

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Secretaria de Vigilância em Saúde  
Departamento de Vigilância Epidemiológica

# **Biossegurança**

em laboratórios biomédicos  
e de microbiologia

Brasília – DF  
2004

© 2000 Ministério da Saúde.

Direitos patrimoniais de autor cedidos ao Ministério da Saúde pelos editores para edição desta obra em português.

Edição original em inglês: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – Editada pelo CDC – Prevention and Control Center of Diseases and INS – National Institute of Health – United States – 4<sup>th</sup> edition – May of 1999, 1<sup>th</sup> edition 1994.

Série A. Normas e Manuais Técnicos

Reprodução fiel do conteúdo original – tiragem: 100 exemplares – 2004

*Responsabilidade técnica, distribuição e informações:*

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Secretaria de Vigilância em Saúde

Departamento de Vigilância Epidemiológica

Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública

Setor de Autarquias Sul, Quadra 4, Bloco N, sala 619

CEP: 70070-040, Brasília – DF

Tels.: (61) 314 6352 / 314 6550 / 314 6556

E-mail: svvs@saude.gov.br

Home page: www.saude.gov.br/svs

1.<sup>a</sup> edição em português – 2001:

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Fundação Nacional de Saúde

Centro Nacional de Epidemiologia

Coordenação Nacional de Laboratórios de Saúde Pública

Setor de Autarquias Sul, Quadra 4, Bloco N, 6.<sup>o</sup> andar, sala 619

CEP: 70058-902, Brasília – DF

Tels.: (61) 314 6550 / 314 6556

*Revisão técnica da tradução:*

Núcleo de Biossegurança (NuBio)

Vice-Presidência de Tecnologia

Fundação Oswaldo Cruz

Av. Brasil, n.º 4.036 – 7.<sup>o</sup> andar, sala 716

CEP: 21040-961, Rio de Janeiro – RJ

Tels.: (21) 590 9122 ramais 257 / 258

Fax: (21) 590 9122

Editores: Jonathan Y. Richmond, Robert W. McKinney

Organizadores: Ana Rosa dos Santos, Maria Adelaide Millington, Mário Cesar Althoff

Tradução: Denise Bittar

Impresso no Brasil / Printed in Brazil

#### Ficha Catalográfica

---

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica.

Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

276 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

Tradução do inglês: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories  
ISBN 01-704-000-547-4

1. Laboratórios de saúde pública. 2. Técnicas e procedimentos de laboratório. I. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. II. Título. III. Série.

NLM QY 25

Catálogo na fonte – Editora MS

*Equipe editorial:*

Capa: Fabiano Bastos

Ficha catalográfica: Leninha Silvério

# APRESENTAÇÃO

O imprevisível e diversificado comportamento das doenças infecciosas emergentes e reemergentes tem acarretado a discussão das condições de biossegurança nas instituições de ensino, pesquisa, desenvolvimento tecnológico e de prestação de serviços. A despeito do avanço tecnológico, o profissional de saúde está freqüentemente exposto a riscos biológicos e de produtos químicos, cujo enfrentamento está consubstanciado na adequação das instalações do ambiente de trabalho e na capacitação técnica desses profissionais. O manejo e a avaliação de riscos são fundamentais para a definição de critérios e de ações, e visam minimizar os riscos que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos - Biossegurança.

A Biossegurança constitui uma área de conhecimento relativamente nova, regulada em vários países no mundo por um conjunto de leis, procedimentos ou diretrizes específicas. No Brasil, a legislação de Biossegurança foi criada em 1995 e, apesar da grande incidência de doenças ocupacionais em profissionais de saúde, engloba apenas a tecnologia de engenharia genética, estabelecendo os requisitos para o manejo de organismos geneticamente modificados.

A segurança dos laboratórios e dos métodos de trabalho transcende aos aspectos éticos implícitos nas pesquisas com manipulação genética. Medidas de biossegurança específicas devem ser adotadas por laboratórios e aliados a um amplo plano de educação baseado nas normas nacionais e internacionais quanto ao transporte, conservação e manipulação de microorganismos patogênicos.

Ao apresentar este livro, tradução autorizada do original em inglês "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - 4ª Edition - CDC-INH, 1999, esperamos atender às necessidades específicas dos profissionais participantes do treinamento "Manejo e Manutenção de Áreas Laboratoriais de Nível de Biossegurança 3" organizado pela Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública em parceria com o CDC-INH.

Brasília/DF, fevereiro de 2004

**JARBAS BARBOSA DA SILVA JUNIOR**  
Secretário de Vigilância em Saúde

Organizado por:  
Coordenação Nacional de Laboratórios de Saúde Pública  
Centro Nacional de Epidemiologia  
Fundação Nacional de Saúde  
Equipe Técnica: Ana Rosa dos Santos  
                  Maria Adelaide Millington (Coordenadora)  
                  Mário Cesar Althoff

Revisão Técnica da Tradução:  
Núcleo de Biossegurança/NuBio  
Vice-Presidência de Tecnologia  
Fundação Oswaldo Cruz  
Equipe Técnica: Bernardo Elias Corrêa Soares  
                  Francelina Helena Alvarenga Lima e Silva  
                  Leila Macedo Oda (Coordenadora)  
                  Sheila Sotelino da Rocha  
                  Telma Abdalla de Oliveira Cardoso

Tradução de: Denise Bittar

## DEDICATÓRIA

Esta quarta edição de *Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e Microbiológicos* é dedicada à vida e realizações de John H. Richardson, D.V.M, M.P.H.

Dr. Richardson foi o pioneiro e incessante defensor da segurança para educação biológica. Ele foi o co-editor das duas primeiras edições da BLBM, cujas normas são agora aceitas como “o padrão ouro” internacional para a condução segura de uma pesquisa microbiológica. Ele adaptou os programas de quarentena de animais importados para os Estados Unidos e o de manejo de organismos biológicos perigosos em laboratórios de pesquisas. Ele foi sócio-presidente e ex-presidente da Associação Americana de Segurança Biológica (American Biological Safety Association) e auxiliou no desenvolvimento do programa de qualificação dos profissionais da área de segurança biológica. Após uma longa e ilustre carreira no Serviço de Saúde Pública (Public Health Service), ele atuou como Diretor de Segurança do Meio Ambiente e na Secretaria de Saúde da Universidade de Emory antes de tornar-se um renomado Consultor de Biossegurança.

Talvez, o aspecto mais importante, por ter sido um cavalheiro e defensor da saúde pública, os muitos amigos e associados que tiveram o privilégio de conhecê-lo e trabalhar ao seu lado sentirão muito a sua falta.

**Editores:**

Jonathan Y. Richmond, Ph.D.  
Diretor do Escritório de Saúde e Segurança  
Serviço de Saúde Pública  
Centros de Prevenção e Controle da Doença  
1600 Clifton Road N.E.  
Atlanta, Georgia 30333

Robert W. McKinney, Ph. D.  
Diretor da Divisão de Segurança  
Serviço de Saúde Pública  
Institutos Nacionais de Saúde  
Building 31, Room 1C02  
Bethesda, Maryland 20892

## **EDITORES CONVIDADOS:**

### **Centros para Prevenção e Controle da Doença**

Robert B. Craveb, M.D.	Chefe do Departamento de Epidemiologia Divisão de Doença Provocada por Arbovírus Centro Nacional de Doenças Infecciosas
Mark L. Eberhard, Ph.D.	Chefe da Divisão de Biologia e Diagnósticos Divisão de Doenças Parasitárias Centro Nacional de Doenças Infecciosas
Thomas Folks, Ph. D.	Chefe da Divisão de HIV e Retrovirologia Divisão de AIDS, DST e Laboratório de Pesquisa. Centro Nacional de Doenças Infecciosas.
Bradford Kay, Dr.P.H.	Consultor Senior do Laboratório da Divisão de Bacteriologia e Doenças Micóticas. Centro Nacional de Doenças Infecciosas.
Richard C. Knudsen, Ph.D.	Chefe do Laboratório de Segurança Secretaria da Saúde e Segurança
Brian W. J. Mahy, Sc.D, Ph.D.	Diretor da Divisão de Doenças Virais e Rickettsiais. Centro Nacional de Doenças Infecciosas.
C.J. Peters, M.D.	Chefe da Divisão de Patógenos Especiais Centro Nacional de Doenças Infecciosas

Margaret A. Tipple, M.D.      Chefe do Programa de Atividades  
Externas  
Secretaria da Saúde e Segurança

### **Instituto Nacional de Saúde**

John Bennett, M.D.      Chefe da Seção de Micologia do Instituto  
Nacional de Alergias e Doenças  
Infecciosas

David Hackstadt, Ph.D      Microbiologista do Rocky Mountain  
Laboratory.

Deborah E. Wilson, Dr.P.H.      Chefe da Divisão de Segurança e Saúde  
Ocupacional  
Departamento de Segurança.

### **Editores individuais convidados**

Jonathan Crane, A.I.A      Arquiteto  
Atlanta, GA

Peter J. Gerone, Sc.D      Diretor do Centro de Pesquisa Regional  
de Primatas de Tulane  
Centro Médico da Universidade de Tulane  
Convington, Louisiana.

Thomas Hamm, D.V.M, Ph.D      Consultor  
Cary, NC

Debra L. Hunt, Dr. P.H.      Diretor da Segurança Biológica e  
Controle de Infecções.  
Centro Médico da Universidade de Duke  
Durham, North Carolina.



Peter Jahrling, Ph.D.

Cientista Senior de Pesquisa  
Divisão de Avaliação da Doença  
USAMRIID  
Frederick, Maryland.

Thomas Kost, Ph.D.

Chefe do Departamento de Ciências  
Moleculares.  
Glaxo Wellcome, Inc.  
Research Triangle Park, NC.

**Editor técnico**

Marie J. Murray

Editor-Escritor  
Atlanta, GA

## CONTEÚDO

### SEÇÃO I

Introdução .....	01
------------------	----

### SEÇÃO II

Princípios de Biossegurança .....	08
-----------------------------------	----

### SEÇÃO III

Níveis de Biossegurança Laboratorial .....	19
Tabela 1. Resumo dos Níveis de Biossegurança Recomendados para Agentes Infecciosos .....	59

### SEÇÃO IV

Critérios para os Níveis de Biossegurança para Animais Vertebrados .....	60
Tabela 1. Resumo dos Níveis de Biossegurança Recomendados para as Atividades nas quais Animais Vertebrados Invertebrados Naturalmente ou Experimentalmente são Utilizados .....	86

### SEÇÃO V

Avaliação dos Riscos .....	87
----------------------------	----

### SEÇÃO VI

Níveis de Biossegurança Recomendados para Agentes Infecciosos e Animais Infectados .....	96
--	----

### SEÇÃO VII

Relação dos Agentes .....	100
Seção VII-A: Agentes Bacterianos .....	100
Seção VII-B: Agentes Fúngicos .....	133
Seção VII-C: Agentes Parasitários .....	142
Seção VII-D: Prions .....	150
Seção VII-E: Agentes Ricketisiais .....	165
Seção VII-F: Agentes Virais (não incluindo o arbovírus) .....	171
Seção VII-G: Arbovírus e Vírus Zoonóticos Relacionados .....	205

Arbovírus Designados para o Nível de Biossegurança 2 .....	205
Tabela 1. Arbovírus e Arenavírus Designados para o Nível de Biossegurança 2. ....	208
Tabela 2. Cepas de Vacina de Vírus do NB-3/4 que Podem Ser Manipulados em um Nível de Biossegurança 2. ....	
Arbovírus e Arenavírus Designados para o Nível de Biossegurança 3. ....	211
Tabela 3. Arbovírus e Alguns Outros Vírus Designados para o Nível e Biossegurança 3 (baseado em experiência insuficiente). ....	216
Tabela 4. Arbovírus e Alguns Outros Vírus Designados para o Nível de Biossegurança 3. ....	217
Arbovírus, Arenavírus e Filovírus Designados ao Nível de Biossegurança 4. ....	219
Tabela 5. Arbovírus, Arenavírus e Filovírus Designados para o Nível de Biossegurança 4. ....	221

## **APÊNDICE A**

Contenção Primária: Cabines de Segurança Biológica .....	224
Tabela 1. Comparação das Cabines de Segurança Biológica. ....	229
Figura 1. Cabine de Segurança Biológica Classe I .....	230
Figura 2a. Cabine de Segurança Biológica Classe II, Tipo A .....	231
Figura 2b. Cabine de Segurança Biológica Classe II, Tipo B1 .....	232
Figura 2c. Cabine de Segurança Biológica Classe II, Tipo B2 .....	233
Figura 2d. Cabine de Segurança Biológica Classe II, Tipo B3 .....	234
Figura 3. Cabine de Segurança Biológica Classe III .....	235

## **APÊNDICE B**

Imunoprofilaxia .....	236
-----------------------	-----

**APÊNDICE C**

Transporte e Transferência de Agentes Biológicos.....	238
Figura 1. Embalagem e Rotulagem de Substâncias Infecciosas .....	244
Figura 2. Embalagem e Rotulagem de Amostras Clínicas ....	244

**APÊNDICE D**

Patógenos Animais .....	245
-------------------------	-----

**APÊNDICE E**

Fontes de Informações .....	248
-----------------------------	-----

**APÊNDICE F**

Segurança do Laboratório e Resposta de Emergência para Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia .....	250
--	-----

**APÊNDICE G**

Gerenciamento Integrado de Roedores e Insetos .....	256
---	-----

**APÊNDICE H**

Trabalhos com Células e Tecidos Humanos e de Outros Primatas ...	261
--	-----

**APÊNDICE I**

Normas para o Trabalho com Toxinas de Origem Biológica ....	264
---	-----

**ÍNDICE REMISSIVO**

Índice Remissivo .....	270
------------------------	-----

## PREFÁCIO

Essa publicação descreve as combinações das práticas microbiológicas padrões e as especiais, dos equipamentos, segurança e instalações que constituem os Níveis de Biossegurança de 1-4 recomendados para um trabalho que envolva uma variedade de agentes infecciosos em vários estabelecimentos laboratoriais.

Essas recomendações possuem um caráter consultivo. A intenção é a de fornecer um guia voluntário ou código de prática assim como os objetivos para operações de um nível mais alto. Esses conselhos são também oferecidos como um guia e uma referência na construção das instalações de um novo laboratório ou na reforma de instalações já existentes.

Porém, a aplicação destas recomendações em uma operação de um laboratório particular deverá se basear na avaliação do risco de agentes e de atividades especiais, ao invés de ser utilizada como um código universal e genérico aplicável a todas as situações.

Desde a publicação da terceira edição do livro *Biossegurar em Laboratórios Biomédicos e Microbiológicos*, ocorreram inúmeros eventos que acabaram por influenciar algumas das mudanças feitas nesta quarta edição.

- Em resposta à preocupação global concernente às doenças infecciosas emergentes e as reemergentes, a seção Avaliação de Riscos foi ampliada para proporcionar ao laboratorista informações adicionais para facilitar a implantação de tais determinações.
- Devido a grande demanda de projetos e construções de laboratórios biomédicos e microbiológicos, particularmente nos Níveis de Biossegurança 3 e, incorporamos esclarecimentos e acréscimos às Seções “Instalações”, em particular às Seções III e IV. O objetivo é a expansão de nossa abordagem baseada na atuação com o objetivo de obtermos uma contenção apropriada.

- Com a identificação da encefalopatia espongiforme bovina (EEB) na Inglaterra houve um aumento significativo do interesse sobre doenças provocadas por prions. Por esta razão, acrescentamos um apêndice para direcionar as várias preocupações associadas ao trabalho com estes agentes.
- Como tem ocorrido várias infecções associadas a laboratórios envolvendo agentes previamente conhecidos e desconhecidos, modificamos ou acrescentamos vários Resumos das Características de Agentes nesta edição.
- Os resumos de agentes agora contêm informações sobre os requisitos necessários para obtenção de licenças para o transporte de microrganismos infecciosos. O motivo para essa modificação foi a preocupação em relação ao crescente transporte nacional e internacional de microrganismos infecciosos.
- E finalmente, nestes últimos anos, houve um aumento nas preocupações em relação ao bioterrorismo, o que tem provocado um considerável interesse nas questões que envolvem a biossegurança. Portanto, acrescentamos um apêndice para ajudar a concentrarmos nossas atenções nas necessidades de aumento de segurança em nossos laboratórios de microbiologia.

Gostaríamos também de agradecer as contribuições de muitos da comunidade científica que proporcionaram idéias para aperfeiçoarmos essa edição. Em particular, temos um grande débito com o Comitê Técnico de Revisão (Technical Review Committee) da Associação Americana de Segurança Biológica (American Biological Safety Association) por seus amáveis comentários e sugestões.

## SEÇÃO I

### *Introdução*

Laboratórios de microbiologia são, com freqüência, ambientes singulares de trabalho que podem expor as pessoas próximas a eles ou que neles trabalham a riscos de doenças infecciosas identificáveis. As infecções contraídas em um laboratório têm sido descritas por meio da história da microbiologia. Os relatórios de microbiologia publicados na virada do século descreveram casos de tifo, cólera, mormo, brucelose, e tétano associados a laboratórios<sup>1</sup>. Em 1941, Meyer e Eddie<sup>2</sup> publicaram uma pesquisa de 74 casos de brucelose associados a laboratório, ocorrido nos Estados Unidos, e concluíram que “a manipulação de culturas de espécies ou ainda a inalação da poeira contendo a bactéria *Brucella* é eminentemente perigosa para os trabalhadores de um laboratório”. Inúmeros casos foram atribuídos à falta de cuidados ou a uma técnica de manuseio ruim de materiais infecciosos.

Em 1949, Sulkin e Pike<sup>3</sup>, publicaram a primeira de uma série de pesquisas sobre infecções associadas a laboratórios. Eles constataram 222 infecções virais, sendo 21 delas fatais. Em pelo menos um terço dos casos, a provável fonte de infecção estava associada ao manuseio de animais e tecidos infectados. Acidentes conhecidos foram registrados em 27 (12%) dos casos relatados.

Em 1951, Sulkin e Pike<sup>4</sup>, publicaram a segunda de uma série de pesquisas baseada em um questionário enviado a 500 laboratórios. Somente um terço dos 1.342 casos citados foram relatados na literatura. A Brucelose era a infecção mais freqüentemente encontrada nos relatórios em relação às infecções contraídas em um laboratório e juntamente com a tuberculose, a tularemia, o tifo, e a infecção estreptocócica contribuíam para 70% de todas as infecções bacterianas e 31% das infecções causadas por outros agentes. O índice total de mortalidade era de 3%. Somente 16% de todas as infecções relatadas estavam associadas a um acidente documentado. A maioria destes estavam relacionados ao uso de pipetas, seringas e agulhas.

## Introdução

Essa pesquisa foi atualizada em 1965<sup>5</sup>, quando houve um acréscimo de 641 novos casos ou de casos que não havia sido relatados anteriormente. Em 1976<sup>6</sup>, houve uma nova atualização perfazendo um total acumulativo de 3.921 casos. A brucelose, o tifo, a tularemia, a tuberculose, a hepatite e a encefalite eqüina venezuelana eram as infecções mais comumente relatadas. Menos de 20% de todos os casos estavam associados a um acidente conhecido. A exposição aos aerossóis infecciosos era considerada como sendo uma fonte plausível, mas não confirmada de infecção para mais de 80% dos casos onde as pessoas infectadas haviam “trabalhadas com o agente”.

Em 1967<sup>7</sup>, Hanson e colaboradores relataram 428 casos patentes de infecções de arbovírus associados a laboratório. Em alguns casos, a capacidade de um dado arbovírus de produzir uma doença humana foi primeiramente confirmada como o resultado de uma infecção não intencional da equipe laboratorial. No caso, os aerossóis infecciosos eram considerados a fonte mais comum de infecção.

Em 1974, Skinholj<sup>8</sup> publicou os resultados de uma pesquisa que mostrava que o corpo de funcionários dos laboratórios clínicos dinamarqueses apresentava uma relatada incidência de hepatite (2,3 casos ao ano por 1.000 funcionários) sete vezes maior que a população em geral. De maneira semelhante, uma pesquisa de 1976 realizada por Harrington e Shannon<sup>9</sup> indicou que os trabalhadores de laboratórios médicos na Inglaterra apresentavam “um risco cinco vezes maior de adquirir uma tuberculose do que a população em geral”. A Hepatite B e a shigelose também eram conhecidas por serem um contínuo risco ocupacional. Junto com a tuberculose, essas eram as três causas mais comuns de infecções associadas a laboratório relatadas na Grã-Bretanha.

Embora esses relatórios sugerissem que os funcionários de laboratórios corriam um elevado risco de se contaminarem pelos agentes que eles próprios manipulavam, os índices atuais de infecção não se encontram disponíveis. Porém, os estudos de Harrington e Shannon e os de Skinholj<sup>10</sup> indicam que as equipes



## Introdução

laboratoriais apresentavam maiores índices de tuberculose, shigelose e de hepatite B do que a maioria da população em geral.

Ao contrário das ocorrências documentadas de infecções contraídas por funcionários de laboratórios, esses laboratórios que trabalham com agentes infecciosos não representam uma ameaça à sociedade. Por exemplo, embora 109 casos de infecções associadas a laboratórios tenham sido registrados nos Centros de Prevenção e Controle de Doença de 1947 a 1973<sup>11</sup>, nenhum caso secundário foi relatado nos membros da família ou em contatos comunitários. O Centro Nacional de Doença Animal relatou uma experiência<sup>12</sup> semelhante, sem nenhum caso secundário ocorrido nos contatos laboratoriais e não laboratoriais em relação aos 18 casos de infecções associadas a laboratório no período de 1960 a 1975. Através de um caso secundário da Doença de Marburg contraído pela esposa de um caso primário, concluiu-se que a infecção havia sido sexualmente transmitida dois meses após o marido ter recebido alta do hospital<sup>13</sup>. Três casos secundários de varíola foram relatados em dois surtos associados a laboratório na Inglaterra em 1973<sup>14</sup> e 1978<sup>15</sup>. Relatos anteriores de seis casos de febre Q entre os funcionários de uma lavanderia comercial que lavava os uniformes e roupas de um laboratório que manipulava o agente<sup>16</sup>, um caso de uma pessoa que visitava o laboratório<sup>17</sup> e dois casos de febre Q em contatos domiciliares de um rickettsiologista<sup>18</sup> também foram constatados. Existe o relato de um caso de transmissão do vírus B de macaco de um tratador de animais infectados para a sua esposa, aparentemente provocado pelo contato do vírus com a pele lesionada do indivíduo<sup>19</sup>. Esses casos são representativos da natureza esporádica e da pouca frequência das infecções na comunidade de trabalhadores de laboratório que lidam com agentes infecciosos.

Na revisão de 1979<sup>20</sup>, Pike chegou a conclusão que “o conhecimento, as técnicas e o equipamento para a prevenção das infecções laboratoriais já estão disponíveis”. Nos Estados Unidos, porém, nenhum código de prática, padrões, diretrizes ou outras publicações proporcionaram descrições detalhadas das técnicas, equipamento e outras considerações ou recomendações para um

maior esfera de ação das atividades laboratoriais conduzidas com uma variedade de agentes infecciosos exóticos e nativos. O folheto *Classificação dos Agentes Etiológicos Baseando-se no Grau de Risco*<sup>21</sup> serviu como uma referência geral para várias atividades laboratoriais que utilizam agentes infecciosos. Neste folheto, o conceito sobre a classificação dos agentes infecciosos e das atividades laboratoriais em quatro níveis ou classes, serviu como um formato básico para as edições anteriores do *Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e Microbiológicos (BLBM)*. Esta quarta edição do BLBM continua a descrever especificamente as combinações de práticas microbiológicas, instalações laboratoriais, equipamento de segurança e recomendações sobre suas utilizações nas quatro categorias ou nos quatro níveis de biossegurança de operação laboratorial com agentes infecciosos que afetam homens.

As descrições dos Níveis de Biossegurança de 1-4 paralelas àquelas contidas nas Diretrizes do NIH para Pesquisa Envolvendo o DNA Recombinante<sup>22, 23</sup>, estão de acordo com os critérios gerais originalmente usados para a designação dos agentes infecciosos para as Classes de 1-4 na *Classificação dos Agentes Etiológicos Baseando-se no Grau de Risco*<sup>24</sup>. Quatro níveis de biossegurança também são determinados para as atividades de doenças infecciosas utilizando pequenos animais de laboratórios. As recomendações para os níveis de biossegurança para agentes específicos são feitas com base no risco potencial do agente, da função ou da atividade do laboratório.

Desde o início dos anos 80, os laboratórios aplicam esses fundamentos em atividades associadas com manipulações envolvendo o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Mesmo antes do HIV ter sido identificado como o agente causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), os princípios que regulam a manipulação de um patógeno presente no sangue já eram considerados adequados para um trabalho laboratorial seguro. Normas também foram publicadas para os trabalhadores da área de saúde sob o título de Precauções Universais<sup>25</sup>. De fato, as Precauções Universais e esta publicação tornaram-se a base do manuseio seguro de sangue e de fluídos corporais, como descrito

## Introdução

na recente publicação OSHA, intitulada *Padrão de Patógenos Sanguíneos*<sup>26</sup>.

No final dos anos 80 havia uma grande preocupação com o lixo médico-hospitalar, o que levou a publicação do *Ato de Rastreamento de Lixo Hospitalar de 1988*<sup>27</sup>. Os princípios estabelecidos nos volumes anteriores do BLBM para o manuseio de dejetos potencialmente infecciosos como um risco ocupacional foi reforçado pela Pesquisa do Conselho Nacional intitulada *Biossegurança em Laboratórios: Práticas Prudentes para o Manuseio e Remoção de Materiais Infecciosos*<sup>28</sup>.

No momento em que esta publicação estava sendo editada, há uma preocupação crescente em relação ao reaparecimento do *M. tuberculosis* e a segurança dos trabalhadores de laboratórios e equipamentos da área de saúde. Os princípios descritos no BLBM que tentam assegurar as práticas, procedimentos e instalações de segurança na saúde são aplicáveis ao controle deste patógeno aéreo incluindo sua cepas resistentes a inúmeras drogas (multidrogas resistentes)<sup>29, 30</sup>. As tecnologias com DNA recombinante estão sendo aplicadas rotineiramente em laboratórios para modificar a composição genética de vários microorganismos. Uma avaliação completa de riscos deve ser conduzida quando nos referimos a estas atividades e a seus resultados e desconhecidos.

A experiência tem demonstrado a importância das precauções tomadas com as práticas, procedimentos, e instalações dos Níveis de Biossegurança de 1-4 descritas para as manipulações de agentes etiológicos em montagem de laboratórios e dependências animais. Embora não exista nenhum tipo de relatório nacional que descreva as infecções associadas a laboratórios, casos curiosos sugerem que uma rígida adesão a essas normas contribui para um meio de trabalho mais seguro e saudável para a equipe do laboratório, seus colaboradores e a comunidade ao redor. Para reduzir ainda mais o potencial de risco de infecções associadas a laboratórios, as normas apresentadas aqui devem ser consideradas como uma orientação mínima para contenção das mesmas. Estas devem ser adaptadas para cada laboratório em particular e podem ser utilizadas juntamente com outras informações científicas disponíveis.

## Introdução

### Referências:

1. Weden, A.G. History of Microbiological Safety. 1975. 18<sup>th</sup> Biological Safety Conference. Lexington, Kentucky.
2. Meyer, K.F., Eddie, B. 1941. Laboratory Infections due to *Brucella*. *J Infect Dis* **68**: 24-32
3. Sulkin, S.E., Pike, R.M. 1949. Viral Infections Contracted in the Laboratory. *New Engl J Med* **241** (5): 205-213.
4. Sulkin, S.E., Pike, R.M. 1951. Survey of laboratory-acquired infections. *Am J Public Health* **41** (7):769-781.
5. Pike, R.M., Sulkin, S.E., Schulze, M.L. 1965. Continuing importance of laboratory-acquired infections. *Am J Public Health* **55**: 190-199.
6. Pike, R.M., 1976. Laboratory –associated infections: Summary and analysis of 3,921 cases. *Hlth Lab Sci* **13**: 105-114.
7. Hanson, R.P., Sulkin, S.E., Buescher, E.L., et al. 1967. Arbovirus infections of laboratory workers. *Science* **158**:1283-1286.
8. Skinholj, P. 1974. Occupational risks in Danish clinical chemical laboratories. II Infections. *Scand J Clin Lab Invest* **33**: 27-29.
9. Harrington, J.M., and Shannon, H.S. 1976. Incidence of tuberculosis workers. *Br Med* **1**:759-762.
10. Skinholj, P. 1974. (8).
11. Richardson, J.H. 1972. Provisional summary of 109 laboratory-associated infections at the Centers for Disease Control, 1947-1973. Presented at the 16<sup>th</sup> Annual Biosafety Conference, Ames, Iowa.
12. Sullivan, J.F., Songer, J.R., Estrem, I.E. 1978. Laboratory-acquired infections at the National Animal Disease Center, 1960-1976. *Health Lab Sci* **15**(1): 58-64.
13. Martini, G.A., Schmidt, H.A. 1968. Spermatogenic transmission of Malburg virus. *Klin Wschr* **46**: 398-400.
14. Report of the Committee of Inquiry into the Smallpox Outbreak in London in March and April 1973. 1974. Her Majesty's Stationery Office, London.
15. World Health Organization. 1978. Smallpox Surveillance. *Weekly Epidemiological Record* **53** (35): 265-266.
16. Oliphant, J.M., Parker, R.R. 1948. Q-fever: Three cases of laboratory infection. *Public Health Rep* **63**(42): 1364-1370.
17. Oliphant, J.W., Parker, R.R. 1948. (16)
18. Beeman, E.A. 1950. Q-fever – an epidemiological note. *Pub Hlth Rep* **65** (2):88-92.

## Introdução

19. Holmes, G.P., Hilliard J.K., Klontz, K.C., et al. 1990. B virus (Herpesvirus simiae) Infection in Humans: Epidemiologic Investigation of a Cluster. *Ann of Int Med* **112**: 833-839.
20. Pike, R.M. 1979. Laboratory-associated infections, incidence, fatalities, causes and prevention. *Ann Ver Microbiol* **33**:41-66.
21. Centers for Disease Control, Office of Biosafety. 1974. *Classification of Etiologic Agents on the Basis of Hazard*, 4<sup>th</sup> Edition. U.S Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service.
22. National Institutes of Health. 1994. Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules. (Washington: GPO) Federal Register. **59FR34496**.
23. National Cancer Institute, Office of Research Safety, and the Special Committee of Safety and Health Experts. 1978. *Laboratory Safety Monograph: A Supplement to the NIH Guidelines for Recombinant DNA Research*. Bethesda, MD, National Institutes of Health.
24. Centers for Disease Control. Office of Biosafety. 1974. (20)
25. Centers for Disease Control. 1988. Update: Universal Precautions for Prevention of Transmission of Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis Virus and Other Bloodborne Pathogens in Healthcare Settings. *MMWR*, **37**:377-382,387, 388.
26. U.S Department of Labor, *Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule*. Fed. Register **56**:64175-64182.
27. U.S. Congress, 1988. Medical waste Tracking Act of 1988. H.R. 3515, 42 U.S.C. 6992-6992k.
28. *Biosafety in the laboratory*. Prudent Practices for the Handling and Disposal of Infectious Materials, 1989. National Research Council. National Academy Press, Washington, D.C.
29. *Centers for Disease Control*. 1990. Guidelines for Preventing the Transmission of Tuberculosis in Health-Care Settings, with Special Focus on HIV-Related Issues. *MMWR* **39**, N<sup>o</sup>. RR-17.
30. Centers for Disease Control. 1992. National Action Plan to Combat Multi-Drug-Resistant Tuberculosis. Meeting The Challenge of Multi-Drug-Resistant Tuberculosis: Summary of a Conference Management of Persons Exposed to Multi-Drug-Resistant Tuberculosis. *MMWR* **41**, N<sup>o</sup> RR –11.

## SEÇÃO II

### *Princípios de Biossegurança*

O termo “contenção” é usado para descrever os métodos de segurança utilizados na manipulação de materiais infecciosos em um meio laboratorial onde estão sendo manejados ou mantidos. O objetivo da contenção é o de 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 primária*, a proteção da equipe do laboratório e do meio de trabalho contra a exposição aos agentes infecciosos, é proporcionada por uma boa técnica de microbiologia e pelo uso de um equipamento de segurança adequado. O uso de vacinas pode fornecer um elevado nível de proteção pessoal. Já a *contenção secundária*, a proteção do meio ambiente externo ao laboratório contra a exposição aos materiais infecciosos, é proporcionada pela combinação de um projeto das instalações e das práticas operacionais. Desta forma, os três elementos de contenção incluem a prática e a técnica laboratorial, o equipamento de segurança e o projeto da instalação. A avaliação do risco do trabalho a ser realizado com um agente específico determinará a combinação adequada destes três elementos.

**Prática e Técnica Laboratorial.** O elemento de contenção mais importante é a adesão rígida às práticas e técnicas microbiológicas padrões. As pessoas que trabalham com agentes infecciosos ou com materiais potencialmente contaminados devem se conscientizar sobre os riscos potenciais, e devem ser treinadas e estarem aptas a exercerem as técnicas e práticas necessárias para o manuseio seguro destes materiais. Cabe ao diretor ou a pessoa responsável pelo laboratório, a responsabilidade também pelo fornecimento ou pela elaboração de um treinamento adequado para o corpo de funcionários.

Cada laboratório deverá desenvolver ou adotar um manual de biossegurança ou de operações que identifique os riscos que

serão ou que poderão ser encontrados e que especifique também as práticas e procedimentos específicos para minimizar ou eliminar as exposições a estes perigos. Os funcionários devem receber informações sobre os riscos especiais e devem ler e seguir todas as práticas e procedimentos solicitados. Um cientista treinado e com grande conhecimento das técnicas laboratoriais apropriadas, dos procedimentos de segurança e dos perigos associados ao manuseio de agentes infecciosos deve ser o responsável pela condução do trabalho envolvendo quaisquer agentes ou materiais infecciosos.

Quando as práticas laboratoriais padrões não forem suficientes para controlar os perigos associados a um agente ou a um procedimento laboratorial em particular, medidas adicionais poderão ser necessárias. O diretor do laboratório será o responsável pela seleção das práticas adicionais de segurança que devem estar relacionadas aos riscos associados aos agentes ou aos procedimentos.

A equipe, as práticas de segurança e as técnicas laboratoriais deverão ser complementadas com um projeto apropriado das instalações e das características da arquitetura, do equipamento de segurança e das práticas de gerenciamento.

**Equipamento de Segurança (Barreiras Primárias).** O equipamento de segurança inclui as cabines de segurança biológica (CSB), recipientes adequados e outros controles da engenharia de segurança projetados para remover ou minimizar exposições aos materiais biológicos perigosos. A cabine de segurança biológica (CSB) é o dispositivo principal utilizado para proporcionar a contenção de borrfos ou aerossóis infecciosos provocados por inúmeros procedimentos microbiológicos. Três tipos de cabines de segurança biológica (Classe I, II e III) usados em laboratórios de microbiologia estão descritos e ilustrados no Apêndice A. As cabines de segurança biológica Classe I e II, que possuem a frente aberta, são barreiras primárias que oferecem níveis significativos de proteção para a equipe do laboratório e para o meio ambiente quando utilizado com boas técnicas microbiológicas. A cabine de

segurança biológica Classe II também fornece uma proteção contra a contaminação externa de materiais (por exemplo, cultura de células, estoque microbiológico) que serão manipulados dentro das cabines. A cabine de segurança biológica Classe III hermética e impermeável aos gases proporciona o mais alto nível de proteção aos funcionários e ao meio ambiente.

Um outro exemplo de barreira primária é o copo de segurança da centrífuga, um recipiente conectado à centrífuga projetado para evitar que aerossóis sejam liberados durante uma centrifugação. Para minimizarmos este perigo, controles de contenção como as cabines de segurança biológicas (CSB) ou os copos da centrífuga deverão ser utilizadas ao manipularmos agentes infecciosos que possam ser transmitidos através da exposição aos aerossóis.

O equipamento de segurança também pode incluir itens para a proteção pessoal como luvas, aventais, gorros, proteção para sapatos, botas, respiradores, escudo ou protetor facial, máscaras faciais ou óculos de proteção. O equipamento de proteção pessoal frequentemente é usado em combinação com as cabines de segurança biológica e outros dispositivos que façam a contenção os agentes, animais ou materiais que estão sendo manipulados. Em alguns casos nos quais torna-se impossível trabalhar em capelas de segurança biológica, o equipamento de segurança pessoal deve formar a barreira primária entre os trabalhadores e os materiais infecciosos. Os exemplos incluem certos estudos animais, necropsia animais, atividades de produção em grande escala do agente e atividades relacionadas à manutenção, serviços ou suporte da instalação do laboratório.

**Projeto e Construção das Instalações (Barreiras Secundárias).** O planejamento e a construção das instalações contribuem para a proteção da equipe do laboratório, proporcionando uma barreira de proteção para as pessoas que se encontram fora do laboratório e para as pessoas ou animais da comunidade contra agentes infecciosos que podem ser liberados acidentalmente pelo laboratório. A gerência do laboratório deve ser a responsável por instalações que estejam de acordo com o



## Princípios de Biossegurança

funcionamento do mesmo e com o nível de biossegurança recomendado para os agentes que forem ali manipulados.

As barreiras secundárias recomendadas dependerão do risco de transmissão dos agentes específicos. Por exemplo, o risco das exposições para grande parte dos trabalhos laboratoriais em dependências de um Nível De Biossegurança 1 e 2 será o contato direto com os agentes ou as exposições inadvertidas através de um meio de trabalho contaminado. As barreiras secundárias nestes laboratórios podem incluir o isolamento da área de trabalho ao acesso público, disponibilidade de uma dependência para descontaminação (por exemplo, uma autoclave) e dependências para lavagem das mãos.

Quando o risco de contaminação através da exposição aos aerossóis infecciosos estiver presente, níveis mais elevados de contenção primária e barreiras de proteção secundárias poderão ser necessários para evitar que agentes infecciosos escapem para o meio ambiente. Estas características do projeto incluem sistemas de ventilação especializados em assegurar o fluxo de ar unidirecionado, sistemas de tratamento de ar para a descontaminação ou remoção do ar liberado, zonas de acesso controlado, câmaras pressurizadas como entradas de laboratório, separados ou módulos para isolamento do laboratório. Os engenheiros responsáveis pelo projeto devem levar em consideração as recomendações específicas para ventilação como as encontradas no *Manual de Aplicações para Calefação, Ventilação e Refrigeração (Applications Handbook for Heating, Ventilation and Air-Conditioning - HVAC)* publicado pela Sociedade Americana de Engenheiros de Calefação, Refrigeração e Condicionamento de Ar (American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers – ASHRAE)<sup>1</sup>.

**Níveis de Biossegurança.** Os quatro níveis de biossegurança (NB) estão descritos na Seção III, e consistem de combinações de práticas e técnicas de laboratório, equipamento de segurança e instalações do laboratório. Cada combinação é especificamente adequada para as operações realizadas, vias de

transmissões documentadas ou suspeitas de agentes infecciosos e funcionamento ou atividade do laboratório.

Os níveis de biossegurança recomendados para os organismos da Seção VII (Resumo dos Agentes) representam as condições nas quais o agente pode ser manuseado com segurança. O diretor do laboratório é especificamente e primariamente o responsável pela avaliação dos riscos e pela aplicação adequada dos níveis de biossegurança recomendados. Geralmente, o trabalho com agentes desconhecidos deve ser conduzido em um nível de biossegurança recomendado pela Seção VII. Quando temos uma informação específica disponível que possa sugerir a virulência, a patogenicidade, os padrões de resistência a antibióticos, a vacina e a disponibilidade de tratamento, ou outros fatores significativamente alterados, práticas mais (ou menos) rígidas poderão ser adotadas.

**Nível de Biossegurança 1** - As práticas, o equipamento de segurança e o projeto das instalações são apropriados para o treinamento educacional secundário ou para o treinamento de técnicos, e de professores de técnicas laboratoriais. Este conjunto também é utilizado em outros laboratórios onde o trabalho, com cepas definidas e caracterizadas de microorganismos viáveis e conhecidos por não causarem doenças em homens adultos e saudáveis, é realizado. O *Bacillus subtilis*, o *Naegleria gruberi*, o vírus da hepatite canina infecciosa e organismos livres sob as Diretrizes do NIH de DNA Recombinantes são exemplos de microorganismos que preenchem todos estes requisitos descritos acima. Muitos agentes que geralmente não estão associados a processos patológicos em homens são, entretanto, patógenos oportunos e que podem causar uma infecção em jovens, idosos e indivíduos imunossupressivos ou imunodeprimidos. As cepas de vacina que tenham passado por múltiplas passagens *in vivo* não deverão ser consideradas não virulentas simplesmente por serem cepas de vacinas.

O Nível de Biossegurança 1 representa um nível básico de contenção que se baseia nas práticas padrões de

microbiologia sem uma indicação de barreiras primárias ou secundárias, com exceção de uma pia para a higienização das mãos.

**Nível de Biossegurança 2** - As práticas, os equipamentos, a planta e a construção das instalações são aplicáveis aos laboratórios clínicos, de diagnóstico, laboratórios escolas e outros laboratórios onde o trabalho é realizado com um maior espectro de agentes nativos de risco moderado presentes na comunidade e que estejam associados a uma patologia humana de gravidade variável. Com boas técnicas de microbiologia, esses agentes podem ser usados de maneira segura em atividades conduzidas sobre uma bancada aberta, uma vez que o potencial para a produção de borrifos e aerossóis é baixo. O vírus da hepatite B, o HIV, a salmonela e o *Toxoplasma spp.* são exemplos de microorganismos designados para este nível de contenção. O Nível de Biossegurança 2 é adequado para qualquer trabalho que envolva sangue humano, líquidos corporais, tecidos ou linhas de células humanas primárias onde a presença de um agente infeccioso pode ser desconhecido. Os laboratoristas que trabalham com materiais humanos devem consultar o livro Padrão de Patógenos Transmitidos pelo Sangue da OSHA (OSHA *Bloodborne Pathogen Standard*<sup>2</sup>) para as precauções específicas necessárias.

Os perigos primários em relação aos funcionários que trabalham com esses agentes estão relacionados com acidentes percutâneos de as exposições da membrana mucosa ou com a ingestão de materiais infecciosos. Deve-se tomar um extremo cuidado com agulhas contaminadas ou com instrumentos cortantes. Embora os organismos rotineiramente manipulados em um Nível de Biossegurança 2 não sejam transmitidos através de aerossóis, os procedimentos envolvendo um alto potencial para a produção de salpicos ou aerossóis que possam aumentar o risco de exposição destes funcionários devem ser conduzidos com um equipamento de contenção primária ou com dispositivos como a CSB ou os copos de segurança da centrífuga. Outras barreiras primárias, como os escudos para borrifos, proteçã

## Princípios de Biossegurança

facial, aventais e luvas devem ser utilizados de maneira adequada.

As barreiras secundárias como pias para higienização das mãos e instalações para descontaminação de lixo devem existir com o objetivo de reduzir a contaminação potencial do meio ambiente.

**Nível de Biossegurança 3** - As práticas, o equipamento de segurança, o planejamento e construção das dependências são aplicáveis para laboratórios clínicos, de diagnósticos, laboratório escola, de pesquisa ou de produções. Nestes locais, realiza-se o trabalho com agentes nativos ou exóticos que possuam um potencial de transmissão via respiratória e que podem causar infecções sérias e potencialmente fatais. O *Mycobacterium tuberculosis*, o vírus da encefalite de St. Louis e a *Coxiella burnetii* são exemplos de microorganismos determinados para este nível. Os riscos primários causados aos trabalhadores que lidam com estes agentes incluem a auto-inoculação, a ingestão e a exposição aos aerossóis infecciosos.

No Nível de Biossegurança 3, enfatizamos mais as barreiras primárias e secundárias para protegermos os funcionários de áreas contíguas, a comunidade e o meio ambiente contra a exposição aos aerossóis potencialmente infecciosos. Por exemplo, todas as manipulações laboratoriais deverão ser realizadas em uma CSB (Cabine de Segurança Biológica) ou em um outro equipamento de contenção como uma câmara hermética de geração de aerossóis. As barreiras secundárias para esse nível incluem o acesso controlado ao laboratório e sistemas de ventilação que minimizam a liberação de aerossóis infecciosos do laboratório.

**Nível de Biossegurança 4** – As práticas, o equipamento de segurança, o planejamento e construção das dependências são aplicáveis para trabalhos que envolvam agentes exóticos perigosos que representam um alto risco por provocarem doenças fatais em indivíduos. Estes agentes podem ser

## Princípios de Biossegurança

transmitidos via aerossóis e até o momento não há nenhuma vacina ou terapia disponível. Os agentes que possuem uma relação antigênica próxima ou idêntica aos dos agentes do Nível de Biossegurança 4 também deverão ser manuseados neste nível. Quando possuímos dados suficientes, o trabalho com esses agentes deve continuar neste nível ou em um nível inferior. Os vírus como os de Marburg ou da febre hemorrágica Criméia-Congo são manipulados no Nível de Biossegurança 4.

Os riscos primários aos trabalhadores que manuseiam agentes do Nível de Biossegurança 4 incluem a exposição respiratória aos aerossóis infecciosos, exposição da membrana mucosa e/ou da pele lesionada às gotículas infecciosas e a autoinoculação. Todas as manipulações de materiais de diagnóstico potencialmente infecciosos, substâncias isoladas e animais naturalmente ou experimentalmente infectados apresentam um alto risco de exposição e infecção aos funcionários de laboratório, à comunidade e ao meio ambiente.

O completo isolamento dos trabalhadores de laboratório em relação aos materiais infecciosos aerossolizados é realizado primariamente em cabines de segurança biológica Classe III ou com um macacão individual suprido com pressão de ar positiva. A instalação do Nível de Biossegurança 4 é geralmente construída em um prédio separado ou em uma zona completamente isolada com uma complexa e especializada ventilação e sistemas de gerenciamento de lixo que evitem uma liberação de agentes viáveis no meio ambiente.

O diretor do laboratório é primariamente e especificamente responsável pela operação segura do laboratório. O conhecimento e julgamento dele/dela são críticos para a avaliação dos riscos e para a aplicação adequada destas recomendações. O nível de biossegurança recomendada representa as condições sob as quais o agente pode ser manipulado com segurança. As características especiais dos agentes utilizados, o treinamento e experiência dos empregados e a natureza da função do laboratório poderão posteriormente influenciar o diretor quanto à aplicação destas recomendações.

**Dependências para Animais.** Os quatro níveis de biossegurança também são descritos para as atividades que envolvem o trabalho de doenças infecciosas com animais experimentais. Estas quatro combinações de práticas, equipamento de segurança e de instalações são denominadas de *Níveis de Biossegurança Animal 1, 2, 3, e 4* e proporcionam níveis crescentes de proteção aos funcionários e ao meio ambiente.

**Laboratórios Clínicos.** Os laboratórios clínicos, especialmente aqueles situados em clínicas e hospitais recebem amostras clínicas requisitando uma grande variedade de diagnósticos e serviços de apoio clínico. Geralmente, a natureza infecciosa do material clínico é desconhecida e as amostras são freqüentemente submetidas a uma ampla solicitação de exame microbiológico em relação aos múltiplos agentes (por exemplo, o escarro pode ser submetido a uma cultura de “rotina”, ácido resistente e cultura fúngica). É responsabilidade do diretor do laboratório estabelecer procedimentos padrões no laboratório que, de fato, direcionem a questão do perigo da infecção imposto pelas amostras clínicas.

Com exceção de circunstâncias extraordinárias (por exemplo, suspeita de uma febre hemorrágica), o processamento inicial de uma amostra clínica e a identificação sorológica de substâncias isoladas poderá ser realizado de forma segura em um Nível de Biossegurança 2 - o nível recomendado para o trabalho com patógeno do sangue como o vírus da hepatite B e o HIV. Os elementos de contenção descritos no Nível de Biossegurança 2 deverão estar de acordo com o padrão da OSHA, *“Exposição Ocupacional aos Patógenos Transmitidos através do Sangue”*<sup>3, 4</sup> publicado pela Administração de Saúde e Segurança Ocupacional. Isto requer o uso de precauções específicas para todas as amostras clínicas de sangue ou outros materiais potencialmente infecciosos (Precauções ou Padrões Universais)<sup>5</sup>. Além disto, outras recomendações específicas para laboratórios clínicos podem ser obtidas através do Comitê Nacional de Padrões para Laboratórios Clínicos (National Committee for Clinical Laboratory Standard)<sup>6</sup>.

As recomendações para o nível de Biossegurança 2 e os requerimentos do OSHA enfocam a prevenção à exposição por contato com a pele e mucosas à materiais clínicos. Barreiras primárias, como as cabines de segurança biológica ( Classe I e II), devem ser usadas quando procedimentos que causam gotejamento, pulverização e salpicos de gotas. As cabines de segurança biológica também devem ser usadas quando do início da manipulação de espécimes clínicos, cuja natureza do teste requerer, ou em presença de um agente que reconhecidamente transmite infecções por aerossóis (por ex.; *M. tuberculosis*) ou quando o uso de uma cabine de segurança biológica (Classe II) é indicado para proteger a integridade do espécime.

A segregação das funções de um laboratório clínico e o acesso limitado ou restrito a estas áreas é de responsabilidade do diretor da instituição. É responsabilidade também do diretor estabelecer um padrão e procedimentos por escrito que direcionem os riscos potenciais e os cuidados ou precauções necessárias a serem implantadas.

**Importação e Expedição Interestadual de Certos Materiais Biomédicos.** A importação de vetores e agentes etiológicos de patologias humanas está sujeita aos regulamentos da Public Health Service Foreign Quarentine. Os regulamentos do Serviço de Saúde Pública e do Departamento de Transportes especificam os requisitos necessários para a embalagem, rotulagem e embarque de agentes etiológicos e amostras para diagnósticos expedidos para o comércio interestadual (veja Apêndice).

O Departamento de Agricultura dos E.U. A regulamenta a importação e expedição interestadual de patógenos animais e proíbe a importação, posse ou uso de certos agentes patológicos de animais exóticos que possam ser uma ameaça para aves e criações em geral por provocarem sérias doenças (veja o Apêndice D).

**Referências:**

1. American Society of Heating, Refrigerating, and air-Conditioning Engineers, Inc. 1999. Laboratories". In: ASHRAE Handbook, *Heating, Ventilation, and Air-Conditioning Applications*, Chapter 13.
2. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 1991. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56: 64175-64182.
3. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administrations. 1991. (2)
4. Richmond, J.Y. 1994. "HIV Biosafety: Guidelines and Regulations." In (G. Schochetman, J.R. George, Eds). *AIDS Testing*, Edition 2 (pp. 346-360). Springer-Verlag New York, Inc.
5. Centers for Disease Control. 1988. Update: Universal Precautions for Prevention of Transmission of Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis B Virus and Other Bloodborne Pathogens in Healthcare Settings. *MMWR*, 37: 377-382, 387, 388.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1997. Protection of laboratory workers from instrument biohazards and infectious disease transmitted by blood, body fluids and tissue. Approved guideline. Dec. 1997, NCCLS Doc. M29-A (ISBN-1-56238-339-6).



## SEÇÃO III

### Níveis de Biossegurança Laboratorial

Os principais requisitos exigidos para os quatro níveis de biossegurança em atividades que envolvam microorganismos infecciosos e animais de laboratório estão resumidos na Tabela 1 desta Seção e da Seção IV. Os níveis são designados em ordem crescente, pelo grau de proteção proporcionado ao pessoal do laboratório, meio ambiente e à comunidade.

#### Nível de Biossegurança (NB-1)

**O Nível de Biossegurança 1** é adequado ao trabalho que envolva agentes bem caracterizados e conhecidos por não provocarem doença em seres humanos e que possuam mínimo risco ao pessoal do laboratório e ao meio ambiente. O laboratório não está separado das demais dependências do edifício. O trabalho é conduzido, em geral, em bancada, com adoção das boas práticas laboratoriais (BPL). Equipamentos específicos de proteção ou características especiais de construção não são geralmente usados ou exigidos. O pessoal do laboratório deverá ter treinamento específico nos procedimentos realizados no laboratório e deverão ser supervisionados por um cientista com treinamento em microbiologia geral ou ciência correlata.

Os seguintes padrões e práticas especiais, equipamento de segurança e as instalações deverão ser aplicados aos agentes designados ao Nível de Biossegurança 1:

#### A. *Práticas Padrões em Microbiologia*

1. O acesso ao laboratório deverá ser limitado ou restrito de acordo com a definição do diretor do laboratório quando estiverem sendo realizados experimentos ou trabalhos com culturas e amostras.
2. As pessoas deverão lavar as mãos após o manuseio de materiais viáveis, após a remoção das luvas e antes de saírem do laboratório.

3. Não é permitido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato, aplicar cosméticos ou armazenar alimentos para consumo nas áreas de trabalho. As pessoas que usam lentes de contato em laboratórios deverão usar também óculos de proteção ou protetores faciais. Os alimentos deverão ser guardados fora das áreas de trabalho em armários ou geladeiras específicos para este fim.
4. É proibida a pipetagem com a boca; devem ser utilizados dispositivos mecânicos.
5. Devem ser instituídas normas para o manuseio de agulhas.
6. Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de borrifos ou aerossóis.
7. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material viável.
8. Todas as culturas, colônias e outros resíduos deverão ser descontaminados antes de serem descartados através de um método de descontaminação aprovado como, por exemplo, esterilização por calor úmido (autoclave). Os materiais que forem ser descontaminados fora do laboratório deverão ser colocados em recipientes inquebráveis, à prova de vazamentos e hermeticamente fechados para serem transportados ao local desejado. Os materiais que forem enviados para descontaminação fora da instituição deverão também ser embalados de acordo com os regulamentos locais, estaduais e federais, antes de serem removidos das dependências do laboratório.
9. O símbolo de “Risco Biológico” deverá ser colocado na entrada do laboratório em qualquer momento em que o

agente infeccioso estiver presente no local. Este sinal de alerta deverá indicar o(s) agente(s) manipulado(s) e o nome e número do telefone do pesquisador.

10. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle de insetos e roedores. (ver Apêndice G).

*B. Práticas Especiais* Nenhuma

*C. Equipamento de Segurança (Barreiras Primárias)*

1. Os equipamentos especiais de contenção, tais como as cabines de segurança biológica, não são geralmente exigidas para manipulações de agentes de classe de risco 1.
2. É recomendado o uso de jalecos, aventais ou uniformes próprios, para evitarem a contaminação ou sujeira de suas roupas normais.
3. Recomenda-se o uso de luvas para os casos de rachaduras ou ferimentos na pele das mãos. Algumas alternativas como o uso de luvas de látex com talco deverão ser avaliadas.
4. Óculos protetores deverão ser usados na execução de procedimentos que produzam borrifos de microorganismos ou de materiais perigosos.

*D. Instalações Laboratoriais (Barreiras Secundárias)*

1. Os laboratórios deverão possuir portas para controle do acesso.
2. Cada laboratório deverá conter uma pia para lavagem das mãos.
3. O laboratório deve ser projetado de modo a permitir fácil limpeza. Carpetes e tapetes não são apropriados para laboratórios.

## Níveis de Biossegurança Laboratorial — NB2

4. É recomendável que a superfície das bancadas seja impermeável à água e resistente ao calor moderado e aos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e químicos usados para a descontaminação da superfície de trabalho e do equipamento.
5. Os móveis do laboratório deverão ser capazes de suportar cargas e usos previstos. Os espaços entre as bancadas, cabines e equipamento deverão ser suficientes de modo a permitir fácil acesso para limpeza.
6. Se o laboratório possuir janelas que se abram para o exterior, estas deverão conter telas de proteção contra insetos.

### Níveis de Biossegurança 2 (NB-2)

O nível de Biossegurança 2 é semelhante ao Nível de Biossegurança 1 e é adequado ao trabalho que envolva agentes de risco moderado para as pessoas e para o meio ambiente. Difere do NB-1 nos seguintes aspectos: (1) O pessoal de laboratório deverá ter um treinamento específico no manejo de agentes patogênicos e devem ser supervisionados por cientistas competentes; (2) O acesso ao laboratório deve ser limitado durante os procedimentos operacionais; (3) precauções extremas serão tomadas em relação a objetos cortantes infectados; e (4) Determinados procedimentos nos quais exista possibilidade de formação de aerossóis e borrifos infecciosos devem ser conduzidos em cabines de segurança biológica ou outros equipamentos de contenção física.

Os seguintes padrões e práticas especiais, equipamentos de segurança e instalações são aplicáveis aos agentes designados para o Nível de Biossegurança 2:

#### A. Práticas Padrões de Microbiologia

1. O acesso ao laboratório deverá ser limitado ou restrito de acordo com a definição do diretor do laboratório quando estiver sendo realizado experimento.

2. As pessoas devem lavar as mãos após a manipulação de materiais viáveis, após a remoção das luvas e antes de saírem do laboratório.
3. É proibido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato e aplicar cosméticos nas áreas de trabalho. Os alimentos deverão ser guardados fora das áreas de trabalho em armários ou geladeiras específicas para este fim.
4. É proibida a pipetagem com a boca; devem ser utilizados dispositivos mecânicos.
5. Devem ser instituídas normas para o manuseio de agulhas.
6. Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de borrifos ou aerossóis.
7. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas com desinfetantes que sejam eficazes contra os agentes manipulados, ao final do trabalho ou no final do dia e após qualquer vazamento ou borrifada de material viável.
8. Todas as culturas, colônias e outros resíduos deverão ser descontaminados antes de serem descartados através de um método de descontaminação aprovado como, por exemplo, esterilização por calor úmido (autoclave). Os materiais que forem ser descontaminados fora do próprio laboratório deverão ser colocados em recipientes inquebráveis, à prova de vazamentos e hermeticamente fechados para serem transportados ao local desejado.
9. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle contra insetos e roedores (veja Apêndice G).

#### *B. Práticas Especiais*

1. O acesso ao laboratório deverá ser limitado ou restrito de acordo com a definição do diretor, quando o trabalho com

agentes infecciosos estiver sendo realizado. Em geral, pessoas susceptíveis às infecções, ou pessoas que quando infectadas possam apresentar sérias complicações, não serão permitidas no laboratório ou nas salas dos animais. Por exemplo, pessoas que estejam imunocomprometidas ou imunodeprimidas poderão estar correndo um sério risco de se contaminarem. Cabe ao diretor a decisão final quanto à avaliação de cada circunstância e a determinação de quem deve entrar ou trabalhar no laboratório ou na sala de animais.

2. O diretor do laboratório deverá estabelecer normas e procedimentos com ampla informação a todos que trabalharem no laboratório sobre o potencial de risco associado ao trabalho, bem como sobre os requisitos específicos (por exemplo, imunização) para entrada em laboratório.
3. O símbolo de “Risco Biológico” deverá ser colocado na entrada do laboratório onde agentes etiológicos estiverem sendo utilizados. Este sinal de alerta deverá conter informações como o(s) nome(s) o(s) agente(s) manipulado(s), o nível de biossegurança, as imunizações necessárias, o nome e número do telefone do pesquisador, o tipo de equipamento de proteção individual que deverá ser usado no laboratório e os procedimentos necessários para sair do laboratório.
4. O pessoal do laboratório deve estar apropriadamente imunizado ou examinado quanto aos agentes manipulados ou potencialmente presentes no laboratório (por exemplo, vacina contra a hepatite B ou teste cutâneo para a tuberculose).
5. Quando apropriado, dependendo do(s) agente(s) manipulado(s), para referência futura, devem ser mantidas amostras sorológicas da equipe do laboratório e de outras pessoas possivelmente expostos aos riscos. Amostras

sorológicas adicionais devem ser colhidas periodicamente, dependendo dos agentes manipulados ou da função das instalações laboratoriais.

6. Os procedimentos de biossegurança devem ser incorporados aos procedimentos operacionais padrões ou a um manual de biossegurança específico do laboratório, adotado ou preparado pelo diretor do laboratório. Todo pessoal deve ser orientado sobre os riscos e devem ler e seguir as instruções sobre as práticas e procedimentos requeridos.
7. O diretor do laboratório deverá assegurar que o laboratório e a equipe de apoio receba um treinamento apropriado sobre os riscos potenciais associados ao trabalho desenvolvido, as precauções necessárias para prevenção de exposição e os procedimentos para avaliação das exposições. A equipe de funcionários deverá receber cursos de atualização anuais ou treinamento adicional quando necessário e também no caso de mudanças de normas ou de procedimentos.
8. Deve-se sempre tomar uma enorme precaução em relação a qualquer objeto cortante, incluindo seringas e agulhas, lâminas, pipetas, tubos capilares e bisturis.
  - a. Agulhas e seringas hipodérmicas ou outros instrumentos cortantes devem ficar restritos ao laboratório e usados somente quando não houver outra alternativa para inoculação parenteral, flebotomia ou aspiração de fluídos de animais de laboratório e de garrafas com diafragma. Recipientes plásticos devem ser substituídos por recipientes de vidro sempre que possível.
  - b. Devem ser usadas somente seringas com agulha fixa ou agulha e seringa em uma unidade única descartável usada para injeção ou aspiração de materiais infecciosos.

As agulhas descartáveis usadas não deverão ser dobradas, quebradas, reutilizadas, removidas das seringas ou manipuladas antes de serem desprezadas. Ao contrário, elas deverão ser cuidadosamente colocadas em recipiente resistente a perfurações localizado convenientemente, utilizado para recolhimento de objetos cortantes desprezados. Objetos cortantes não descartáveis devem ser colocados em um recipiente cuja parede seja bem resistente para o transporte até a área para descontaminação, de preferência através de uma autoclave.

- c. As seringas que possuem um envoltório para a agulha, ou sistemas sem agulha e outros dispositivos de segurança deverão ser utilizados quando necessários.
  - d. Vidros quebrados não devem ser manipulados diretamente com a mão, devem ser removidos através de meios mecânicos como uma vassoura e uma pá de lixo, pinças ou fórceps. Os recipientes que contêm agulhas, equipamentos cortantes e vidros quebrados contaminados deverão passar por um processo de descontaminação antes de serem desprezados, de acordo com os regulamentos locais, estaduais ou federais.
9. Culturas, tecidos e amostras de fluídos corpóreos ou dejetos potencialmente infecciosos devem ser colocados em um recipiente com uma tampa que evite o vazamento durante a coleta, o manuseio, o processamento, o armazenamento, o transporte ou o embarque.
10. O equipamento laboratorial e as superfícies de trabalho deverão ser descontaminadas rotineiramente com um desinfetante eficaz após a conclusão do trabalho com materiais infecciosos e especialmente após borrifos e derramamentos ou depois que outras contaminações por materiais infecciosos tenham ocorrido. O equipamento



contaminado deverá ser descontaminado de acordo com as normas locais, estaduais ou federais antes de ser enviado para conserto, manutenção ou acondicionamento para transporte de acordo com as normas locais, estaduais ou federais aplicáveis, antes de ser removido do local.

11. Respingos e acidentes resultantes de uma exposição de materiais infecciosos aos organismos deverão ser imediatamente notificados ao diretor do laboratório. A avaliação médica, a vigilância e o tratamento deverão ser providenciados e registros do acidente e das providências adotadas deverão ser mantidos por escrito.
12. É proibida a admissão de animais que não estiverem relacionados ao trabalho em execução no laboratório.

### C. Equipamento de Segurança (Barreira Primária)

1. Devem ser usadas cabines de segurança biológica mantidas de maneira adequada, de preferência de Classe II, ou outro equipamento de proteção individual adequado ou dispositivos de contenção física sempre que:
  - a. Sejam realizados procedimentos com elevado potencial de criação de aerossóis ou borrifos infecciosos como centrifugação, trituração, homogeneização, agitação vigorosa, misturas, ruptura por sonificação, abertura de recipientes contendo materiais infecciosos onde a pressão interna possa ser diferente da pressão ambiental, inoculação intranasal em animais e em cultura de tecidos infectados de animais ou de ovos embrionados.
  - b. Altas concentrações ou grandes volumes de agentes infecciosos forem utilizados. Tais materiais só poderão ser centrifugados fora das cabines de segurança se forem utilizadas centrífugas de segurança e frascos

lacrados. Estes só deverão ser abertos no interior de uma cabine de segurança biológica.

2. Proteção para o rosto (máscaras de proteção, protetor facial, óculos de proteção ou outra proteção para respingos) deve ser usada para prevenir respingos ou sprays proveniente de materiais infecciosos ou de outros materiais perigosos, quando for necessária a manipulação de microrganismos fora das cabines de segurança biológica.
3. No interior do laboratório, os freqüentadores deverão utilizar roupas apropriadas como jalecos, gorros ou uniformes de proteção. Antes de sair do laboratório para as áreas externas (cantina, biblioteca, escritório administrativo), a roupa protetora deve ser retirada e deixada no laboratório, ou encaminhada para a lavanderia da instituição. A equipe do laboratório nunca deve levá-la para a casa.
4. Devem ser usadas luvas, quando houver um contato direto com materiais e superfícies potencialmente infecciosas ou equipamentos contaminados. O mais adequado é usar dois pares de luvas. Essas luvas devem ser desprezadas quando estiverem contaminadas, o trabalho com materiais infecciosos for concluído ou quando a integridade da luva estiver comprometida. Luvas descartáveis não poderão ser lavadas, reutilizadas ou usadas para tocar superfícies “limpas” (teclado, telefones, etc.), e não devem ser usadas fora do laboratório. Alternativas como luvas de látex com talco deverão estar disponíveis. As mãos deverão ser lavadas após a remoção das luvas.

#### *D. Instalações Laboratoriais (Barreiras Secundárias)*

1. É exigido um sistema de portas com trancas em dependências que abrigarem agentes restritos (como definido em 42 CFR 72.6).
2. Considere a construção de novos laboratórios longe de área públicas.

3. Cada laboratório deverá conter uma pia para a lavagem das mãos. Recomendamos a construção de pias que funcionem automaticamente ou que sejam acionadas com o pé ou com o joelho.
4. O laboratório deverá ser projetado de modo a permitir fácil limpeza e descontaminação. Carpetes e tapetes não são apropriados para laboratório.
5. As bancadas deverão ser impermeáveis à água e resistentes ao calor moderado e aos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e solventes químicos utilizados na descontaminação das superfícies de trabalho e do equipamento.
6. Os móveis do laboratório devem suportar cargas e usos previstos com espaçamento suficiente entre as bancadas, cabines e equipamentos para permitir acesso fácil para limpeza. As cadeiras e outros móveis utilizados no trabalho laboratorial devem ser cobertos com um material que não seja tecido e que possa ser facilmente descontaminado.
7. Cabines de segurança biológica devem ser instaladas, de forma que a variação da entrada e saída de ar da sala, não provoque alteração nos padrões de contenção de seu funcionamento. As cabines de segurança biológica devem estar localizadas longe de portas, janelas que possam ser abertas, áreas laboratoriais muito cheias e que possuam outros equipamentos potencialmente dilaceradores, de forma que sejam mantidos os parâmetros de fluxo de ar nestas cabines de segurança biológica.
8. Um lava olhos deve estar disponível.
9. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e luzes fortes e ofuscantes que possam impedir a visão.
10. Não existem exigências em relação à ventilação. Porém, o planejamento de novas instalações deve considerar

sistemas mecânicos de ventilação que proporcione um fluxo interno de ar sem que haja uma recirculação para os espaços fora do laboratório. Caso o laboratório possua janelas que se abram para o exterior, essas deverão possuir telas para insetos.

### **Nível de Biossegurança 3 (NB-3)**

O **Nível de Biossegurança 3** é aplicável para laboratórios clínicos, de diagnóstico, ensino e pesquisa ou de produção onde o trabalho com agentes exóticos possa causar doenças sérias ou potencialmente fatais como resultado de exposição por inalação. A equipe laboratorial deve possuir treinamento específico no manejo de agentes patogênicos e potencialmente letais devendo ser supervisionados por competentes cientistas que possuam vasta experiência com estes agentes.

Todos os procedimentos que envolverem a manipulação de materiais infecciosos devem ser conduzidos dentro de cabines de segurança biológica ou outro dispositivo de contenção física. Os manipuladores devem usar roupas e equipamento de proteção individual.

Sabe-se, porém, que algumas instalações existentes podem não possuir todas as características recomendadas para um Nível de Biossegurança 3 (por exemplo, uma área de acesso com duas portas, selamento das entradas de ar). Nestas circunstâncias, um nível aceitável de segurança para condução dos procedimentos de rotina (por exemplo, procedimentos para diagnósticos envolvendo a reprodução de um agente para identificação, tipagem, teste de susceptibilidade, etc.) poderá ser conseguido através de instalações do Nível de Biossegurança 2 garantindo-se que: (1) o ar liberado do laboratório seja jogado para fora da sala, (2) a ventilação do laboratório seja equilibrada para proporcionar um fluxo de ar direcionado para dentro da sala, (3) o acesso ao laboratório seja restrito quando o trabalho estiver sendo realizado e (4) as Práticas Padrões de Microbiologia, as Práticas Especiais e o Equipamento de Segurança para o Nível de Biossegurança 3 sejam

rigorosamente seguidas. A decisão de implementar essas modificações das recomendações do Nível de Biossegurança 3 deve ser tomada somente pelo diretor do laboratório.

O seguinte padrão e práticas de segurança especiais, equipamentos e instalações se aplicam aos agentes enumerados no Nível de Biossegurança 3:

*A. Práticas Padrões de Microbiologia*

1. O acesso ao laboratório deve ser limitado ou restrito de acordo com a definição do diretor do laboratório quando experimentos estiverem sendo realizados.
2. As pessoas devem lavar as mãos após a manipulação de materiais infecciosos, após a remoção das luvas e antes de saírem do laboratório.
3. É proibido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato e aplicar cosméticos dentro da área de trabalho. As pessoas que usarem lentes de contato em laboratórios deverão também usar óculos de proteção ou protetores faciais. Os alimentos devem ser armazenados fora do ambiente de trabalho em armários ou geladeiras utilizadas somente para este fim.
4. É proibido a pipetagem com a boca, devem ser utilizados dispositivos mecânicos.
5. Devem ser instituídas normas para o manuseio de agulhas.
6. Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de aerossóis.
7. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas pelo menos uma vez ao dia e depois de qualquer derramamento de material viável.
8. Todas as culturas, colônias e outros resíduos relacionados devem ser descontaminados antes de serem descartados,

através de um método de descontaminação aprovado, como por exemplo, a autoclavação. Os materiais que forem ser descontaminados fora da área próxima ao laboratório deverão ser colocados dentro de um recipiente rígidos, à prova de vazamento e hermeticamente fechado para ser transportado do laboratório. O lixo infeccioso de laboratórios de Níveis de Biossegurança 3 deverá ser descontaminado antes de ser removido para locais fora do laboratório.

9. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle de insetos e roedores (veja o Apêndice G).

#### B. *Práticas Especiais*

1. As portas do laboratório devem permanecer fechadas quando experimentos estiverem sendo realizados.
2. O diretor do laboratório deverá controlar e limitar o acesso ao laboratório. Somente as pessoas necessárias para que o programa seja executado ou o pessoal de apoio devem ser admitidos no local. As pessoas que apresentarem risco aumentado de contaminação ou que possam ter sérias conseqüências caso sejam contaminadas, não serão permitidas dentro do laboratório ou na sala de animais. Por exemplo, pessoas imunocomprometidas ou imunodeprimidas podem estar mais susceptíveis a uma contaminação. O diretor deverá ser o responsável final pela avaliação de cada caso e na determinação de quem deverá ou não entrar ou trabalhar dentro do laboratório. Não é permitida a entrada de menores no laboratório.
3. O diretor do laboratório deverá estabelecer normas e procedimentos pelos quais só serão admitidas no laboratório ou nas salas dos animais pessoas que já tiverem recebido informações sobre o potencial de risco, que atendam todos os requisitos para a entrada no mesmo (por exemplo, imunização) e que obedeçam a todas as regras para entrada e saída no laboratório.

4. Quando materiais infecciosos ou animais infectados estiverem presentes no laboratório ou no módulo de contenção, deve ser colocado em todas as portas de acesso do laboratório e das salas de animais um sinal de alerta contendo o símbolo universal de risco biológico e a identificação do agente, do nome do Pesquisador principal ou de outro responsável e endereço completo. O sinal de alerta também deverá indicar qualquer requisito especial necessário para a entrada no laboratório, tais como a necessidade de imunização, respiradores ou outras medidas de proteção individual.
5. O pessoal do laboratório deve ser apropriadamente imunizado ou examinado quanto aos agentes manipulados ou potencialmente presentes no laboratório (por exemplo, vacina para hepatite B ou teste cutâneo para tuberculose) e exames periódicos são recomendados.
6. Amostras sorológicas de toda a equipe e das pessoas expostas ao risco deverão ser coletadas e armazenadas adequadamente para futura referência. Amostras sorológicas adicionais poderão ser periodicamente coletadas, dependendo dos agentes manipulados ou do funcionamento do laboratório.
7. Um manual de biossegurança específico para o laboratório deverá ser preparado e adotado pelo diretor do laboratório e os procedimentos de biossegurança devem ser incorporadas aos procedimentos operacionais padrão. Todo pessoal deve ser orientado sobre os riscos especiais devem ler e seguir as instruções sobre as práticas e procedimentos requeridos.
8. A equipe do laboratório e a equipe de apoio deverão receber treinamento adequado sobre os riscos potenciais associados ao trabalho desenvolvido, os cuidados necessários para evitar uma exposição perigosa ao agente infeccioso e sobre os procedimentos de avaliação da

exposição. A equipe do laboratório deverá freqüentar cursos de atualização anuais ou treinamento adicional quando necessário e também em caso de mudanças de normas e procedimentos.

9. Caberá ao diretor do laboratório assegurar que antes que o trabalho com os organismos designados para o Nível de Biossegurança 3 se inicie, toda a equipe do laboratório demonstre estar apto para as práticas e técnicas padrões de microbiologia e demonstrar habilidade também nas práticas e operações específicas do laboratório. Podendo estar incluído uma experiência anterior em manipulação de patógenos humanos ou culturas de células, ou um treinamento específico proporcionado pelo diretor do laboratório ou por outros peritos na área de manejo de práticas e técnicas microbiológicas seguras.
10. Deve-se tomar uma extrema precaução, quando objetos cortantes, incluindo seringas e agulhas, lâminas, pipetas, tubos capilares e bisturis forem manipulados.
  - a. Agulhas e seringas hipodérmicas ou outros instrumentos cortantes devem ficar restritos ao laboratório e usados somente quando não houver outra alternativa para inoculação parenteral, flebotomia ou aspiração de fluídos de animais de laboratório e de garrafas com diafragma. Recipientes plásticos devem ser substituídos por recipientes de vidro sempre que possível.
  - b. Devem ser usadas somente seringas com agulha fixa ou agulha e seringa em uma unidade descartável (por exemplo, quando a agulha é parte integrante da seringa) usada para injeção ou aspiração de materiais infecciosos. As agulhas descartáveis usadas não deverão ser dobradas, quebradas, reutilizadas, removidas das seringas ou manipuladas antes de serem desprezadas. Ao contrário, elas deverão ser cuidadosamente colocadas em um recipiente resistente a perfurações