-se a não utilização de cosméticos e adereços no laboratório.
- É proibido levar qualquer objeto à boca no laboratório. A pipetagem deverá ser realizada com dispositivos apropriados, nunca com a boca.
- Os materiais perfurocortantes devem ser manuseados cuidadosamente. No descarte, as agulhas usadas não devem ser dobradas, quebradas, reutilizadas, recapeadas, removidas das seringas ou manipuladas antes de serem desprezadas. O descarte do material perfurocortante deve ser realizado em recipiente de paredes rígidas, resistentes à punctura, ruptura e vazamento, com tampa, devidamente identificados, segundo normas legais e técnicas vigentes, localizado próximo à área de trabalho, sendo expressamente proibido o esvaziamento desses recipientes para o seu reaproveitamento.
- Garantir que a limpeza dos laboratórios (bancadas, pisos, equipamentos, instrumentos e demais superfícies) seja realizada regularmente antes e imediatamente depois do término das atividades laboratoriais. Em caso de derramamentos de material biológico, realizar os métodos de desinfecção adequados ao agente manipulado. Devem ser mantidas a limpeza e a organização do laboratório.
- É proibido manter alimentos e plantas que não sejam objetos de análise do laboratório.
- Materiais e reagentes devem ser estocados em instalações apropriadas no laboratório.
- Todos os resíduos devem ser descartados segundo normas legais e técnicas vigentes e em cumprimento ao Plano de Gerenciamento de Resíduos Sólidos da UNIFESP. No descarte, as vidrarias quebradas não devem ser manipuladas diretamente com a mão, devem ser removidas por meio de meios mecânicos, como uma vassoura e uma pá de lixo ou pinças e descartadas em recipientes adequados.
- É necessária a organização de um plano de contingência e emergência, além de um programa de vigilância em saúde (epidemiológica, sanitária, ambiental e saúde do trabalhador). Disponibilizar kits de primeiros socorros e promover a capacitação dos usuários em segurança e emergência nos laboratórios.
- Instituir uma rotina de controle de roedores e vetores nos laboratórios.

Práticas adicionais para o NB-1

Não se aplica.

Equipamentos de contenção para o NB-1

- Equipamentos especiais de contenção, tais como as Cabines de Segurança Biológica (CSB), não são exigidos para manipulações de agentes da classe de risco 1.
- Trajar roupas de proteção durante as atividades laboratoriais (jalecos, aventais, macacões, entre outros) que devem ter mangas compridas ajustadas nos punhos e não devem ser usadas fora do laboratório, em locais como: escritório, biblioteca, salas de estar e refeitórios. Utilizar calçados de proteção fechados, confortáveis, com solado liso e antiderrapante.
- Utilizar as luvas de procedimentos somente nas atividades laboratoriais e evitar tocar em objetos de uso comum, tais como maçanetas, telefones, entre outros.
- Óculos de segurança e protetores faciais devem ser usados sempre que os procedimentos assim o exigirem.
- O laboratório deve possuir dispositivos de emergência para lavagem dos olhos e deve ser prevista a presença de chuveiros de emergência próximos ao laboratório.

Instalações laboratoriais NB-1

- As instalações laboratoriais devem ser compatíveis com as regulamentações municipais, estaduais e federais. O laboratório deve ser projetado de modo a permitir fácil limpeza e descontaminação.
- É proibido o uso de carpetes, cortinas, persianas ou similares, recomendando-se, quando necessário, a utilização de películas protetoras ou outras formas para controle da incidência de raios solares. A iluminação artificial deve ser adequada para todas as atividades, evitando os reflexos indesejáveis e a luz ofuscante, de acordo com os níveis mínimos estabelecidos por normas técnicas vigentes.
- As instalações físicas referentes à segurança laboratorial e proteção contra incêndio devem estar de acordo com as regulamentações de segurança do Corpo de Bombeiros local e as normas legais e técnicas vigentes. As rotas de fuga e saídas de emergência devem estar identificadas e, preferencialmente, localizadas nas circulações públicas, na direção oposta às portas de acesso, com saída direta para a área externa da edificação. As portas de saída de emergência devem estar

- identificadas, dotadas de barra antipânico, que permita a abertura com um pequeno toque, conforme normas legais e técnicas vigentes.
- As instalações elétricas para os laboratórios e instalações elétricas de equipamentos eletroeletrônicos ou equipamentos associados à operação e/ou controle de sistemas de climatização devem ser projetadas, executadas, testadas e mantidas em conformidade com as normas legais e técnicas vigentes. A edificação deve possuir sistema de proteção contra descargas atmosféricas, os equipamentos eletroeletrônicos devem estar conectados a uma rede elétrica estabilizada e aterrada e todas as tomadas e disjuntores devem ser identificados, conforme estabelecido nas normas legais e técnicas vigentes.
 - Todas as tubulações das instalações prediais devem ser adequadas, identificadas e mantidas em condições de perfeito funcionamento, conforme normas legais e técnicas vigentes. O sistema de abastecimento de água deve possuir reservatório suficiente para as atividades laboratoriais e para a reserva de combate a incêndio. A água de abastecimento deve atender as especificidades do laboratório e seguir os critérios técnicos vigentes.
 - As circulações horizontais e verticais tais como corredores, elevadores, monta-cargas, escadas e rampas devem estar de acordo com as normas legais e técnicas vigentes. As paredes, o teto e os pisos devem ser lisos, não porosos, sem reentrâncias, acabamentos impermeáveis e resistentes a produtos químicos para facilitar a limpeza e a descontaminação da área. Os pisos e os tetos devem ser nivelados.
 - Os laboratórios devem possuir portas para o controle do acesso ao público. As portas devem ser mantidas fechadas e possuir visores, exceto quando haja recomendação contrária. As portas para passagem de equipamentos devem possuir dimensões com largura mínima de 1,10 m. As janelas e as portas devem ser de materiais e acabamentos que retardem o fogo e facilitem a limpeza e a manutenção.
 - Não é necessário requisito especial de ventilação, além daqueles estabelecidos pelas normas legais e técnicas vigentes. As janelas com abertura para área externa ao laboratório, devem conter telas de proteção contra insetos. Deve haver espaço suficiente entre as bancadas, cabines e equipamentos de modo a permitir acesso fácil para a realização da limpeza.
 - A superfície das bancadas deve ser revestida por material impermeável, liso, sem emenda ou ranhura e resistente ao calor moderado e a ação dos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e solventes químicos utilizados na descontaminação das superfícies. O mobiliário do laboratório deve evitar detalhes desnecessários, como reentrâncias, saliências, quebras, cantos, frisos e tipos de puxadores que dificultem a limpeza e a manutenção, e atender os critérios de ergonomia, conforme normas técnicas e legais vigentes.

- As cadeiras e outros móveis utilizados no trabalho laboratorial devem ser revestidos com um material que não seja absorvente e que possa ser facilmente descontaminado.
- Cada laboratório deve possuir pelo menos um lavatório exclusivo para lavagem das mãos, localizado próximo à saída do laboratório. Deve estar previsto um local, dentro do laboratório, próximo ao acesso, para guarda de jalecos e outros equipamentos de proteção individual, utilizados no laboratório.
- Recomenda-se a definição de um local fora das áreas laboratoriais para guarda de pertences e troca de roupas. Prever local, dentro do laboratório, para a guarda de substâncias e materiais de uso frequente em armários ou prateleiras. Para estocagem de grandes volumes e das demais substâncias e materiais, deve haver um local em condições adequadas, fora das áreas laboratoriais, e em concordância com as normas legais e técnicas vigentes.
- Deve possuir um local específico, externo, coberto, ventilado e em condições de segurança para armazenamento de cilindros de gases, conforme normas legais e técnicas vigentes. Os cilindros de gases devem ser mantidos na posição vertical e possuir dispositivos de segurança de forma a evitar quedas ou tombamentos.
- A edificação laboratorial deve possuir um abrigo isolado, identificado, para armazenamento temporário dos resíduos, separados por grupo, estado físico e destinação, com local para higienização de contêineres, provido de ponto de água (exceto para os resíduos químicos), no pavimento térreo ou em área externa à edificação, com saída para o exterior, de fácil acesso aos carros coletores. Essas áreas devem ser cobertas, ventiladas, com piso, paredes e tetos revestidos de materiais lisos, impermeáveis e resistentes a substâncias químicas, conforme normas legais e técnicas vigentes. O acesso a essas áreas deve ser restrito ao pessoal autorizado.
- Caso o sistema público não disponha de tratamento de efluente sanitário, prever tratamentos primário e secundário, tais como tanque séptico e filtro biológico, a fim de evitar a contaminação da rede pública com agentes biológicos.

2. Nível de Biossegurança 2 (NB-2): exigido para as atividades que envolvam os agentes biológicos da classe de risco 2. O acesso ao laboratório deve ser restrito aos profissionais da área (professores, técnicos e outros) e aos acadêmicos que estejam desenvolvendo atividades de ensino, pesquisa e extensão, mediante autorização do responsável técnico.

Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-2

Os procedimentos-padrão exigidos são os mesmos já descritos para o NB-1.

Práticas adicionais para o NB-2

- É recomendável que os profissionais sejam submetidos à avaliação médica e recebam imunizações apropriadas aos agentes manuseados no laboratório, além de, quando necessário, proceder o armazenamento de amostra de soro dos membros da equipe. Profissionais imunocomprometidos não devem permanecer no laboratório.
- Recomenda-se a elaboração e adoção de um Manual de Biossegurança para o laboratório. O documento deve fazer referência, em especial, aos agentes de risco mais frequentes no ambiente de trabalho e deve ser disponibilizado a todos os profissionais.
- Cabe ao Pesquisador Responsável pelo laboratório assegurar que toda a equipe tenha domínio dos procedimentos e das práticas-padrão antes do início de suas atividades com agentes biológicos de classe de risco 2. A equipe deverá receber treinamento anual, documentado, sobre os potenciais riscos associados ao trabalho.
- Os equipamentos deverão ser regularmente descontaminados, bem como após a ocorrência de contato ou potencial contaminação com agentes e materiais biológicos potencialmente patogênicos. Os acidentes que possam resultar na exposição a agentes biológicos devem ser imediatamente avaliados e tratados de acordo com o Manual de Biossegurança, além de ser comunicados ao Pesquisador Responsável pelo laboratório.
- As portas do laboratório devem permanecer fechadas, enquanto os procedimentos estiverem sendo realizados e trancadas ao final das atividades.
- O símbolo internacional de risco biológico deve ser afixado nas portas dos locais onde há manipulação dos agentes biológicos pertencentes à classe de risco 2, identificando qual(is) o(s) agente(s) manipulado(s), o nível de biossegurança (NB) e o nome do profissional responsável com endereço completo, telefone de contato e as diversas possibilidades para a sua localização.
- Os EPI devem ser retirados, antes de sair do ambiente de trabalho, depositados em recipiente exclusivo para esse fim e descontaminados antes de serem reutilizados ou descartados. Não se deve tocar superfícies limpas, tais como teclados, telefones e maçanetas usando luvas de procedimentos.
- Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de aerossóis ou gotículas.
- Precauções especiais devem ser tomadas em relação aos objetos perfurocortantes, incluindo seringas e agulhas, lâminas, pipetas, tubos capilares e bisturis. Agulhas e seringas hipodérmicas ou outros instrumentos perfurocortantes devem ficar restritos ao laboratório e usados somente quando indicados. Devem ser usadas seringas com agulha fixa ou agulha e seringa em uma unidade única descartável

usada para injeção ou aspiração de materiais biológicos patogênicos ou, quando necessário, seringas que possuam um envoltório para a agulha, ou sistemas sem agulha e outros dispositivos de segurança.

- Assegurar um sistema de manutenção, calibração e de certificação dos equipamentos de contenção. A cada seis meses as CSB e os demais equipamentos essenciais de segurança devem ser testados, calibrados e certificados. Deve ser mantido registro da utilização do sistema de luz ultravioleta das CSB com contagem do tempo de uso. Os filtros HEPA (High Efficiency Particulated Air) da área de biocontenção devem ser testados e certificados de acordo com a especificação do fabricante ou no mínimo uma vez por ano.
- Acidentes ou incidentes que resultem em exposição a agentes biológicos ou materiais biológicos potencialmente patogênicos devem ser imediatamente notificados ao profissional responsável e os profissionais envolvidos devem ser encaminhados para avaliação médica, vigilância e tratamento, sendo mantido registro por escrito desses episódios e das providências adotadas.
- Todos os materiais e resíduos devem ser descontaminados, preferencialmente esterilizados, antes de serem reutilizados ou descartados.

Equipamentos de contenção para o NB-2

- Para este nível de biossegurança, a equipe deve utilizar EPI adequados, conforme descrito no NB-1.
- O uso de luvas de látex descartáveis deve ser restrito ao laboratório e as mesmas não deverão ser lavadas ou reutilizadas.
- A utilização de CSB, de Classe I ou Classe II, além de EPI, como máscaras, jalecos e luvas, deverão ser usados sempre que sejam realizadas manipulações de agentes biológicos patogênicos, procedimentos que envolvam potencial formação de aerossóis como pipetagem, centrifugação, agitação, sonicação, abertura de recipientes que contenham materiais infecciosos, inoculação intranasal de animais e coleta de tecidos infectados de animais ou ovos.
- Uma autoclave deve estar disponível, em local associado ao laboratório, dentro da edificação, de modo a permitir a descontaminação de todos os materiais utilizados e resíduos gerados, previamente à sua reutilização ou descarte.

Instalações laboratoriais NB-2

As instalações laboratoriais NB-2 devem atender aos critérios estabelecidos para o NB-1, acrescidos dos itens a seguir. Quando os critérios para o NB-2

forem incompatíveis com os itens estabelecidos para o NB-1, prevalecerá a exigência para o NB-2, ou seja, a solução de maior contenção.

- O laboratório NB2 deverá estar localizado em área afastada de circulação do público.
- Deverá ser instalado um sistema de portas com trancas, pois o acesso ao laboratório deverá ser restrito aos profissionais capacitados ao trabalho em contenção.
- Recomenda-se a instalação de lavatórios com acionamento automático ou acionados com cotovelo ou pé.
- As cabines de segurança biológica devem ser instaladas de forma que as flutuações de ar da sala não interfiram em seu funcionamento, devendo as mesmas permanecer distante de portas, janelas e áreas movimentadas.
- O ar de exaustão das CSB, classe II, filtrado por meio de filtros HEPA, e das capelas químicas devem ser lançados acima da edificação laboratorial e das edificações vizinhas, longe de prédios habitados e de correntes de ar do sistema de climatização. O ar de exaustão das CSB pode recircular no interior do laboratório se a cabine for testada e certificada anualmente. Os filtros HEPA (High Efficiency Particulate Air) ou equivalente devem ser regularmente trocados.
- As cadeiras devem ser de material impermeável e de fácil limpeza.
- Não são recomendadas janelas que se abrem para o exterior, mas caso haja, estas deverão possuir telas de proteção.
- Pelo menos uma estação de lavagem de olhos deve estar disponível no laboratório.
- Deve ser adotado um método para descontaminação do lixo laboratorial para toda a instalação, como por exemplo: autoclave, incineração ou descontaminação química.
- No planejamento de novas instalações devem ser considerados sistemas de ventilação que proporcionem um fluxo direcional de ar sem que haja uma recirculação para outras áreas internas da edificação.
- A área de escritório deve ser localizada fora da área laboratorial.

3. Nível de biossegurança 3 (NB-3): aplicável aos locais em que forem desenvolvidas atividades com os agentes biológicos da classe de risco 3.

Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-3

O nível de contenção NB-3 exige a aplicação e o rigor das práticas microbiológicas e de segurança estabelecidas para o NB-2, além de exigir o uso obrigatório de CSB classe II ou III. Todos os procedimentos, técnicos ou administrativos, devem estar descritos, ser de fácil acesso e do conhecimento dos profissionais envolvidos em sua execução.

Práticas adicionais para o NB-3

Além das práticas estabelecidas para o NB-2, devem ser seguidas as práticas adicionais descritas a seguir.

- Todos os profissionais que entrarem no laboratório deverão estar cientes sobre o potencial de risco nesses ambientes. Somente os profissionais necessários para a execução das atividades ou os profissionais de apoio devem ser admitidos no local. No entanto, as atividades em laboratórios NB-3 devem ser executadas por, no mínimo, dois profissionais. Os profissionais que apresentarem risco aumentado de contraírem infecções não são permitidos dentro do laboratório.
- As equipes do laboratório e de apoio devem receber treinamento em biossegurança sobre os riscos potenciais associados aos trabalhos desenvolvidos, os cuidados necessários para evitar ou minimizar a exposição ao agente de risco e sobre os procedimentos a serem realizados em caso de exposição. Os profissionais do laboratório deverão frequentar cursos periódicos de atualização em biossegurança e receber orientação quanto às alterações do marco regulatório.
- O laboratório deve adotar um Manual de Biossegurança específico para este nível de contenção, elaborado pelo profissional responsável e que contemple os procedimentos operacionais padrão. Este deve permanecer disponível e acessível a todos os profissionais no local de trabalho.
- Não é permitido o uso de EPI fora do laboratório. Os mesmos deverão ser descontaminados antes de serem reutilizados ou descartados.
- Os profissionais do laboratório devem ser submetidos à avaliação médica periódica e receber imunizações apropriadas aos agentes manuseados ou potencialmente presentes no laboratório. Coleta de amostras sorológicas de toda a equipe, especialmente dos profissionais diretamente expostos ao risco, deve ser realizada, bem como seu armazenamento para futura referência. Amostras adicionais poderão ser periodicamente coletadas, dependendo dos agentes e materiais biológicos manipulados ou do funcionamento do laboratório.
- Todas as manipulações que envolvam agentes e materiais biológicos devem ser conduzidas no interior de CSB ou de outros dispositivos de contenção física dentro de um módulo de contenção.
- Todos os resíduos devem ser obrigatoriamente esterilizados antes de serem descartados e/ou removidos do laboratório. Todos os materiais utilizados no laboratório devem ser descontaminados, antes de serem reutilizados.
- Os filtros HEPA e pré-filtros das CSB e dos sistemas de ar retirados devem ser acondicionados em recipientes hermeticamente fechados para serem descontaminados por esterilização.

- Ocorrências que possam resultar em exposições a agentes e materiais biológicos patogênicos deverão ser imediatamente relatados ao profissional responsável e tomadas às medidas de mitigação e remediação necessárias, bem como avaliação médica, vigilância e tratamento dos profissionais envolvidos, sendo mantido registro por escrito destes episódios e das providências adotadas.
- O profissional responsável deve garantir que o projeto da instalação e todos os procedimentos operacionais do NB-3 estejam documentados; que os parâmetros operacionais e as instalações tenham sido verificados e estejam funcionando adequadamente antes que as atividades laboratoriais sejam iniciadas; que as instalações sejam inspecionadas no mínimo uma vez por ano e os equipamentos verificados, inclusive os sistemas de segurança, quanto ao seu funcionamento, calibração e eficiência, de acordo com as especificações do fabricante ou com as BPL.

Equipamentos de contenção para o NB-3

- Todos os procedimentos envolvendo a manipulação de material infeccioso, culturas, material clínico ou ambiental de agentes classificados como classe de risco 3 deve ser conduzido dentro de Cabines de Segurança Biológica classe II, B2 ou III. Além disso, deve-se estabelecer a combinação apropriada de EPI e dispositivos de contenção física.
- Recomenda-se a instalação de autoclave, de preferência de dupla porta e de fluxo único, estando a abertura no interior do laboratório NB-3 e a saída na área de apoio das instalações de contenção.
- É obrigatório o uso de roupas de proteção apropriadas, bem como o uso de máscaras, gorros, luvas, propés ou sapatilhas.
- Os profissionais que fazem uso de lentes de contato deverão também utilizar óculos de proteção ou protetores faciais.
- O trabalho em salas contendo animais infectados deve ser realizado com a utilização de equipamentos de proteção respiratória e para os olhos. Quanto ao uso de luvas, estas devem ser trocadas quando necessário ou quando sua integridade estiver comprometida. Pode-se fazer uso de dois pares para evitar o contato com os agentes manipulados nos casos de ruptura. Quando o trabalho com agentes biológicos de risco estiver finalizado e antes de sair do laboratório, as luvas devem ser removidas desprezadas juntamente com o lixo laboratorial contaminado, sem que haja a necessidade de lavá-las.
- Após qualquer procedimento em um laboratório NB-3, os protocolos de lavagem de mãos devem ser rigorosamente seguidos.

Instalações laboratoriais NB-3

As instalações laboratoriais NB-3 devem atender aos critérios estabelecidos para o NB-2, acrescidos dos critérios que seguem. Quando os critérios para o NB-3 forem incompatíveis com os itens estabelecidos para o NB-2, prevalecerá a exigência para o NB-3, ou seja, a solução de maior contenção.

- O acesso ao laboratório é restrito e a entrada é realizada por sistema de portas duplas.
- A entrada e a saída dos profissionais devem ser feitas por meio de câmara pressurizada ou vestiário de barreira adjacente à área de contenção do laboratório, com pressão diferenciada, para colocação e/ou retirada de EPI, dotados de sistema de bloqueio de dupla porta, providos de dispositivos de fechamento automático e de intertravamento.
- As portas do laboratório devem ser de fechamento automático e possuir travas de acordo com a política institucional.
- Uma antessala para a troca de vestuário deve ser incluída entre as duas portas automáticas. São recomendados visores nas paredes divisórias e nas portas entre as salas e áreas de circulação. As janelas e visores devem ter vidro de segurança e serem devidamente vedadas.
- A entrada de materiais de consumo, amostras biológicas (humanas e animais) deve ser feita por intermédio de câmara pressurizada ou por outro sistema de barreira equivalente.
- A saída de emergência do laboratório deve ser localizada de acordo com as normas vigentes.
- Deve haver pelo menos um lavatório para lavagem das mãos, com acionamento automático próximo à porta de saída de cada laboratório.
- Uma autoclave deve ser instalada na área de apoio da área de contenção para esterilizar o material de consumo a ser usado nas atividades laboratoriais.
- As CSB da classe III devem estar conectadas diretamente ao sistema de exaustão, de maneira que se evite qualquer interferência no equilíbrio do ar delas próprias ou do edifício. Se elas estiverem conectadas ao sistema de insuflação do ar, isto deverá ser feito de tal maneira que previna uma pressurização positiva das cabines.
- Devem ser instaladas coifas sobre equipamentos que realizam procedimentos que possam produzir aerossóis. Essas coifas devem estar interligadas ao sistema de tratamento de ar com filtragem absoluta.
- As áreas de contenção devem estar conectadas às áreas de suporte do laboratório e de apoio técnico por meio de um sistema de comunicação.
- Equipamentos como, chuveiro, lava-olhos de emergência e lavatório com dispositivos de acionamento por controles automáticos devem estar presentes nas áreas em contenção e adjacentes à área do laboratório.

- O laboratório deve ter um sistema de ar independente, com ventilação unidirecional, garantindo que o fluxo de ar seja sempre direcionado das áreas de menor risco potencial para as áreas de maior risco de contaminação. O ar de exaustão não deve recircular para qualquer outra área da edificação, devendo ser filtrado por meio de filtro HEPA, antes de ser eliminado para o exterior do laboratório, longe de áreas ocupadas e de entradas de ar. Os filtros HEPA devem ser instalados no ponto de descarga do sistema de exaustão. O fluxo de ar no laboratório deve ser constantemente monitorado.
- Recomenda-se que um monitor visual seja instalado para indicar e confirmar a entrada direcionada do ar para o laboratório. Deve-se considerar a instalação de um sistema de automação para monitoramento do sistema de ar.
- Recomenda-se que o mobiliário seja modular e flexível de forma a facilitar sua mobilidade.
- O piso deve ser revestido de materiais contínuos e impermeáveis. Todas as esquadrias devem ser de material de fácil limpeza e manutenção. As tubulações devem estar preferencialmente nos espaços de fácil acesso à equipe de manutenção. Quando as tubulações das instalações prediais atravessarem pisos, paredes ou teto da área de contenção, os orifícios de entrada e saída devem ser vedados com materiais que garantam o isolamento.
- Os registros devem estar localizados fora da área de contenção do laboratório para interrupção do fluxo de água pela equipe de manutenção quando necessário. Deve haver sifões nas cubas e lavatórios e não devem ser utilizados ralos nas áreas laboratoriais.
- As linhas de suprimento de gases comprimidos e as linhas de vácuo devem ser dotadas de filtros de alta eficiência ou de sistema equivalente, para proteção de inversão do fluxo (dispositivo antirrefluxo). Uma alternativa no caso das linhas de vácuo é o uso de bombas de vácuo portáteis, não conectadas ao exterior da instalação e também dotadas de filtro de alta eficiência.
- Os disjuntores e quadros de comando devem estar localizados fora da área de contenção do laboratório. Todos os circuitos de alimentação de energia elétrica devem ser independentes das demais áreas da edificação. O perímetro de contenção do laboratório deve ser dotado de sistema que permita sua vedação para procedimentos de descontaminação dos ambientes.
- Os laboratórios NB-3 devem possuir sistema de emergência constituído de grupo motor-gerador e chave automática de transferência, para alimentar os circuitos da iluminação de emergência, dos alarmes de incêndio e de segurança predial, dos equipamentos essenciais, tais como, CSB, freezers, refrigeradores e incubadoras, e do ar condicionado de ambientes que necessitam de temperatura e fluxo unidirecional constante do ar.

Nível de biossegurança 4 (NB-4): exigido às atividades que manipulem os agentes biológicos da classe de risco 4.

Não é permitida a manipulação de agentes biológicos de classe de risco 4 nas dependências da UNIFESP.

CABINES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA (CSB)

As cabines de segurança biológica (CSB) são projetadas para proteger o operador, o laboratório, os materiais necessários para as atividades e o meio-ambiente da exposição aos aerossóis infecciosos e respingos que podem ser gerados da manipulação de materiais que contenham agentes infecciosos. As partículas de aerossol são criadas por qualquer atividade que transmita energia para o estado líquido, tais como agitação, derramamento, transferência ou queda de líquido sobre uma superfície ou dentro de outro líquido. Outras atividades de laboratório, tais como cultivo de placas de ágar, inoculação de cultura de células em frascos utilizando pipeta, utilização de pipeta multicanal para dispensar suspensões líquidas de agente infeccioso em placas de microcultura, homogeneizar e agitar materiais infecciosos utilizando vórtex, centrifugação de líquidos infecciosos, além da manipulação de animais pode gerar aerossóis infecciosos. As partículas de aerossol menores do que 5 um de diâmetro e pequenas gotas de 5-100 um de diâmetro não são visíveis a olho nu, podendo ser inaladas ou contaminar a superfície de trabalho.

CSB, quando usadas corretamente, são altamente eficazes na redução de infecções adquiridas em laboratório e contaminações cruzadas de culturas devido a exposição a aerossóis. Três tipos de cabines de segurança biológica estão disponíveis, designadas como Classes I, II e III. Cabines de segurança biológica possuem filtros de ar com alta eficiência na separação de partículas (HEPA) nos sistemas de exaustão e/ou retenção. O filtro HEPA retém pelo menos 99,97% das partículas em suspensão de 0,3 micrão de diâmetro. CSB não devem ser confundidas com dispositivos de fluxo laminar. Cabines de fluxo horizontal de ar nunca devem ser usadas para a manipulação de materiais infecciosos ou tóxicos.

Cabine de Segurança Biológica Classe I

A Cabine de Segurança Biológica Classe I é um dispositivo parcial de contenção para proteção pessoal projetado para operações de pesquisa com agentes biológicos de risco baixo e moderado, sendo recomendada para trabalho com agentes de risco biológico dos grupos 1, 2 e 3. Ela não permite proteção dos produtos manipulados no interior da cabine, mas previne que contaminantes gerados no interior da cabine escapem para o laboratório, fornecendo proteção pessoal e ao meio ambiente. O ar que escoar para dentro da cabine passa pelo operador e não é previamente

tratado com filtros HEPA. O ar exaurido, por sua vez, passa previamente por filtro HEPA antes de deixar a cabine. Algumas CSB Classe I são equipadas com um exaustor integral, enquanto outras contam com o exaustor no sistema de escape edifício.

Cabine de Segurança Biológica Classe II

A cabine classe II, também conhecida com o nome de Cabine de Fluxo Laminar de Ar, fornece proteção pessoal, ao meio ambiente e aos produtos manipulados em seu interior. Distinguem-se das CSB de Classe I pelo fato de só permitirem o fluxo de ar esterilizado (filtro HEPA) sobre a superfície de trabalho. O gabinete de classe II tem quatro modelos dependendo da quantidade de ar que é recirculado e/ou renovado. Pode ser usado com agentes biológicos de risco baixo ou moderado, quantidades mínimas de substâncias tóxicas e produtos químicos e quantidades vestigiais de radionuclídeos.

- Classe II A: Nesta classe, há recirculação de 70% do ar, e renovação de 30% (exauridos para o interior do laboratório). O ar contaminado após filtragem pelo filtro HEPA do exaustor passa ao ambiente onde a cabine está instalada (a cabine deve ter pelo menos 20 cm de afastamento do teto). Não se deve usar este tipo de cabine com substâncias tóxicas, explosivas, inflamáveis ou radioativas pela elevada percentagem de recirculação do ar. É recomendada para trabalho com agentes de risco biológico dos grupos 1, 2 e 3.
- Classe II B1: Neste caso, 100% do ar são renovados. Os 100% do ar insuflado são somados aos 30% do ar que formam uma cortina de proteção na parte frontal do equipamento. Desta forma, impede que haja fuga do ar contaminado para o laboratório. Este ar é exaurido para o ambiente externo por um sistema de dutos. Essa classificação é ideal para manipulação vírus que acarretem perigo à saúde humana e ao meio ambiente. O ar que entra na cabine atravessa o filtro HEPA abaixo da área de trabalho, 30% do ar recircula enquanto que 70% sai através do filtro exaustor. É recomendada para trabalho com agentes de risco biológico dos grupos 1, 2 e 3.
- Classe II B2: É uma cabine de total esgotamento de ar. O ar entra pelo topo da cabine atravessa o pré-filtro e o filtro HEPA sobre a área de trabalho. O ar filtrado, atravessa somente uma vez a área de trabalho. O esgotamento do ar deve ser realizado através do filtro HEPA conduzindo-o, por um duto, para o exterior. Pode ser usado para agentes biológicos tratados com produtos químicos e radionucleotídeos. É recomendada para trabalho com agentes de risco biológico dos grupos 1, 2 e 3.

- Classe II B3: A velocidade de fluxo de ar no seu interior é de 75 a 100 pés/min. O ar é esgotado totalmente através de um filtro HEPA por um duto para o exterior. É recomendada para o trabalho com agentes de risco biológico das classes 1, 2 e 3.

Cabine de Segurança Biológica Classe III

Este tipo de câmara fornece o nível mais elevado de proteção pessoal e é utilizado para manipulação de agentes de classe de risco 4. O ar fornecido é filtrado por HEPA e o ar expelido passa por 2 filtros HEPA em série ou um filtro HEPA e um incinerador. O fluxo de ar é mantido por um sistema de ventilação próprio, fora da câmara, que mantém o interior da mesma sob pressão negativa (cerca de 124,5 Pa). O acesso à superfície de trabalho requer luvas de borracha de grande resistência, colocadas à entrada da câmara. As CSB – Classe III devem possuir uma caixa de passagem anexa que possa ser esterilizada e equipada com um exaustor de filtro HEPA. As câmaras podem ser conectadas a uma autoclave de duas portas, apropriada para descontaminar todos os materiais que entram ou saem das câmaras. Pode conter todos os serviços como: refrigeradores, estufas, freezers, centrífugas, banho-maria, microscópio e sistema de manuseio de animais. NÃO PODE CONTER GÁS. Os dejetos líquidos são recolhidos em um depósito para serem descontaminados antes de serem lançados ao sistema de esgoto. As CSB de Classe III são apropriadas para procedimentos em laboratórios dos Níveis 3 e 4 de segurança biológica.

Escolha de uma câmara de segurança biológica

A escolha de uma cabine de segurança biológica depende em primeiro lugar do tipo de proteção necessária: proteção do produto, proteção pessoal contra micro-organismos das Classes de Risco 1 a 4, proteção pessoal contra exposição a radionuclídeos e químicos tóxicos voláteis ou uma combinação destes. Reagentes químicos tóxicos ou voláteis não devem ser utilizados em CSB que recirculam o ar para o interior do laboratório: câmaras da Classe I, que não estão conectadas ao exaustor do edifício, ou da Classe IIA. Câmaras da Classe II B1 são aceitáveis para trabalhos com quantidades diminutas de químicos voláteis e radionuclídios. Quando estiver previsto trabalhar com quantidades significativas de radionuclídios e químicos voláteis, é necessário utilizar uma cabine de segurança biológica da Classe IIB2, também conhecida por câmara de exaustão máxima.

Utilização de câmaras de segurança biológica em laboratório

1. Localização: A velocidade do fluxo de ar através da abertura frontal para dentro da câmara é de aproximadamente 0,45 m/s. A esta velocidade, a integridade do fluxo direcional de ar é frágil e pode ser facilmente interrompida por correntes de ar geradas por pessoas que caminham perto das CBS, janelas abertas, equipamentos de ar condicionado e abertura e fechamentos das portas do laboratório. Por este motivo, as CSB devem estar situadas afastadas da movimentação de pessoas e de correntes de ar. Sempre que possível, as laterais e parte traseira das CSB devem estar afastadas pelo menos 30 cm de qualquer parede ou equipamento para acesso para manutenção. Uma folga de 30-35 cm acima do gabinete pode ser necessária para o escape do ar através do filtro e para as eventuais trocas do filtro.
2. Operadores: Quando utilizadas de maneira incorreta, os benefícios de proteção das CSB são amplamente diminuídos. Os operadores devem movimentar os braços de maneira cuidadosa no interior da cabine, preferencialmente perpendicular à abertura da frente, de modo a manter a integridade do fluxo de ar. Recomenda-se uma pausa de 1 min após a inserção de mão e braços na cabine e antes da manipulação de materiais para permitir que o gabinete se ajuste e "varra o ar" da superfície das mãos e braços. O número de movimentos na abertura frontal também deve ser minimizado, colocando todos os itens necessários no gabinete antes de iniciar as manipulações.
3. Colocação do material: A grelha frontal das CSB não deve ser bloqueada com papel, equipamento ou outros itens e os materiais e equipamentos geradores de aerossóis devem ser colocados preferencialmente na extremidade posterior da cabine. Os materiais a serem colocados dentro da cabine devem ser descontaminados com etanol a 70%. A manipulação pode ser realizada sobre papéis absorventes encharcados de desinfetante para retenção de salpicos. O trabalho ativo deve fluir de áreas limpas para áreas contaminadas em toda a superfície de trabalho. Se possível, o saco de coleta de risco biológico autoclavável e a bandeja de coleta de pipeta devem ser colocados no interior da cabine. O movimento freqüente de entrada e saída necessário para utilizar esses recipientes prejudica a integridade da barreira de ar da cabine e pode comprometer a proteção pessoal e do material.
4. Operação e manutenção: A maioria das CSB são projetadas para permitir a operação 24 h/dia e a operação contínua ajuda a controlar os níveis de poeira e material particulado no laboratório. As câmaras devem ser ligadas pelo menos 5 minutos antes do início das atividades e permanecer ligadas 5 minutos após o término do uso, a fim permitir que o ar contaminado seja expelido do ambiente interior da câmara. Todas as reparações numa cabine de segurança biológica devem ser efetuadas por um técnico qualificado. Qualquer defeito no funcionamento deve ser assinalado e reparado antes da utilização da câmara.

5. Lâmpadas ultravioleta: Lâmpadas ultravioleta não são necessárias nas CSB. Se forem utilizadas, devem ser limpas semanalmente, a fim de que o pó e a sujidade não bloqueiem a eficácia germicida dos raios. A intensidade dos raios deve ser verificada no momento da certificação, a fim de assegurar que a emissão de luz é apropriada. É necessário desligar as lâmpadas ultravioleta quando a sala está ocupada, para proteger os olhos e a pele de exposição ocupacional.
6. Chamas vivas: Chamas vivas devem ser evitadas no interior da cabine, pois perturbam os padrões do fluxo de ar e podem ser perigosas quando se utilizam substâncias inflamáveis voláteis. A esterilização de alças microbiológicas deve ser realizada com microqueimadores ou incineradores.
7. Derramamentos: Deve estar afixada no laboratório uma cópia dos procedimentos necessários em caso de derramamentos; todo o pessoal do laboratório deve ler e compreender estes procedimentos. Se ocorrer um derramamento de material perigoso dentro de uma cabine de segurança biológica, inicia-se imediatamente a limpeza, mantendo o funcionamento da câmara. Deve utilizar-se um desinfetante eficaz e aplicá-lo de forma a minimizar a produção de aerossóis. Todo o material que entrou em contacto com o produto derramado deve ser desinfetado e/ou esterilizado em autoclave.
8. Certificação: O funcionamento e a integridade operacional das CSB devem ser certificados conformes às normas nacionais e internacionais, no momento da instalação e depois periodicamente, por técnicos qualificados, de acordo com as instruções do fabricante. A avaliação da eficácia do confinamento das câmaras deve incluir testes sobre a integridade da câmara, fugas nos filtros HEPA, perfil de velocidade do fluxo de descida, velocidade aparente, pressão negativa/taxa de ventilação, modelo de fumo do fluxo de ar, alarmes e interconexões. Podem ser feitos testes adicionais para fugas de eletricidade, intensidade de iluminação, intensidade das luzes ultravioleta, nível de ruído e vibração. Para efetuar estes testes é necessário uma formação, aptidão e equipamentos especiais, sendo por isso imprescindível que sejam feitos por um profissional qualificado.
9. Limpeza e desinfecção: Todos os artigos presentes nas CBS devem ser descontaminados e retirados da câmara no final das operações, dado que os meios de cultura residuais podem permitir a proliferação de microorganismos. As superfícies internas das CSB devem ser descontaminadas antes e depois de cada utilização. As superfícies de trabalho e as paredes interiores devem ser esfregadas com um desinfetante eficaz contra os microrganismo manipulados na câmara. No final do dia de trabalho, a descontaminação final da superfície deve incluir uma limpeza geral da superfície de trabalho, das partes laterais e do fundo e do interior do vidro. É necessário limpar uma segunda vez com água esterilizada, quando se utilizar um desinfetante corrosivo como o hipoclorito de sódio. É aconselhável que a câmara continue a funcionar durante a descontaminação. Caso tenha sido

- desligada, deve ser religada e permanecer em funcionamento durante 5 minutos para purgar o ar interior, antes de ser desligada.
10. Descontaminação: As CSB precisam ser descontaminadas antes da troca de filtros ou qualquer alteração de localização. O método de descontaminação mais comum é a fumigação com gás formaldeído. A descontaminação das câmaras deve ser efetuada por um profissional qualificado.
 11. Equipamento de proteção individual: EPI devem ser utilizados durante as atividades nas CSB. Aventais de laboratório são aceitáveis para os trabalhos realizados em Níveis 1 e 2 de segurança biológica. Aventais com fechamento na parte posterior fornecem uma proteção mais adequada em Níveis 3 e 4 de segurança biológica (exceto nos laboratórios onde os vestimentas pressurizadas são obrigatórias). As luvas devem cobrir os punhos do avental e não devem ficar debaixo das mangas. Recomenda-se a utilização de mangas elásticas para proteger os pulsos do investigador. Para certos procedimentos podem ser necessárias máscaras e óculos de proteção.
 12. Alarmes: As CSB podem ser equipadas com um ou dois tipos de alarme. Alarmes no painel de observação só existem nas câmaras com painel de correr. O alarme é acionado quando o operador não coloca o painel na posição apropriada; para corrigir esta situação, basta colocar o painel na posição correta. Alarmes referentes ao fluxo de ar indicam que há uma deficiência no fluxo normal de ar da câmara; isto significa que há um perigo imediato para o operador ou para o produto. Quando este alarme se ativar, o trabalho deve ser imediatamente interrompido e o supervisor do laboratório deve ser informado. O manual de instruções do fabricante deve fornecer mais informações.
 13. Informações suplementares: Escolher o tipo apropriado de cabine, instalá-la, utilizá-la corretamente e certificar o seu bom funcionamento todos os anos são processos complexos. Assim, é aconselhável que isto seja feito sob a supervisão de um profissional de segurança biológica, devidamente formado e com experiência. Este profissional deve estar bem familiarizado com a documentação pertinente, e ter recebido uma formação sobre todos os aspectos das CSsB. Os operadores devem receber uma instrução formal sobre o funcionamento e utilização das CSB.

PRÁTICAS RECOMENDADAS

PIPETADORES E PIPETAS

Todos os procedimentos de pipetagem devem ser realizados com o auxílio de pipetadores. É terminantemente proibido pipetar com a boca. Aspiração e ingestão de materiais perigosos são os riscos mais comuns

associados à sucção bucal, sendo responsável por muitas infecções associadas a laboratório.

Aerossóis podem ser gerados quando um líquido é derramado de uma pipeta para uma superfície de trabalho, quando as culturas são misturadas por sucção de aspiração e sopro, e quando a última gota é expelida para fora de uma pipeta. A inalação de aerossóis inevitavelmente gerados durante as operações de pipetagem pode ser prevenida realizando as atividades em uma cabine de segurança biológica.

Pipetadores devem ser selecionados com cuidado. Sua concepção e utilização não devem criar um risco adicional de infecção e devem ser fáceis de limpar e esterilizar. Pipetadores motorizados (resistentes a aerossol) devem ser utilizados para manipulação de micro-organismos e culturas de células. Pipetas com pontas de sucção rachadas ou lascadas não devem ser utilizados, pois podem danificar os selos de vedação dos pipetadores. Adote as seguintes precauções:

- Utilize sempre pipetas ocluídas com algodão ao pipetar fluidos biológicos perigosos ou tóxicos.
- Nunca preparar qualquer tipo de mistura que ofereça risco biológico por aspiração e expulsão através de uma pipeta fora das CSB.
- Materiais de risco biológico não devem ser forçosamente descarregados das pipetas.
- Não expelir material de risco biológico de uma pipeta em elevação. Sempre que possível descarregar o líquido pela parede do recipiente.
- Coloque pipetas reutilizáveis contaminadas horizontalmente em um recipiente contendo líquido desinfetante suficiente para cobri-las completamente.
- Autoclave as pipetas antes de reutilizá-las.
- Quando a atividade é realizada dentro de uma cabine de segurança biológica, todos os recipientes ou contentores para perfurocortantes devem ser colocados no interior da cabine enquanto está em uso.

HOMOGENEIZADORES, AGITADORES, LIQUIDIFICADORES E SONICADORES

Homogeneizadores domésticos (de cozinha) não são selados e liberam aerossóis. Apenas equipamentos concebidos para uso em laboratório devem ser utilizados, uma vez que são desenhados para minimizar ou evitar a liberação de aerossóis. Homogeneizadores utilizados para manipulação de micro-organismos do Classe de Risco 3 devem sempre ser abertos e carregados em CSB. Sonicadores podem liberar aerossóis e devem ser operados em CSB ou cobertos com algum tipo de proteção durante o uso. As proteções e partes externas dos sonicadores devem ser descontaminadas após o uso.

AUTOCLAVE

As regras apresentadas a seguir podem minimizar os perigos inerentes à utilização de aparelhos sob pressão.

1. A responsabilidade pela utilização e pelos cuidados de rotina deve ser atribuída ao pessoal devidamente treinado e à chefia do setor ou departamento.
2. Um programa de manutenção preventiva deve incluir inspeção regular, por pessoal qualificado.
3. O vapor deve estar saturado e sem produtos químicos (por exemplo, inibidores de corrosão) que possam contaminar os materiais a esterilizar ou danificar o equipamento.
4. Todos os materiais a esterilizar em autoclave devem estar dispostos em recipientes que permitam rápida remoção do ar e boa penetração do calor; a câmara não deve ficar demasiadamente carregada para que o vapor atinja de maneira uniforme toda a carga.
5. Se a autoclave não tiver um dispositivo de segurança que impeça a abertura da porta quando a câmara está sob pressão, é preciso que a principal válvula de vapor esteja fechada e que a temperatura baixe para menos de 80°C antes da abertura da porta.
6. É necessário utilizar um processo de vazão lenta para esterilizar líquidos em autoclave, pois estes podem transbordar ao ser retirados devido ao superaquecimento.
7. Os usuários da autoclave devem utilizar luvas e proteção ocular apropriadas como proteção para abrir a autoclave, mesmo quando a temperatura estiver abaixo de 80°C.
8. Para controle de rotina do funcionamento da autoclave, indicadores biológicos devem ser colocados na câmara. É fortemente aconselhado o controle regular com fitas térmicas e dispositivos de registo numa situação de carga excessiva, para determinar ciclos de funcionamento corretos.
9. O filtro de esvaziamento da câmara (se existir) deve ser tirado e limpo todos os dias.
10. Deve-se assegurar que as válvulas de escape de autoclaves tipo panela de pressão não fiquem obstruídas com papéis ou outros materiais contidos na carga.

Os seguintes EPI devem ser usados quando se opera uma autoclave:

- luvas termo-resistentes para carga e descarga da autoclave;
- luvas resistente a fluidos para evitar o contato com resíduos contaminados;

- vestimenta de laboratório (jalecos, aventais, etc) para proteger a roupa pessoal;
- óculos contra respingos, se necessário.

Para mais detalhes sobre a utilização da autoclave, consulte a sessão Processos de Descontaminação (página 50).

CITÔMETRO DE FLUXO

As células devem ser classificadas sob as mesmas condições de contenção (por exemplo, NB-2 para células de origem humana) nas quais elas são manuseadas. Ao separar células potencialmente infecciosas não fixadas, é importante que se tenha em mente que aerossóis potencialmente infecciosos são gerados. Quando o separador de células não funcionar adequadamente (por exemplo, bico entupido), pode haver um aumento da produção de aerossóis. Separadores celulares de alta velocidade também produzem maior quantidade de aerossóis. Devem também ser tomadas as seguintes precauções:

- equipamento de proteção individual adequado deve ser usado (isto é, jaleco, luvas, respiradores, óculos contra respingos, proteção de rosto, se necessário);
- se possível, o separador de células deve estar localizado em uma sala isolada;
- o separador celular deve ser operado de acordo com as recomendações do fabricante;
- o separador celular deve ser descontaminado após cada corrida utilizando um desinfetante apropriado, que deve ser passado através da máquina por pelo menos 10 minutos;
- recursos adicionais de segurança biológica podem ser instalados ao separador, conforme necessidade.

PERFUROCORTANTES

A utilização de perfurocortantes deve ser restrita aos procedimentos para os quais não há outra alternativa, dentre esses estão incluídos injeção parenteral, flebotomia e aspiração de fluidos. Sempre que possível, materiais plásticos alternativos devem ser considerados a fim de evitar incidentes desnecessários relacionados à exposição a perfurocortantes.

No caso da utilização ser inevitável, as seguintes práticas devem ser realizadas:

- todo o pessoal deve ser treinado em procedimentos de segurança com perfurocortantes;

- se possível, use dispositivos perfurocortantes descartáveis (bisturis, agulhas);
- os procedimentos devem ser organizados de uma forma que limite a exposição pessoal ao dispositivo perfurocortante. por exemplo:
 - ✓ não exponha/desembainhe dispositivos perfurocortantes até que o procedimento realmente requeira o uso desses itens;
 - ✓ não deixe objetos perfurocortantes expostos;
 - ✓ se possível, coloque um contentor para material perfurocortante dentro do alcance do braço para permitir a eliminação imediata,
- não dobrar ou quebrar material perfurocortante;
- não recapear agulhas;
- eliminar os resíduos perfurocortantes em um recipiente apropriado de paredes rígidas, resistentes à punctura, ruptura e vazamento, com tampa, devidamente rotulado, segundo normas legais e técnicas vigentes;
- fechar e substituir os contentores de perfurocortantes quando atingirem $\frac{3}{4}$ cheio de sua capacidade;
- nunca utilizar vidrarias quebradas ou rachadas.

CRIOSTATOS

Os cortes de tecido animal ou humano congelados não fixados infectados com um agente etiológico representam um risco. O congelamento do tecido não necessariamente inativa os agentes infecciosos. Propulsores de congelamento sob pressão não devem ser utilizados uma vez que podem causar respingos de gotículas de material infeccioso. Devem ser utilizadas luvas durante a preparação de cortes congelados. Quando trabalhar com material com risco biológico em um criostato, recomenda-se o seguinte:

- considere o conteúdo do criostato contaminado e descontamine-o com frequência com um desinfetante apropriado para o(s) agente(s) em uso;
- considere que aparas e cortes de tecido que se acumulam no criostato são potencialmente infecciosos e remova-os durante a descontaminação;
- no caso de cortes de tecido infectados com *m. tuberculosis* ou outros agentes infecciosos, descontaminar o criostato regularmente e logo após o corte com um desinfetante tuberculicida;
- manuseie as lâminas do micrótomo com extremo cuidado. luvas de malha de aço inoxidável devem ser utilizadas para realizar a troca das lâminas de corte;
- considere contaminadas as soluções para coloração de cortes congelados potencialmente infectados.

CENTRÍFUGAS

Perigos associados a centrifugação incluem falha mecânica e a criação de aerossóis. Para minimizar o risco de falha mecânica, centrífugas devem ser mantidas e utilizadas de acordo com as instruções do fabricante. Aerossóis são criados por práticas como preencher tubos de centrífuga, remover o sobrenadante e ressuspensão de precipitados sedimentados. O maior perigo da geração de aerossol ocorre nas pausas durante o processo de centrifugação. Para minimizar a geração de aerossóis durante a centrifugação de material de risco biológico, os seguintes procedimentos devem ser seguidos:

- use tubos selados e caçapas de segurança com vedação com *o-rings*; antes do uso, inspecione tubos, anéis e caçapas para rachaduras, lascas, erosões, pedaços de vidro quebrado, etc. não use papel alumínio para cobrir tubos de centrífuga, pois podem soltar ou romper durante a centrifugação;
- faça o preenchimento e abertura dos tubos de centrífuga, rotores e acessórios em CSB; evite encher demasiadamente os tubos de centrífuga de modo que as tampas não se molhem; depois de os tubos estarem cheios e selados, limpe-os com desinfetante;
- adicionar desinfetante no espaço entre o tubo e a caçapa de modo a desinfetar o material no caso de quebra durante a centrifugação;
- sempre equilibre caçapa, tubos e rotores adequadamente antes da centrifugação;
- não descartar o sobrenadante por derramamento. use um sistema de vácuo com reservatórios adequados em linha e filtros;
- trabalhar em uma cabine de segurança biológica no momento da ressuspensão de material sedimentado. realize movimentos rotativos ao invés de ressuspensão em vortex. Se agitação é necessária, espere alguns minutos para permitir que o aerossol assente antes da abertura do tubo;
- centrífugas pequenas de baixa velocidade podem ser colocadas durante o uso em uma cabine de segurança biológica para reduzir o escape de aerossol.

LIOFILIZADORES E AMPOLAS

Dependendo do modelo do liofilizador, pode ocorrer produção de aerossol quando o material é carregado ou removido da unidade liofilizadora. Se possível, o material da amostra deve ser carregado em uma cabine de segurança biológica. O escape da bomba de vácuo deve ser filtrado para remover quaisquer agentes perigosos ou, alternativamente, a bomba pode ser ventilada para uma cabine de segurança biológica. Após o término da liofilização, todas as superfícies do aparelho que tenham sido expostos ao

agente devem ser desinfetados. Se o liofilizador é equipado com uma câmara removível, esta deve ser fechada e transferida para uma cabine de segurança biológica para o descarregamento e descontaminação. Manipulação de culturas deve ser minimizada e purgadores devem ser usados sempre que possível.

A abertura de ampolas contendo material de cultura infecciosa líquida ou liofilizada deve ser realizada em uma cabine de segurança biológica de modo a controlar o aerossol produzido e luvas devem ser usadas. Para abrir, acople o dispositivo no gargalo da ampola com um papel toalha embebido em desinfetante, segure a ampola na posição vertical e force o dispositivo para abrir no gargalo. Reconstitua o conteúdo da ampola por adição lenta de líquido para evitar a formação de aerossol do material seco. Descarte o papel toalha e a ampola como resíduos de risco biológico. Ampolas utilizadas para armazenar material de risco biológico em nitrogênio líquido podem explodir causando lesões oculares e exposição ao agente infeccioso. O uso de tubos de polipropileno elimina este risco. Esses tubos estão disponíveis pré-esterilizados e são equipados com tampas de polietileno com arruelas de silicone. Tubos de polipropileno lacrados por calor também estão disponíveis.

ESTERILIZADORES DE ALÇA E BICOS DE BUNSEN

Esterilização de alças de inoculação ou agulhas em uma chama viva gera pequenas partículas de aerossóis que podem conter micro-organismos viáveis. O uso de um incinerador elétrico blindado ou esterilizador com esferas quentes minimiza a produção de aerossóis durante a esterilização de alças.

Alternativamente, alças de plástico e agulhas descartáveis podem ser usadas para o manuseio de cultura. Queimadores a gás não devem ser utilizados em CSB, pois podem produzir turbulência que perturba os padrões de fluxo de ar de proteção do gabinete. Além disso, o calor produzido pela chama contínua pode danificar o filtro HEPA.

DIRETRIZES PARA TRABALHAR COM CULTURA DE TECIDOS/ LINHAGENS CELULARES

Quando culturas de células são conhecidas por conterem um agente etiológico ou um vírus oncogênicos, a linhagem celular deve ser classificada no mesmo nível de segurança biológica recomendado para o agente. Todas as linhagens celulares de origem humana devem ser manipuladas em um laboratório NB-2. As linhagens celulares de origem não-primata ou primatas normais, que não abrigam um vírus primata, que não estão contaminadas com bactérias, micoplasmas ou fungos e que são bem estabelecidas, podem ser consideradas linhagens celulares de Classe I e manipuladas em um laboratório de Nível de Biossegurança 1. Os testes apropriados devem confirmar esta avaliação.

Linhagens celulares primatas derivadas de tecidos linfóides ou tumorais, todas as linhas celulares expostas a ou transformadas por um vírus oncogênico primata, todo material clínico (por exemplo, amostras de tecidos humanos e fluidos obtidos de ressecção cirúrgica ou autópsia), todo o tecido primata, todas as novas linhagens de células (até que se tenha revelado isento de todos os agentes de risco) e todas as linhagens de células de primatas contendo vírus e micoplasma são classificadas como Classe de Risco 2 e devem ser manipuladas em um laboratório Nível de Biossegurança 2. Estudos envolvendo suspensões de HIV preparados a partir de linhagens de células T devem ser manuseadas em laboratórios NB-3.

A contaminação de soro bovino por Encefalopatia Espongiforme Transmissível não deve ser ignorada. Para obter mais informações sobre testes e pureza de soro bovino usado em seu laboratório, entre em contato com o seu fornecedor.

PROCESSOS DE DESCONTAMINAÇÃO

Os ambientes laboratoriais são bastante propícios à contaminação. A adoção de medidas básicas de prevenção pode reduzir a incidência e a gravidade destas contaminações e possíveis infecções. É absolutamente necessário zelar pela saúde do trabalhador, além de prevenir disseminação de micro-organismos no ambiente.

A descontaminação é definida como a redução de micro-organismos a um nível aceitável. Os métodos aplicados para atingir esse objetivo podem variar e na maioria das vezes incluem métodos de desinfecção ou esterilização.

Desinfecção é o processo de eliminação de formas vegetativas, existentes em superfícies inanimadas, por agentes químicos e/ou físicos. Não deve ser confundido com a esterilização, pois não elimina esporos bacterianos. Os métodos de descontaminação envolvem processos físicos e químicos e estão contidos em quatro categorias principais:

- calor;
- químicos líquidos;
- vapores e gases;
- radiação.

A desinfecção é normalmente realizada pela aplicação de produtos químicos líquidos ou calor úmido durante a ebulição ou pasteurização. Para esterilização são utilizados vapores e gases (por exemplo, óxido de etileno), radiação e calor úmido (esterilização a vapor numa autoclave). Alguns produtos químicos líquidos também são aplicados para esterilização, se utilizados na concentração e tempo corretos de exposição.

Ao escolher um método de descontaminação, é importante levar em conta os seguintes aspectos:

- tipos de agentes de risco biológico, a concentração e potencial de exposição;
- perigos físicos e químicos relacionados aos produtos, materiais, meio ambiente e do pessoal.

Fique atento à RDC nº 184, de 22 de outubro de 2001, que dispõe sobre o registro de produtos saneantes domissanitários e afins, de uso domiciliar, institucional e profissional.

Limpeza de material de laboratório

Assepsia é a ausência de matérias sépticas (micro-organismos infecciosos ou patogênicos, por exemplo) em determinados ambientes. A assepsia é realizada por meio de um conjunto de procedimentos que visam impedir a introdução de germes patogênicos em determinado organismo, ambiente e objetos. É o cuidado com a limpeza e higiene de tudo que nos cerca.

Antes da desinfecção ou esterilização de qualquer tipo de material é fundamental que seja realizada uma limpeza adequada, para que resíduos de matéria orgânica que possam ficar presentes nos materiais não interfiram na qualidade dos processos de desinfecção e esterilização.

A limpeza dos materiais pode ser realizada por meio de métodos:

- Mecânicos: para a realização da limpeza mecânica é fundamental uma vigorosa escovação dos materiais, com auxílio de sabão e escovas de diferentes formatos. As escovas também devem sofrer processo de limpeza e desinfecção. Para uma adequada descontaminação, as escovas podem ser mergulhadas em hipoclorito de sódio a 1%, em recipiente plástico, durante 30 minutos, posteriormente enxaguadas e secas. Devem ser mantidas secas.
- Físicos: aparelhos de ultra-som, que auxiliam na remoção de matéria orgânica.
- Químicos: processos químicos também podem auxiliar na limpeza dos materiais, como por exemplo, desencrostantes e soluções enzimáticas. Podem ser utilizadas soluções anti-ferrugem em instrumentais e materiais metálicos, para aumentar a vida útil dos mesmos.

Devem ser utilizadas barreiras de proteção pelo profissional que exerce a limpeza dos materiais, como luvas de borracha grossas e de cano longo, máscaras e óculos de proteção, em situações em que haja a possibilidade de respingo de secreções. Os materiais devem ser devidamente enxaguados e secos após sua limpeza. As compressas ou panos utilizados para secar o material devem ser somente para este fim e devem ser substituídos frequentemente.

A limpeza correta é essencial, pois reduz a carga microbiana.

Métodos de desinfecção

O desinfetante líquido apropriado deve ser escolhido após uma avaliação cuidadosa do agente biológico e o tipo de material a ser descontaminado. Os desinfetantes líquidos são preferencialmente utilizados para superfícies sólidas e equipamentos. Eles variam muito em sua eficiência, dependendo dos constituintes químicos e agentes envolvidos.

A desinfecção pode ser dividida em três níveis de acordo com o espectro de destruição dos micro-organismos:

- Desinfecção de alto nível: destrói todas as formas vegetativas de micro-organismos, inclusive *Mycobacterium tuberculosis*, vírus lipídicos e não lipídicos, fungos e uma parte dos esporos. Exemplos: glutaraldeído 2% (período mínimo de 30 minutos), peróxido de hidrogênio 3-6%, formaldeído 1-8%, ácido peracético, composto clorado a 10.000 ppm (ou 1%), óxido de etileno.
- Desinfecção de médio nível: inativa o bacilo da tuberculose, bactérias na forma vegetativa, a maioria dos vírus e fungos, exceto esporos bacterianos. Exemplos: compostos clorados de 500 a 5000 ppm (0,05 a 0,5%), etanol 70% (tempo de contato mínimo é de 10 minutos).
- Desinfecção de baixo nível: elimina a maioria das bactérias, alguns vírus como o HIV, o da Hepatite B e Hepatite C, fungos. Não destrói micro-organismos resistentes como bacilo da tuberculose e esporos bacterianos. Como exemplos, podem ser citados compostos fenólicos 0,5-3%, compostos de iodo e quaternário de amônia.

Variáveis a serem consideradas na desinfecção:

- Natureza da superfície a ser desinfetada - porosa ou lisa: superfícies mais porosas e ásperas, precisam ficar expostas por tempos mais prolongados aos desinfetantes.
- Número de microrganismos presentes: concentrações mais elevadas requerem um tempo de aplicação mais longo e / ou maior concentração de desinfetante.
- Resistência de microorganismos: os agentes microbianos podem ser classificados de acordo com a resistência aos desinfetantes e calor.
- Presença de material orgânico: as proteínas presentes em materiais orgânicos como sangue, fluidos corporais e tecidos podem prevenir ou retardar a atividade de certos desinfetantes.
- Duração da exposição e temperatura: aumento do tempo de exposição aumenta a eficácia dos desinfetantes. Baixa temperatura pode diminuir a atividade dos desinfetantes e necessitar de maior tempo de exposição.

A eficácia dos desinfetantes químicos depende de vários fatores, como:

- Concentração ou diluição do produto: devem ser seguidas as recomendações do fabricante quanto à forma de aplicação, e o volume a ser utilizado.
- Indicação: verificar se é suficiente realizar a desinfecção da superfície ou se é necessário realizar imersão do objeto para realizar a desinfecção.
- Tempo de atuação ou exposição, seguindo-se as recomendações do fabricante.
- Temperatura: a temperatura alta acelera o processo de desinfecção.
- Presença de matéria orgânica: a retirada prévia de sujidades melhora a ação do desinfetante.
- Material a ser desinfetado: quanto mais poroso o material, menor a eficácia do desinfetante.

Existem inúmeros desinfetantes líquidos disponíveis sob uma variedade de nomes comerciais. Em geral, estes podem ser classificados como halogêneos, ácidos ou alcalinos, sais de metais pesados, compostos de amônio quaternário, aldeídos, cetonas, álcoois e aminas. Infelizmente, os desinfetantes mais eficazes são muitas vezes corrosivos e tóxicos. Abaixo encontram-se alguns desinfetantes mais utilizados:

- Álcoois: etanol (álcool etílico) ou isopropanol (propan-2-ol, isopropílico) na concentração de 70% são bons desinfetantes de uso geral. No entanto, eles evaporam rapidamente e, portanto, têm tempo de exposição limitado. Eles são menos ativos contra vírus não lipídicos e ineficazes contra esporos bacterianos.
- Formalina: a formalina é uma solução a 37% de formaldeído em água. A diluição de formalina a 5% resulta num desinfetante eficaz. O formaldeído é um possível carcinógeno humano e causa problemas respiratórios mesmo em baixas concentrações, além de ser corrosivo.
- Glutaraldeído: este composto, embora quimicamente relacionado com o formaldeído, é mais eficaz contra todos os tipos de bactérias, fungos e vírus. Vapores de glutaraldeídos são irritantes para os olhos, mucosas nasais e trato respiratório superior. Devem sempre ser utilizados de acordo com as instruções no rótulo e com o equipamento de proteção individual adequado.
- Fenol e seus derivados: a concentração dos desinfetantes à base de fenol varia principalmente entre 5% a 10%. Esses derivados, incluindo fenol, têm um odor que pode ser um pouco desagradável. O fenol em si é tóxico e corrosivo, e é necessário equipamento de proteção individual adequado durante sua manipulação. Os desinfetantes fenólicos são utilizados frequentemente para desinfecção de superfícies contaminadas (por exemplo, paredes, pisos e bancadas). Eles efetivamente eliminam bactérias, incluindo *Mycobacterium*

tuberculosis, fungos e vírus lipídicos. Eles não são ativos contra esporos ou vírus não lipídicos.

- Compostos de amônio quaternários (quats): são detergentes catiônicos com forte atividade superficial. São aceitáveis como desinfetantes de uso geral e são ativos contra bactérias Gram-positivas e vírus lipídicos. Eles são menos ativos contra bactérias Gram-negativas e não são ativos contra vírus não-lipídicos. Os quats são facilmente inativados por materiais orgânicos, detergentes aniônicos ou sais de metais encontrados na água. Se Quats são misturados com fenóis, eles são eficazes desinfetantes, bem como produtos de limpeza. Quats são relativamente não tóxicos e podem ser usados para descontaminação de equipamentos alimentares e para limpeza geral.
- Halogênios (cloro e iodo): as soluções contendo cloro têm uma atividade de largo espectro. O hipoclorito de sódio é a base mais comum para desinfetantes de cloro. A água sanitária comum (5% de cloro disponível) pode ser diluído entre 1/10 e 1/100 com água para produzir uma solução desinfetante satisfatória. Os desinfetantes contendo cloro são inativados por excesso de materiais orgânicos. São também oxidantes fortes e muito corrosivos. Utilize sempre equipamento de proteção individual adequado quando for manipular estes compostos. Em concentrações elevadas e tempo de contato prolongado, as soluções de hipoclorito são consideradas esterilizantes a frio, uma vez que inativam esporos bacterianos. O iodo tem propriedades semelhantes ao cloro. Os iodóforos (iodo organicamente ligado) são bons desinfetantes. Eles são mais frequentemente utilizados como antissépticos e em sabões cirúrgicos e são relativamente não tóxico para os seres humanos.

Para a escolha do desinfetante mais apropriado para desinfecção do seu material, consulte as Tabelas 3 e 4 (páginas 57 e 58).

Métodos de esterilização

Calor

Para eliminar os agentes microbianos, o calor pode ser aplicado na forma seca ou úmida. A vantagem do calor úmido é uma melhor transferência de calor para o material, resultando em menor tempo de exposição e menor temperatura. Este tipo de processo elimina todas as células microbianas, incluindo esporos, que são normalmente resistentes ao calor.

A esterilização por vapor saturado sob pressão (autoclave) é o meio mais eficaz e seguro de esterilizar materiais de laboratório. Na maior parte dos casos, os ciclos a seguir indicados assegurarão a esterilização de materiais corretamente carregados em autoclave:

1. durante 3 minutos a 134°C;
2. durante 10 minutos a 126°C;
3. durante 15 minutos a 121°C;
4. durante 25 minutos a 115°C.

Para conseguir o mesmo efeito com o calor seco em um forno, a temperatura tem de ser aumentada para 160-170 ° durante períodos de 2 a 4 horas.

Para garantir que todos os resíduos biológicos perigosos gerados sejam devidamente descontaminados, as autoclaves devem ser testadas anualmente. Testes biológicos e químicos são usados para monitorar o ciclo de autoclave dentro da câmara. Ampolas com esporos resistentes ao calor (*Bacillus stearothermophilus*) e tiras integradoras de esterilização a vapor são utilizadas para indicar que são atingidas condições de esterilização adequadas.

O procedimento a seguir é recomendado para a descontaminação de resíduos com risco biológico:

- ✓ Os itens devem ser autoclavados em sacos de autoclave aprovados e em um recipiente secundário autoclavável rígido.
- ✓ Siga as orientações definidas pelos parâmetros da autoclave ao definir o tempo de ciclo.
- ✓ Adicione uma xícara de água para cada saco de resíduos sólidos e mantenha os sacos abertos. O vapor não penetra em sacos fechados.
- ✓ Para evitar derrames e acidentes, certifique-se de que a exaustão é apropriada para o tipo de material que você está autoclavando. Exaustão rápida deve ser usada para resíduos e outros itens sólidos e exaustão lenta para resíduos e outros itens líquidos.
- ✓ Após o ciclo completo, deixe o saco esfriar antes de removê-lo da autoclave.
- ✓ Feche bem o saco de autoclave.
- ✓ Coloque os sacos de autoclave em sacos brancos contendo símbolo de material infectante e feche-os de forma segura antes de descartar.

Seguem alguns procedimentos gerais para utilização da autoclave:

- ✓ O material oxidante forte (produto químico) não deve ser autoclavado com material orgânico: oxidante + material orgânico + calor = possível explosão.
- ✓ Todos os resíduos biodegradáveis devem ser colocados em sacos de risco biológico brancos com Indicador "autoclavado".
- ✓ Antes da autoclavagem, um saco de bio-risco contendo resíduos deve ser mantido fechado para evitar contaminação e odores desagradáveis. No entanto, quando colocado na autoclave, o

saco deve estar aberto para penetração do vapor. Após a remoção da autoclave, o saco deve ser fechado e descartado em um saco de branco opaco para resíduos infectantes.

- ✓ Recomenda-se adicionar água (em torno de 100 mL) a cada saco antes de esterilizar em autoclave.
- ✓ Autoclave os materiais biodegradáveis usando os parâmetros recomendados na autoclave.

Vapores e Gases

Uma variedade de vapores e gases possui propriedades germicidas, sendo que os mais utilizados são o formaldeído e o gás óxido de etileno. Estes compostos promovem esterilização quando são aplicados em sistemas fechados sob condições controladas (por exemplo, umidade).

O formaldeído é usado principalmente na descontaminação de espaços ou equipamentos de contenção biológica, como cabines de segurança biológica, e por ser tóxico e um possível carcinógeno humano, devem ser tomadas precauções no manuseio, armazenagem e utilização. O óxido de etileno é utilizado em esterilizadores a gás sob condições controladas, entretanto, por ser um carcinógeno humano, o monitoramento é necessário durante a sua utilização.

Radiação

O raios X e gama são dois tipos principais de radiação ionizante utilizados na esterilização. A sua aplicação centra-se principalmente na esterilização de dispositivos médicos pré-embalados. A radiação ultravioleta (UV) é um método prático para inativar vírus, micoplasmas, bactérias e fungos. A radiação UV é utilizada com sucesso na destruição de micro-organismos aerotransportados. As capacidades de esterilização da luz UV, como a encontrada em cabines de biossegurança são limitadas em superfícies devido à sua falta de poder de penetração.

Incineração

A incineração é indicada para o tratamento de carcaças de animais, bem como de resíduos anatômicos, com ou sem descontaminação prévia.

Químicos

Existem diversos reagentes químicos capazes de esterilizar materiais por imersão em líquido ou exposição ao gás. Verifique na tabela 4 o reagente mais adequado ao seu propósito e fique atento à toxicidade destes métodos.

Tabela 3: Agentes desinfetantes e ação em micro-organismos.

Agentes desinfetantes	Bactérias	Micobactérias	Esporos bacterianos	Fungos	Vírus
Etanol 70%	+	+	-	+	+/-
Peróxido de hidrogênio	+	+	+/-	+	+
Formaldeído	+	+	+	+	+
Compostos fenólicos	+	+	-	+	+/-
Compostos clorados	+	+	+/-	+	+
Iodóforos	+	+/-	-	+	+
Glutaraldeído	+	+	+	+	+
Amônia quartenária	+/-	-	-	+/-	+/-

Tabela 4: Níveis de atividade de germicidas líquidos

Procedimento/Produto	Concentração	Nível de atividade
Esterilização		
Glutaraldeído	Variável	
Peróxido de hidrogênio	6-30 %	
Formaldeído	6-8 %	
Dióxido de cloro	Variável	
Ácido peracético		
Desinfecção		
Glutaraldeído	Variável	Alta a intermediária
Peróxido de hidrogênio	3-6 %	Alta a intermediária
Formaldeído	1-8 %	Alta a baixa
Dióxido de cloro	Variável	Alta
Ácido peracético	Variável	Alta
Compostos clorados	500 a 5000mL/L cloro ativo	Intermediário
Álcoois (etílico, isopropílico)	70%	Intermediário
Compostos fenólicos	0,5-3 %	Intermediário a baixo
Compostos iodóforos	30-50 mg/L iodo livre 10000 mg/L iodo disponível 0,1-0,2%	Intermediário a baixo
Compostos de amônio quartenário		Baixo

RESÍDUOS POTENCIALMENTE INFECTANTES

De acordo com a RDC ANVISA nº 222/2018 e Resolução CONAMA nº 358/2005, os resíduos de serviços de saúde (RSS) são classificados em cinco grupos: A, B, C, D e E.

Os resíduos potencialmente infectantes estão enquadrados no Grupo A que engloba os componentes com possível presença de agentes biológicos que, por suas características de maior virulência ou concentração, podem apresentar risco de infecção. Exemplos: placas e lâminas de laboratório, carcaças, peças anatômicas (membros), tecidos, bolsas transfusionais contendo sangue, dentre outras.

Os resíduos do grupo A ainda são subdivididos em:

Subgrupo A1:

- As culturas e os estoques de microrganismos; os resíduos de fabricação de produtos biológicos, exceto os de medicamentos hemoderivados; os meios de cultura e os instrumentais utilizados para transferência, inoculação ou mistura de culturas; os resíduos de laboratórios de manipulação genética.
- Resíduos provenientes de atividades de vacinação com microrganismos vivos, atenuados ou inativados incluindo frascos de vacinas com expiração do prazo de validade, com conteúdo inutilizado ou com restos do produto e seringas.
- Resíduos resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais com suspeita ou certeza de contaminação biológica por agentes classe de risco 4, por microrganismos com relevância epidemiológica e risco de disseminação, causadores de doença emergente que se tornem epidemiologicamente importantes, ou cujos mecanismos de transmissão sejam desconhecidos.
- As bolsas de sangue e de hemocomponentes rejeitadas por contaminação, por má conservação, com prazo de validade vencido e oriundas de coleta incompleta; as sobras de amostras de laboratório contendo sangue ou líquidos corpóreos; bem como os recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, contendo sangue ou líquidos corpóreos na forma livre.

Tratamento: acondicionar os resíduos de maneira compatível com o processo de tratamento a ser utilizado. Para tratamento, utilizar processos que vierem a ser validados para a obtenção de redução ou eliminação da carga microbiana, em equipamento compatível com Nível III de inativação microbiana.

Acondicionamento: após o tratamento, acondicionar em sacos brancos leitosos, que devem ser substituídos quando atingirem 2/3 de sua capacidade ou pelo menos 1 vez a cada 48 horas. Os sacos contendo RSS do grupo A de fácil putrefação devem ser substituídos no

máximo a cada 24 (vinte e quatro) horas, independentemente do volume.

Particularidades:

- 1- As culturas e os estoques de microrganismos, bem como os meios de cultura e os instrumentais utilizados para transferência, inoculação ou mistura de culturas contendo microrganismos das classes de risco 1 e 2 podem ser tratados fora da unidade geradora, desde que este tratamento ocorra nas dependências do serviço de saúde.
- 2- As culturas e os estoques de microrganismos, bem como os meios de cultura e os instrumentais utilizados para transferência, inoculação ou mistura de culturas contendo microrganismos das classes de risco 3 e 4 devem ser tratados na unidade geradora.
- 3- As sobras de amostras de laboratório contendo sangue ou líquidos corpóreos podem ser descartadas diretamente no sistema de coleta de esgotos, desde que atendam respectivamente as regras estabelecidas pelos órgãos ambientais e pelos serviços de saneamento competentes. Caso o tratamento destes resíduos venha a ser realizado fora da unidade geradora ou do serviço, estes RSS devem ser acondicionados em saco vermelho e transportados em recipiente rígido, impermeável, resistente à punctura, ruptura, vazamento, com tampa provida de controle de fechamento e identificado.

Subgrupo A2:

- Carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais submetidos a processos de experimentação com inoculação de microrganismos, bem como suas forrações, e os cadáveres de animais suspeitos de serem portadores de microrganismos de relevância epidemiológica e com risco de disseminação, que foram submetidos ou não a estudo anatomopatológico ou confirmação diagnóstica.

Tratamento: pode ser realizado fora da unidade geradora, desde que ocorra nas dependências do serviço. Os resíduos do subgrupo A2 contendo micro-organismos com alto risco de transmissibilidade, alto potencial de letalidade ou que representem risco caso sejam disseminados no meio ambiente, devem ser submetidos, na unidade geradora, a tratamento que atenda ao Nível III de Inativação Microbiana.

Acondicionamento: após o tratamento, os rejeitos devem ser acondicionados em saco branco leitoso e identificados com a inscrição "PEÇAS ANATÔMICAS DE ANIMAIS".

Subgrupo A3:

- Peças anatômicas (membros) do ser humano; produto de fecundação sem sinais vitais, com peso menor que 500 gramas ou estatura menor que 25 centímetros ou idade gestacional menor que 20 semanas, que não tenham valor científico ou legal e não tenha havido requisição pelo paciente ou seus familiares.

Tratamento: não necessitam de tratamento.

Destinação: devem ser destinados a sepultamento, cremação, incineração ou outra destinação licenciada pelo órgão ambiental competente.

Acondicionamento: quando forem encaminhados para incineração, estes resíduos devem ser acondicionados em sacos vermelhos e identificados com a inscrição "PEÇAS ANATÔMICAS".

Subgrupo A4:

- Kits de linhas arteriais, endovenosas e dialisadores, quando descartados.
- Filtros de ar e gases aspirados de área contaminada; membrana filtrante de equipamento médico-hospitalar e de pesquisa, entre outros similares.
- Sobras de amostras de laboratório e seus recipientes contendo fezes, urina e secreções, provenientes de pacientes que não contenham e nem sejam suspeitos de conter agentes classe de risco 4, e nem apresentem relevância epidemiológica e risco de disseminação, ou microrganismo causador de doença emergente que se torne epidemiologicamente importante ou cujo mecanismo de transmissão seja desconhecido ou com suspeita de contaminação com príons.
- Resíduos de tecido adiposo proveniente de lipoaspiração, lipoescultura ou outro procedimento de cirurgia plástica que gere este tipo de resíduo.
- Recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, que não contenha sangue ou líquidos corpóreos na forma livre.
- Peças anatômicas (órgãos e tecidos), incluindo a placenta, e outros resíduos provenientes de procedimentos cirúrgicos ou de estudos anatomopatológicos ou de confirmação diagnóstica.
- Cadáveres, carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais não submetidos a processos de experimentação com inoculação de microrganismos.
- Bolsas transfusionais vazias ou com volume residual póstransusão.

Tratamento: não necessitam de tratamento.

Acondicionamento: devem ser acondicionados em saco branco leitoso e encaminhados para a disposição final ambientalmente adequada.

Subgrupo A5:

- Órgãos, tecidos e fluidos orgânicos de alta infectividade para príons, de casos suspeitos ou confirmados, bem como quaisquer materiais resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais, suspeitos ou confirmados, e que tiveram contato com órgãos, tecidos e fluidos de alta infectividade para príons.

Tecidos de alta infectividade para príons são aqueles assim definidos em documentos oficiais pelos órgãos sanitários competentes. Referência: World Health Organization, 2010. WHO Tables on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies.

Tratamento: incineração.

Acondicionamento: devem ser segregados e acondicionados em saco vermelho duplo, como barreira de proteção, e contidos em recipiente exclusivo devidamente identificado.

RESÍDUOS PERFUROCORTANTES

São resíduos que pertencem ao Grupo E e compreendem os materiais perfurocortantes ou escarificantes, tais como: lâminas de barbear, agulhas, escalpes, ampolas de vidro, brocas, limas endodônticas, pontas diamantadas, lâminas de bisturi, lancetas; tubos capilares; ponteiras de micropipetas; lâminas e lamínulas; espátulas; e todos os utensílios de vidro quebrados no laboratório (pipetas, tubos de coleta sanguínea e placas de Petri) e outros similares.

Acondicionamento: os resíduos perfurocortantes devem ser descartados em recipientes identificados, rígidos, providos com tampa, resistentes à punctura, ruptura e vazamento, que devem ser substituídos de acordo com a demanda ou quando o nível de preenchimento atingir 3/4 (três quartos) da capacidade ou de acordo com as instruções do fabricante, sendo proibidos seu esvaziamento manual e seu reaproveitamento.

Particularidades:

- 1- Os RSS do Grupo E, quando contaminados por agentes biológicos, químicos e substâncias radioativas, devem ter seu manejo de acordo com cada classe de risco associada. O recipiente de acondicionamento deve conter a identificação de todos os riscos presentes.
- 2- As seringas e agulhas, inclusive as usadas na coleta laboratorial de amostra de doadores e de pacientes, e os demais materiais perfurocortantes que não apresentem risco químico, biológico ou radiológico não necessitam de tratamento prévio à disposição final ambientalmente adequada.

- 3- É permitida a separação do conjunto seringa agulha com auxílio de dispositivos de segurança, sendo vedada a desconexão e o reencape manual de agulhas.

DERRAMAMENTO DE MATERIAL COM POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO

É importante estar preparado para situações de emergência envolvendo o derramamento de material com potencial risco biológico antes de lidar com o problema. Todos os laboratórios que operam em nível NB-2 ou superior devem possuir um kit de derramamento montado disponível no laboratório. Para a maioria dos casos, o kit básico pode ser montado com materiais já utilizados no laboratório. Segue uma lista de itens que devem constar em um kit de derramamento biológico básico. Ele deve ser aprimorado para atender as necessidades de cada situação.

Conteúdo do Kit de Derramamento Biológico Básico:

- Desinfetante (ex: diluente diluído 1:10, preparado fresco)
- Material absorvente (ex: toalhas de papel, material absorvente)
- Recipiente de resíduos (ex: sacos brancos com símbolo de risco biológico)
- Equipamentos de proteção individual (ex: 2 pares de luvas e óculas de proteção)
- Ferramentas mecânicas (ex: pinças, pá e vassoura)
- Procedimentos de limpeza de derramamento.

Os procedimentos a seguir são fornecidos como uma diretriz para limpeza de derramamento biológico e precisam ser modificados para situações específicas. Como com qualquer situação de emergência, fique calmo, ligue 190 se necessário, e prossiga com as instruções. Ligue para Departamento de Gestão e Segurança Ambiental se for necessária assistência adicional, especialmente se o derramamento exceder os recursos no laboratório.

Procedimento para derramamentos dentro do laboratório

Retire todo o pessoal da área do derramamento e aguarde até que os aerossóis se estabilizem antes de entrar na área do derramamento (no mínimo, 30 minutos). Remova toda a roupa contaminada e coloque-a em recipiente apropriado para posterior descontaminação. Tenha um kit de derramamento biológico completo pronto para começar antes de iniciar a limpeza.

Derramamentos sem vidro quebrado / objetos perfurocortantes:

1. Remova os suprimentos de derramamento do kit.
2. Coloque duas camadas de luvas e óculos de proteção.
3. Prepare a solução desinfetante na concentração apropriada, seguindo as recomendações do fabricante.
4. Cubra a área do derramamento com material absorvente.
5. Utilizando a vassoura e a pá, remova o pó absorvente ou toalhas de papel e deposite-os no saco do risco biológico para a eliminação.
6. Pulverizar a área contaminada com o desinfetante e esperar o tempo de contato apropriado. Remova o desinfetante com toalhas de papel e coloque-as no saco de bio-risco para eliminação.
7. Repita o passo 6 para permitir uma desinfecção suficiente das superfícies contaminadas.
8. Retire apenas as luvas externas e descarte-as no saco de risco biológico.
9. Remova os óculos com luvas internas e limpe os óculos com o desinfetante. Também limpe as superfícies de contato do recipiente desinfetante.
10. Remova as luvas internas e descarte-as em saco biológico.
11. Coloque o saco de bio-risco em um recipiente de resíduos para tratamento e descarte.
12. Lave as mãos com água e sabão o mais rápido possível.
13. Reabasteça o kit para o próximo uso.

Derramamentos envolvendo vidros quebrados / objetos perfurocortantes:

1. Remova os suprimentos de derramamento do kit e separe um recipiente para objetos perfurocortantes para eliminação de vidros/ objetos perfurocortantes.
2. Coloque duas camadas de luvas e óculos de proteção.
3. Prepare a solução desinfetante na concentração apropriada, seguindo as recomendações do fabricante.
4. Usando pinças, coloque o vidro quebrado e estilhaços no recipiente para objetos perfurocortantes.
5. Cubra a área do derramamento com material absorvente.
6. Utilizando a vassoura e a pá, remova o pó absorvente ou toalhas de papel e deposite-os no saco com símbolo de risco biológico.
7. Pulverizar a área contaminada com o desinfetante e esperar o tempo de contato apropriado. Remova o desinfetante com toalhas de papel e coloque-as no saco com símbolo de risco biológico.

8. Repita o passo 7 para permitir uma desinfecção suficiente das superfícies contaminadas.
9. Retire apenas as luvas externas e descarte-as no saco com símbolo de risco biológico.
10. Remova os óculos com luvas internas e limpe os óculos com o desinfetante. Também limpe as superfícies de contato do recipiente desinfetante.
11. Remova as luvas internas e descarte-as em saco com símbolo de risco biológico.
12. Coloque o saco de bio-risco em um recipiente de resíduos para tratamento e descarte.
13. Lave as mãos com água e sabão o mais rápido possível.
14. Reabasteça o kit para o próximo uso.

Derramamentos dentro da cabine de segurança biológica:

1. Mantenha a cabine ligada durante a limpeza.
2. Remova os suprimentos de derramamento do kit.
3. Coloque duas camadas de luvas e óculos de proteção.
4. Prepare a solução desinfetante na concentração apropriada, seguindo as recomendações do fabricante.
5. Absorva o material derramado com toalhas de papel (superfície de trabalho e bacia de drenagem) e deposite-as no saco do risco biológico para a eliminação.
6. Aplique o desinfetante na área contaminada e aguarde o tempo de contato apropriado. Remova o desinfetante com toalhas de papel e coloque-as no saco de bio-risco para eliminação.
7. Limpe as paredes, a superfície de trabalho e qualquer equipamento da câmara com uma toalha de papel embebida em desinfetante e deposite-os em saco(s) de bio-risco.
8. Repita o passo 7 para permitir uma desinfecção suficiente das superfícies contaminadas.
9. Retire apenas as luvas externas e descarte-as no saco com símbolo de risco biológico.
10. Remova os óculos com luvas internas e limpe os óculos com o desinfetante. Também limpe as superfícies de contato do recipiente desinfetante.
11. Remova as luvas internas e descarte-as em saco com símbolo de risco biológico.

12. Coloque o saco de bio-risco em um recipiente de resíduos para tratamento e descarte.
13. Lave as mãos com água e sabão o mais rápido possível.
14. Reabasteça o kit para o próximo uso.
15. Mantenha a cabine ligada pelo menos 10 minutos após a limpeza e antes de retomar o trabalho.

Derramamentos dentro de uma centrífuga

1. Aguarde 30 minutos para que os aerossóis se estabilizem antes de limpar o derramamento.
2. Remova os suprimentos de derramamento do kit e separe um recipiente para objetos perfurocortantes para eliminação de vidros/ objetos perfurocortantes.
3. Coloque duas camadas de luvas e óculos de proteção.
4. Prepare a solução desinfetante na concentração apropriada, seguindo as recomendações do fabricante.
5. Remova os rotores para a cabine de segurança biológico mais próxima.
4. Inicie a desinfecção da centrífuga. Usando pinças, coloque o vidro quebrado e estilhaços no recipiente para objetos perfurocortantes.
5. Cubra a área do derramamento com material absorvente e deposite-os no saco do risco biológico para a eliminação.
6. Aplique o desinfetante na área contaminada e aguarde o tempo de contato apropriado. Remova o desinfetante com toalhas de papel e coloque-as no saco de bio-risco para eliminação.
7. Repita o passo 6 para permitir uma desinfecção suficiente das superfícies contaminadas.
8. Inicie a desinfecção dos rotores. Retire possíveis vidros quebrados de dentro dos rotores e acondicione em recipiente para objetos perfurocortantes. Desinfecte os rotores completamente seguindo procedimentos 5 a 7.
9. Retire apenas as luvas externas e descarte-as no saco com símbolo de risco biológico.
10. Remova os óculos com luvas internas e limpe os óculos com o desinfetante. Também limpe as superfícies de contato do recipiente desinfetante.
11. Remova as luvas internas e descarte-as em saco com símbolo de risco biológico.
12. Coloque o saco de bio-risco em um recipiente de resíduos para tratamento e descarte.
13. Lave as mãos com água e sabão o mais rápido possível.

14. Reabasteça o kit para o próximo uso.

Derramamentos durante o transporte

Se ocorrer um derramamento em uma área pública:

- Não tente limpar sem os suprimentos apropriados.
- Entre em contato com o Departamento de Gestão e Segurança Ambiental para obter assistência.

Se ocorrer um derramamento em um veículo:

- Deixe o veículo com janelas fechadas e portas trancadas.
- Entre em contato com o Departamento de Gestão e Segurança Ambiental para obter assistência.

Manutenção do kit de derramamento:

Seu kit de derramamento biológico deve ser reabastecido após cada uso. Deve também ser reavaliado anualmente. As seguintes atividades de manutenção devem ser feitas:

- Verifique a expiração do desinfetante e substitua conforme necessário (por exemplo, o alvejante deve ser substituído anualmente);
- Substituir as luvas;
- Verifique se as correias dos óculos de proteção estão danificadas.

TRANSPORTE DE SUBSTÂNCIAS BIOLÓGICAS

Materiais biológicos podem ser transportados com segurança entre laboratórios, hospitais, clínicas e centros de pesquisas quando adequadamente embalados, rotulados, coletados e encaminhados de forma a minimizar a potencial liberação no meio ambiente. Esse transporte pode ser realizado dentro de uma instituição (intrainstitucional) ou entre diferentes instituições (interinstitucional) no mesmo município, podendo também ser direcionado para outros municípios, estados e países.

Classificação

Para fins de transporte, entende-se por substâncias infecciosas ou infectantes os materiais biológicos que se sabe ou se suspeita, de forma

fundamentada, que contenham agentes patógenos, ou seja, que contenham patógenos ou estejam sob suspeita razoável de contê-los. Os agentes patógenos são micro-organismos (tais como bactérias, vírus, rickettsias, parasitas e fungos) e outros agentes, tais como príons, que podem causar enfermidades nos animais e nos seres humanos.

Para efeito de transporte, conforme Resolução nº 5232/2016, da Agência Nacional de Transportes Terrestres (ANTT), as substâncias infectantes possuem subclasse de risco 6.2 e têm a seguinte definição: *substâncias que contêm patógenos ou estejam sob suspeita razoável de contê-los. Patógenos são microorganismos (incluindo bactérias, vírus, rickettsias, parasitas, fungos) e outros agentes, tais como príons, capazes de provocar doenças em seres humanos ou em animais.*

Os expedidores de substâncias infectantes devem garantir a correta preparação dos volumes, de modo que cheguem ao destino em boas condições e que, durante o transporte, não apresentem risco para pessoas ou animais.

Além da classe de risco, as substâncias infectantes são identificadas pelo número da Organização das Nações Unidas (ONU), que é sempre composto por quatro algarismos e indica a carga perigosa transportada. Nesse sentido, existem duas categorias de substâncias infectantes nas quais os respectivos números ONU estão inseridos:

- Categoria A: substância infectante transportada de forma que, em caso de exposição, é capaz de causar uma incapacidade permanente, colocar em risco a vida ou constituir uma enfermidade mortal para seres humanos ou animais. São classificados como nº ONU 2814, quando afetam humanos (como *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum* e *Mycobacterium tuberculosis*), ou nº ONU 2900, quando afetam apenas animais (como *Mycoplasma mycoides* e os vírus da gripe suína e aviária).

- Categoria B: uma substância infectante que não satisfaça os critérios para a inclusão na categoria A. A designação oficial de transporte da categoria B é substância biológica. São classificadas como UN 3373.

Normas de transporte

O transporte de produtos perigosos é regulado em todas as suas etapas para evitar potenciais danos aos indivíduos, animais e ao meio ambiente. As diretrizes regulatórias para o transporte de materiais biológicos têm sua origem nas Recomendações do Comitê de Especialistas das Nações Unidas para o Transporte de Materiais Perigosos, um comitê do Conselho Econômico e Social da ONU, que estabeleceu um sistema harmonizado internacionalmente para nortear os regulamentos de transporte das mercadorias perigosas.

No Brasil, o transporte de amostras biológicas é regulamentado por diversos órgãos, de acordo com a via utilizada.

Transporte terrestre: Agência Nacional de Transportes Terrestres – ANTT (<http://www.antt.gov.br>)

- Resolução nº 5232, de 14 de dezembro de 2016 - Aprova as Instruções Complementares ao Regulamento Terrestre do Transporte de Produtos Perigosos, e dá outras providências
- Resolução 3.665, de 4 de maio de 2011, e suas atualizações. Atualiza o Regulamento do Transporte Rodoviário de Produtos Perigosos, aprovado pelo Decreto 96.044, de 18 de maio de 1988.

Transporte aéreo: Agência Nacional de Aviação Civil – Anac (<http://www.anac.gov.br>)

- Regulamento Brasileiro da Aviação Civil (RBAC) 175 – Transporte de Artigos Perigosos em Aeronaves Civis.
- Instrução Suplementar (IS) 175-004A, de 15 de agosto de 2017. Orientações quanto aos procedimentos para a expedição e transporte de substâncias biológicas e infectantes em aeronaves civis.

Acondicionamento para transporte

O primeiro passo para o transporte seguro de material biológico é o seu correto acondicionamento em embalagens adequadas, além de seguir adequadamente processo de empacotamento: IATA PI 620 (substâncias pertencentes à categoria A) e PI 650 (substâncias pertencentes à categoria B).

Substância Categoria A

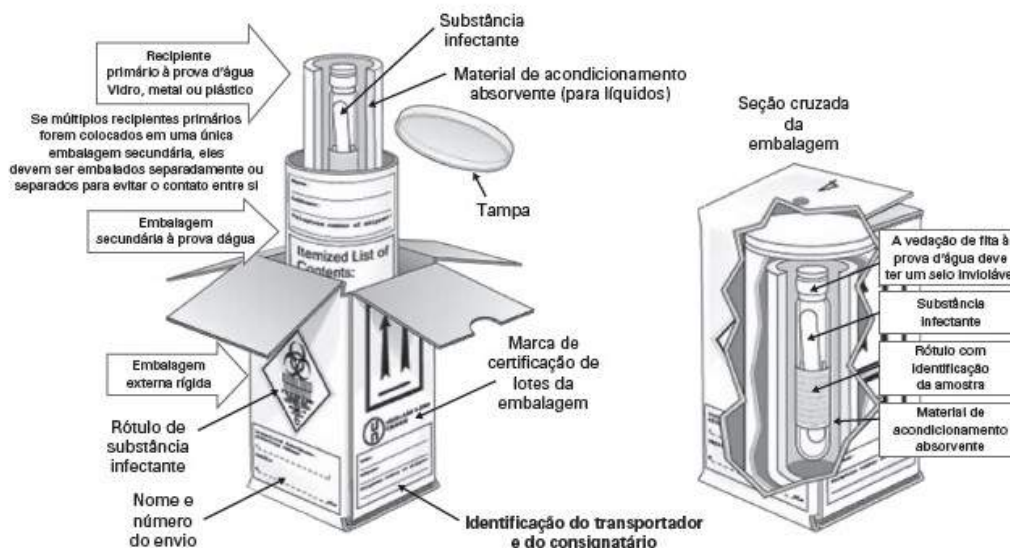
O sistema de tripla embalagem é padronizado *pela International Air Transport Association (IATA)* e pela ONU, sendo recomendando pela Organização Mundial da Saúde (OMS) visando garantir o transporte seguro deste tipo de material:

- Embalagem primária: recipiente rotulado, resistente, rosqueável, à prova de vazamento, que conterá o produto a ser transportado;
- Embalagem secundária: compartimento no qual será acondicionado o recipiente primário. Deve também ser estanque e à prova de vazamento. Recomenda-se preencher, com material absorvente, todos os espaços entre o recipiente primário e as paredes do secundário; e
- Embalagem externa: último compartimento (externo), no qual será acondicionado o recipiente secundário. Deve ser resistente e proteger o

conteúdo de influências externas como da exposição à água e danos físicos durante o transporte. Este sistema de embalagem é recomendado sempre que houver a necessidade de transporte do material biológico, seja entre diferentes prédios dentro de uma mesma instituição, ou entre diferentes laboratórios em um mesmo município, no transporte intermunicipal, interestadual e internacional. A embalagem externa deve conter a simbologia internacional para indicar o tipo de substância transportada e a posição obrigatória da caixa de transporte.

As embalagens devem conter as marcações e informações exigidas pela legislação vigente, a saber:

- Nome e endereço do remetente.
- Nome e endereço do destinatário.
- Nome e número de telefone da pessoa responsável (que deverá ficar em prontidão 24 horas por dia, até a remessa chegar). Esta pessoa deve ser capaz de fornecer informações técnicas sobre o material biológico transportado.
- Designação correta da remessa (nome apropriado para transporte: substância infecciosa que afeta seres humanos).
- Código numérico da ONU (ex: ONU 2814).
- Marca de embalagem homologada (Anac)/certificada (Inmetro – ANTT).
- Setas de orientação (obrigatórias somente quando a embalagem primária contiver mais de 50 ml).



O pessoal do laboratório deve usar o acondicionamento adequado para transportar materiais infectantes para fora do laboratório.

Fonte: U.S. Department of Health and Human Services: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5ª ed. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2007.

Os seguintes procedimentos devem ser seguidos para preparar e transportar materiais biológicos entre edifícios da universidade:

1. Use recipientes primários projetados para conter o material a ser armazenado. Não utilize recipientes para alimentos ou outros recipientes não originalmente concebidos para fins de armazenamento em laboratório.
2. Colocar recipientes de amostras primárias num recipiente secundário apropriado para transporte. Se o material da amostra é líquido ou pode liberar líquidos, use um recipiente secundário estanque com uma tampa segura (isto é, refrigerador com tampa com trava). Adicionalmente, coloque material absorvente suficiente (isto é, toalhas de papel) no recipiente secundário para absorver todos os líquidos livres no caso de os recipientes primários romperem ou quebrarem durante o transporte.
3. Empacote os recipientes primários no recipiente secundário de forma a reduzir o choque, a ruptura e / ou a quebra. É recomendável utilizar papel absorvente de bolhas ou materiais amortecedores semelhantes para minimizar o potencial de ruptura do recipiente primário.
4. Rotule todos os recipientes secundários com uma breve descrição do conteúdo e um nome de contato e número de telefone de emergência. Os recipientes utilizados para o transporte de amostras de sangue ou espécimes conhecidos ou suspeitos de conter um patógeno devem ser adicionalmente marcados com o símbolo de risco biológico.

5. Use um veículo de propriedade da Universidade sempre que possível para o transporte. Armazene e fixe o contentor de transporte num local do veículo, para que, caso ocorra um acidente, o recipiente ou o seu conteúdo não constituirá um risco de exposição para o condutor ou para o ambiente. Por exemplo, ao transportar materiais por carro ou van, guarde o recipiente no banco traseiro ou no compartimento de carga. Prenda o recipiente com cordas elásticas ou cintos para manter o recipiente ereto e estável.

Preparação para enviar materiais biológicos:

Antes de você empacotar e enviar materiais para um destino fora do *campus*, há vários itens que devem ser atendidos. Estes requisitos burocráticos podem levar várias semanas para serem concluídos, portanto, você deve prepará-los com bastante antecedência.

1. Contratos de Transferência de Materiais

A UNIFESP exige que um Termo de Transferência de Material seja confeccionado para materiais que entram ou saem do *campus*. Antes de enviar sua remessa, é importante que você entre em contato com o Departamento de Importação e Exportação para garantir que os acordos apropriados sejam concluídos e processados.

Se você tiver dúvidas se há problemas de controles de exportação associados à sua atividade, entre em contato com o Departamento de Importação e Exportação.

UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS NA PESQUISA

O uso de animais em atividades de pesquisa, ensino e extensão está sujeito às leis e diretrizes estaduais e federais. A política universitária especifica que:

- Todos os animais sob cuidados universitários serão tratados com humanidade;
- Antes de seu início, todos os projetos animais recebem aprovação do Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA);
- UNIFESP irá cumprir com as regulamentações estaduais e federais relativas ao uso e cuidados com animais.

O investigador principal do projeto é responsável pelo tratamento humano dos animais sob sua supervisão, por treinar os estudantes que irão manipular os animais e pela adesão aos regulamentos federais, estaduais e federais aplicáveis. Os membros do corpo docente que planejam usar animais vertebrados vivos para qualquer atividade relacionada à Universidade devem

submeter o projeto ao Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UNIFESP) para receber aprovação antes do início do projeto, independentemente da fonte de financiamento para o projeto. <http://www.unifesp.br/reitoria/ceua/>.

Para obter informações adicionais, entre em contato com o CEUA ceua.unifesp@gmail.com ou pelo telefone Telefone: 5576-4848 VoIP 1239.

USO DE MATERIAL HUMANO NA PESQUISA

Os regulamentos e políticas federais e universitários exigem que todas as pesquisas envolvendo assuntos ou materiais humanos sejam revistas e aprovadas antes do início do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade para proteger os direitos e o bem-estar dos seres humanos.

O CEP da UNIFESP analisa todos os pedidos de pesquisa, incluindo aqueles que envolvem seres humanos. É responsabilidade do investigador principal do projeto garantir que todas as pesquisas envolvendo seres humanos sejam revistas e aprovadas pelo CEP antes do início. Para mais informações, entre em contato com o escritório do CEP pelo telefone (11) 5571-1062 ou e-mail: cep@unifesp.edu.br

<http://www.cep.unifesp.br/cep/>

UTILIZAÇÃO DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS (OGM)

O Ministério do Meio-Ambiente estabeleceu regulamentos sobre o uso e contenção de organismos geneticamente modificados nos laboratórios de pesquisa. Os regulamentos exigem que as pessoas que conduzam essa pesquisa solicitem autorização frente a Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) que deve aprovar os projetos e instalações que manipulem OGM.

Como condição para o financiamento da pesquisa de OGM, a UNIFESP deve garantir que a pesquisa realizada ou patrocinada pela UNIFESP, independentemente da fonte de financiamento, cumpra as diretrizes da CTNBio mais recentes para a Pesquisa envolvendo OGM. Antes que as experimentações envolvendo OGM comecem, o Investigador Principal deve solicitar autorização para Pesquisa à CIBio. Todos os formulários e procedimentos são encontrados na website da CIBio.

PESQUISAS COM A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA

Em 5 de novembro de 2017, o Ministério do Meio Ambiente disponibilizou o Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen – sistema eletrônico criado pelo Decreto nº

8.772, de 11 de maio de 2016, que regulamenta a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, como um instrumento para auxiliar o Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGen – na gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado.

Desse modo, todas as pesquisas com o patrimônio genético brasileiro (plantas, animais e micro-organismos), substâncias do metabolismo destes seres vivos ou mesmo pesquisas *in silico* derivadas de informações provenientes de elementos da nossa biodiversidade, assim como o desenvolvimento de produtos, necessitam de cadastramento eletrônico no SISGen.

Para as pesquisas científicas, será necessário o cadastro das atividades prévio à divulgação dos seus resultados, parciais ou finais. Em caso de parceria internacional, deverá ser firmado o Termo de Transferência de Material (TTM) antes do compartilhamento do material, além do cadastro desta remessa. O cadastramento também deverá ser feito antes do requerimento de direito de propriedade intelectual. Para o desenvolvimento de produtos, deverá ser feita uma notificação antes da comercialização.

Algumas atividades específicas deverão ser previamente autorizadas pelo CGen, como nos casos de acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado em área indispensável à segurança nacional ou em águas jurisdicionais brasileiras, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva.

Os pesquisadores que não cadastrarem suas pesquisas podem ser submetidos a sanções previstas em lei.

Para sanar dúvidas, acesse a página do SisGen (www.mma.gov.br/patrimonio-genetico/conselho-de-gestao-do-patrimonio-genetico/sis-gen) no site do Ministério do Meio Ambiente. Para cadastramento, realizar a instalação do módulo de segurança requerido pelo sistema, e acessar <https://sisgen.gov.br/paginas/login.aspx>. O GT-biodiversidade da UNIFESP está à disposição para auxiliá-los neste processo (biodiversidade@unifesp.br).



RISCO BIOLÓGICO

ENTRADA RESERVADA A PESSOAL

AUTORIZADO

Organismos: _____

Nível de Segurança Biológica: _____

Investigador Responsável: _____

Contato em caso de emergência: _____

Telefone de dia: _____

Telefone privado: _____

A autorização para entrada deve ser solicitada ao
investigador responsável acima nomeado