

Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia

Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia

Brasília, outubro de 2001

© 2001

Edição original em inglês: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* – editado pelo CDC - Centro de Controle e Prevenção de Doenças / Estados Unidos e pelo Instituto Nacional de Saúde / Estados Unidos - 4ª edição – Maio de 1999 - HHS Publicação Nº (CDC) 93-8395

É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.

Revisão Técnica da Tradução:
Núcleo de Biossegurança/NuBio
Vice-Presidência de Tecnologia
Fundação Oswaldo Cruz
Endereço: Av. Brasil, 4036 - 7º andar - sala 716
Telefone: (21) 590-9122 R-257/258, Fax: (21) 590-9122
Cep: 21 040-961, Rio de Janeiro

Distribuição e informação:
Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública
Centro Nacional de Epidemiologia
Fundação Nacional de Saúde
Setor de Autarquias Sul Quadra 4, bloco N, 6º andar, sala 619
Telefones: (061) 314.65.50/6556
70058-902 - Brasília – DF

Impresso no Brasil / *Printed in Brazil*

FICHA CATALOGRÁFICA

Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia / editado por Jonathan Y. Richmond, Robert W. McKinney; organizado por Ana Rosa dos Santos, Maria Adelaide Millington, Mário Cesar Althoff. - Brasília : Ministério da Saúde : Fundação Nacional de Saúde, 2000.
290 p. il; 21,5x14 cm

Tradução de: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*

1. Laboratórios de saúde pública. I. Richmond, Jonathan Y. II. McKinney, Robert W. III. Santos, Ana Rosa. IV. Millington, Maria Adelaide. V. Althoff, Mário. VI. Ministério da Saúde. VII. Fundação Nacional de Saúde.

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 de conhecimentos básicos de biossegurança laboratorial, dos profissionais participantes do Programa Nacional de Capacitação em Biossegurança Laboratorial, que está sendo desenvolvido pelo Centro Nacional de Epidemiologia da Fundação Nacional de Saúde - CENEPI/FUNASA, e constituir um roteiro atualizado de condutas gerais de segurança para os profissionais que atuam na Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública.

Brasília/DF, Agosto de 2000

JARBAS BARBOSA DA SILVA JUNIOR
Diretor do CENEPI / FUNASA

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 de 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 o 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 e 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 utilizado como um código universal e genérico aplicável a todas as situações.

Desde a publicação da terceira edição do livro *Biossegurança 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 de 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 microorganismos 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 frequência, 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 laboratórios¹. Em 1941, Meyer e Eddie² publicaram uma pesquisa de 74 casos de brucelose associados a laboratório, ocorrido nos Estados Unidos, e concluíram que “a manipulação de culturas ou 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 Pike³, 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 Pike⁴, publicaram a segunda de uma série de pesquisas baseada em um questionário enviado a 5.000 laboratórios. Somente um terço dos 1.342 casos citados foram relatados na literatura. A Brucelose era a infecção mais frequentemente 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 72% 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 1965⁵, quando houve um acréscimo de 641 novos casos ou de casos que não havia sido relatados anteriormente. Em 1976⁶, 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 1967⁷, 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, Skinholj⁸ 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 Shannon⁹ 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 Skinholj¹⁰ 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 1973¹¹, nenhum caso secundário foi relatado nos membros da família ou em contatos comunitários. O Centro Nacional de Doença Animal relatou uma experiência¹² 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 hospital¹³. Três casos secundários de varíola foram relatados em dois surtos associados a laboratório na Inglaterra em 1973¹⁴ e 1978¹⁵. 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 agente¹⁶, um caso de uma pessoa que visitava o laboratório¹⁷ e dois casos de febre Q em contatos domiciliares de um rickettsiologista¹⁸ 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 indivíduo¹⁹. 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 1979²⁰, 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

Introdução

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*²¹ 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^{22, 23}, 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*²⁴. 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 Universais²⁵. 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*²⁶.

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*²⁷. 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*²⁸.

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)^{29, 30}. 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. 18th 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 16th 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*, 4th 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**, Nº. 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**, Nº 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 borrifos 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 freqüentemente 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

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)¹.

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*²) 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, proteção

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

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 as gotículas infecciosas e a auto-inoculação. 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 laboratórios 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 positivo. 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 recomendado 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”*^{3, 4} 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)⁵. 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)⁶.

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 Quarantine. 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.

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 consequências 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

localizado convenientemente, utilizado para recolhimento de objetos cortantes desprezados. Objetos cortantes não descartáveis deverão ser colocados em um recipiente cuja parede deverá ser bem resistente para o transporte até uma área para descontaminação, de preferência através de uma autoclave.

- c. Seringas que possuem um envoltório para a agulha, ou sistemas sem agulhas 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.
11. Todas as manipulações abertas que envolvam materiais infecciosos deverão ser conduzidas no interior de cabines de segurança biológica ou de outros dispositivos de contenção física dentro de um módulo de contenção. Nenhum trabalho onde tenhamos que abrir a pele para alcançarmos os vasos deverá ser conduzido em bancadas abertas. A limpeza deverá ser facilitada através do uso de toalhas absorventes com uma face de plástico voltada para baixo, recobrimo as superfícies de trabalho não perfuradas das cabines de segurança biológica.
12. O equipamento laboratorial e as superfícies de trabalho deverão ser descontaminadas rotineiramente com um desinfetante eficaz após a conclusão do trabalho com materiais infecciosos, especialmente no caso de derramamento, vazamentos ou outras contaminações por materiais infecciosos.

- a. Vazamentos de materiais infecciosos deverão ser descontaminados, contidos e limpos pela equipe de profissionais especializados ou por outras pessoas adequadamente treinadas e equipadas para trabalharem com material infeccioso concentrado. Os procedimentos para vazamento deverão ser desenvolvidos e notificados.
 - b. O equipamento contaminado deverá ser descontaminado antes de ser removido do laboratório para conserto, manutenção ou para ser embalado para transporte de acordo com os regulamentos locais, estaduais e federais aplicáveis.
- 13. As culturas, tecidos, amostras de fluídos corpóreos ou resíduos deverão ser colocados em um recipiente que evite um vazamento durante a coleta, manuseio, processamento, armazenamento, transporte ou embarque.
 - 14. Todos os dejetos contendo materiais contaminados (por exemplo, luvas, jalecos de laboratórios, etc.) em laboratório deverão ser descontaminados antes de serem desprezados ou reutilizados.
 - 15. Vazamentos e acidentes que resultem em exposições abertas dos materiais infecciosos aos organismos deverão ser imediatamente relatados ao diretor do laboratório. Avaliação médica adequada, vigilância e tratamento deverão ser proporcionados e registros por escrito deverão ser mantidos.
 - 16. Animais e plantas que não estiverem relacionados ao trabalho em desenvolvimento não deverão ser admitidos dentro do laboratório.

C. Equipamento de Segurança (Barreiras Primárias)

- 1. Roupas de proteção como jalecos com uma frente inteira, macacão ou uniforme de limpeza deverão ser usados pela

equipe quando estiver dentro do laboratório. A roupa de proteção não deverá ser usada fora do laboratório. Antes de ser lavada esta roupa deverá ser descontaminada e deverá ser trocada depois de contaminada.

2. Todos deverão usar luvas quando estiverem manuseando materiais infecciosos, animais infectados e equipamentos contaminados.
3. Recomenda-se a mudança freqüente das luvas acompanhada de lavagem das mãos. As luvas descartáveis não deverão ser reutilizadas.
4. Todas as manipulações de materiais infecciosos, necropsias de animais infectados, coleta de tecidos ou líquidos de animais infectados ou de ovos embrionados, etc., deverão ser conduzidas em uma cabine de segurança biológica de Classe II ou de Classe III (veja Apêndice A).
5. Quando um procedimento ou processo não puder ser conduzido dentro de uma cabine de segurança biológica devem ser utilizadas combinações apropriadas de equipamentos de proteção individual (por exemplo, respiradores, protetores faciais) com dispositivos de contenção física (por exemplo, centrífugas de segurança e frascos selados).
6. A proteção facial e o respirador deverão ser usados quando a equipe estiver dentro de salas contendo animais infectados.

D. Instalações do Laboratório (Barreiras Secundárias)

1. O laboratório deverá estar separado das áreas de trânsito irrestrito do prédio com acesso restrito. É exigido um sistema de dupla porta com sistema de intertravamento automático como requisito básico para entrada no laboratório a partir de corredores de acesso ou outras áreas contíguas. As

portas deverão conter fechaduras (Veja Apêndice F). Uma sala para a troca de roupas deverá ser incluída no laboratório.

2. Cada sala do laboratório deverá possuir uma pia para lavagem das mãos. A pia deverá ser acionada automaticamente sem o uso das mãos e estar localizada perto da porta de saída.
3. As superfícies das paredes internas, pisos e tetos das áreas, onde os agentes de NB-3 são manipulados, deverão ser construídas e mantidas de forma que facilitem a limpeza e a descontaminação. Toda a superfície deve ser selada e sem reentrâncias. As paredes, tetos e pisos deverão ser lisas, impermeáveis e resistentes a substâncias químicas e desinfetantes normalmente usados em laboratórios. Os pisos deverão ser monolíticos e anti - derrapante. O uso de revestimento de piso deverá ser levada em consideração. Orifícios ou aberturas nas superfícies de pisos, paredes e teto deverão ser selados. Dutos e espaços entre portas e esquadrias devem permitir o selamento para facilitar a descontaminação.
4. As bancadas deverão ser impermeáveis e resistentes ao calor moderado e aos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e solventes químicos utilizados para descontaminação de superfícies e equipamentos.
5. Os móveis do laboratório deverão suportar cargas e usos previstos com espaçamento suficiente entre as bancadas, cabines e equipamentos para permitir acesso fácil para a limpeza. As cadeiras e outros móveis utilizados em um laboratório deverão ser cobertos por uma material que não seja tecido e possa ser facilmente descontaminado.
6. Todas as janelas do laboratório deverão ser fechadas e lacradas.
7. Um método para descontaminação de todos os dejetos do laboratório deverá estar disponível para a equipe e utilizado

de preferência dentro do laboratório (por exemplo, autoclave, desinfecção química, incineração, ou outros métodos aprovados de descontaminação). Deve-se considerar os meios de descontaminação de equipamentos. Caso o lixo seja transportado para fora do laboratório, ele deverá ser adequadamente lacrado e não deverá ser transportado em corredores públicos.

8. Deverão existir cabines de segurança biológica em todos os laboratórios. Estas cabines deverão estar localizadas distantes de portas, de venezianas, do almoxarifado e de áreas do laboratório que possuam um grande movimento.
9. O laboratório deverá ter um sistema de ar independente, com ventilação unidirecional onde o fluxo de ar penetra no laboratório através da área de entrada. O sistema de ar deverá tirar o ar “contaminado” para fora do laboratório e jogar o ar de áreas “limpas” para dentro do mesmo. O ar de exaustão não deverá recircular em outras áreas do prédio. A filtração e outros tratamentos do ar liberado não são necessários, mas poderão ser utilizados dependendo das condições do local, dos agentes específicos manipulados e das condições de uso. O ar liberado deverá ser jogado fora de áreas ocupadas e de entradas de ar, ou deverá ser filtrado através de filtro HEPA (High Efficiency Particulated Air). A equipe do laboratório deverá verificar constantemente se o fluxo de ar (para dentro do laboratório) está funcionando de forma adequada. Recomenda-se que um monitor visual seja instalado para indicar e confirmar a entrada direcionada do ar para dentro do laboratório. Devemos considerar a instalação de um sistema de controle HVAC para evitar uma pressurização positiva contínua do laboratório. Alarmes audíveis também são recomendados para notificar a equipe de uma possível falha no sistema HVAC.
10. O ar exaurido de uma cabine de segurança biológica Classe II, filtrado pelo HEPA poderá recircular no interior do laboratório se a cabine for testada e certificada anualmente.

O ar exaurido das cabines de segurança biológica deve ser retirado diretamente para fora do ambiente de trabalho através do sistema de exaustão do edifício. As cabines deverão estar conectadas de maneira que evitem qualquer interferência no equilíbrio do ar das cabines ou do sistema de exaustão do edifício (por exemplo, uma abertura de ar entre o exaustor das cabines e o duto do exaustor). Quando as cabines de segurança biológica Classe III forem utilizados, estas deverão estar conectadas diretamente ao sistema de exaustores. Se as cabines de Classe III estiverem conectadas ao sistema de insuflação do ar, isto deverá ser feito de tal maneira que previna uma pressurização positiva das cabines (veja Apêndice A).

11. Centrífugas de fluxo contínuo ou outros equipamentos que possam produzir aerossóis deverão ser refrigeradas através de dispositivos que liberem o ar através de filtros HEPA antes de serem descarregados no do laboratório. Esses sistemas HEPA deverão ser testados anualmente. Uma outra alternativa seria jogar o ar de saída das cabines para fora, em locais distantes de áreas ocupadas ou das entradas de ar.
12. As linhas de vácuo deverão ser protegidas por sifões contendo desinfetantes líquidos e filtros HEPA, ou o equivalente. Os filtros deverão ser substituídos quando necessário. Uma alternativa é usar uma bomba a vácuo portátil (também adequadamente protegida com sifões e filtros).
13. Um lava olhos deve estar disponível no laboratório.
14. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e brilhos que possam ofuscar a visão.
15. O projeto da instalação e os procedimentos operacionais do Nível de Biossegurança 3 devem ser documentados. Os parâmetros operacionais e das instalações deverão ser

verificados quanto ao funcionamento ideal antes que o estabelecimento inicie suas atividades. As instalações deverão ser verificadas pelo menos uma vez ao ano.

16. Proteções adicionais ao meio ambiente (por exemplo, chuveiros para a equipe, filtros HEPA para filtração do ar exaurido, contenção de outras linhas de serviços e a descontaminação dos efluentes) deverá ser considerada em conformidade com as recomendações para manipulação dos agentes, com as normas de avaliação de risco, condições do local ou outras normas locais, estaduais ou federais aplicáveis.

Nível de Biossegurança 4 (NB-4)

O **Nível de Biossegurança 4** é indicado para o trabalho que envolve agentes exóticos e perigosos que exponham o indivíduo a um alto risco de contaminação de infecções que podem ser fatais, além de apresentarem um potencial relevado de transmissão por aerossóis. Os agentes com uma relação antigênica próxima ou idêntica aos dos agentes incluídos no Nível de Biossegurança 4 deverão ser manipulados neste nível até que se consigam dados suficientes para confirmação do trabalho neste nível ou para o trabalho em um nível inferior. A equipe do laboratório deverá ter um treinamento específico e completo direcionado para a manipulação de agentes infecciosos extremamente perigosos e deverá ser capaz de entender as funções da contenção primária e secundária, das práticas padrões específicas, do equipamento de contenção e das características do planejamento do laboratório. Os trabalhadores deverão ser supervisionados por cientistas competentes, treinados e com vasta experiência no manuseio destes agentes. O acesso ao laboratório deverá ser rigorosamente controlado pelo diretor. A instalação deverá ser em um edifício separado ou em uma área controlada dentro do edifício, que seja totalmente isolada de todas as outras. Um manual de operações específico para as instalações deverá ser preparado ou adotado.

Dentro do ambiente de trabalho, todas as atividades deverão permanecer restritas às cabines de segurança biológica Classe III

ou de Classe II usadas com roupas de proteção com pressão positiva, ventiladas por sistema de suporte de vida. O laboratório do Nível de Biossegurança 4 deverá possuir características específicas quanto ao projeto e a engenharia para prevenção da disseminação de microorganismos dentro do meio ambiente.

As seguintes práticas de segurança padrões e especiais e as instalações se aplicam aos agentes pertencentes ao Nível de Biossegurança 4:

A. *Práticas Padrões de Microbiologia*

1. O acesso ao laboratório deverá ser limitado pelo diretor, quando experimentos estiverem sendo realizados.
2. A norma para uma manipulação segura de objetos perfurocortantes deverão ser instituídas.
3. Todos os procedimentos deverão ser cuidadosamente realizados para minimizar a produção de aerossóis.
4. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas pelo menos uma vez ao dia e depois de qualquer vazamento de material viável.
5. Todo o lixo deverá ser descontaminado antes de ser desprezado através de um método de descontaminação aprovado tal qual a autoclavação.
6. Deve-se providenciar um programa rotineiro de controle de insetos e roedores (ver Apêndice G).

B. *Práticas Especiais*

1. Somente as pessoas envolvidas na programação e no suporte ao programa a ser desenvolvido e cujas presenças forem solicitadas no local ou nas salas do laboratório deverão ter permissão para entrada no local. As pessoas

que estiverem imunocomprometidas ou imunodeprimidas estarão correndo um alto risco de adquirirem infecções. Portanto, estas pessoas que forem susceptíveis ou as pessoas em que uma eventual contaminação possa provocar sérios danos, como no caso de crianças ou gestantes, não receberão permissão para entrarem no laboratório ou nas salas de animais.

O *supervisor* do laboratório deverá ter a responsabilidade final no controle do acesso. Por questão de segurança, o acesso ao laboratório deverá ser bloqueado por portas hermeticamente fechadas. A entrada deverá ser controlada pelo diretor do laboratório, por outra pessoa responsável pelo controle dos riscos biológicos ou por outra pessoa responsável pela segurança física da instalação. Antes de entrar no laboratório, as pessoas deverão ser avisadas sobre o risco potencial e deverão ser instruídas sobre as medidas apropriadas de segurança. As pessoas autorizadas deverão cumprir com rigor as instruções dadas e todos os outros procedimentos aplicáveis para a entrada e saída do laboratório. Deverá haver um registro, por escrito, de entrada e saída de pessoal, com data, horário e assinaturas.

2. Quando materiais infecciosos ou animais infectados estiverem presentes no laboratório, 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. O sinal de alerta deverá identificar o agente, relacionar o nome do diretor do laboratório ou outra pessoa responsável e também indicar qualquer requisito especial necessário para a entrada na área (por exemplo, necessidade de imunização, respiradores ou outras medidas de proteção individual).
3. O *diretor do laboratório* deverá ser o responsável por assegurar que, antes de iniciar o trabalho com organismos pertencentes ao Nível de Biossegurança 4, toda a equipe

demonstre uma alta competência em relação às práticas e técnicas microbiológicas e em práticas e operações especiais específicas do laboratório. Isto poderá incluir uma experiência anterior no manuseio de patógenos humanos ou culturas de células, ou um treinamento específico fornecido pelo diretor do laboratório ou por outro perito com experiência nestas técnicas e práticas microbiológicas singulares.

4. A equipe do laboratório deverá receber imunizações para os agentes manipulados ou potencialmente presentes no laboratório.
5. Amostras sorológicas de toda a equipe do laboratório e de outras pessoas expostas a um elevado risco deverão ser coletadas e armazenadas. Amostras sorológicas adicionais deverão ser periodicamente coletadas, dependendo dos agentes manipulados ou do funcionamento do laboratório. Ao estabelecer um programa de vigilância sorológica deve-se considerar a disponibilidade dos métodos para a avaliação do anticorpo do(s) agente(s) em questão. O programa para o teste das amostras sorológicas deverá ter um intervalo a cada coleta e o responsável pelo projeto deverá comunicar os resultados aos participantes.
6. Um manual sobre biossegurança deverá ser preparado ou adotado. A equipe deverá ser avisada quanto aos perigos e riscos especiais e deverão ler e seguir as instruções sobre as práticas e procedimentos.
7. A equipe do laboratório e a equipe de apoio deverão receber treinamento adequado sobre os perigos e riscos associados ao trabalho, as precauções necessárias para a prevenção de exposições e os procedimentos de avaliação da exposição. A equipe também deverá participar de cursos de atualização anual ou treinamento adicional quando necessário em caso de mudanças nos procedimentos.
8. A entrada e saída de pessoal do laboratório devem ocorrer somente após uso do chuveiro e troca de roupas. Os

funcionários deverão usar o chuveiro de descontaminação a cada saída do laboratório. A entrada e saída de pessoal por antecâmara pressurizada somente deverão ocorrer em situações de emergência.

9. Para adentrar ao laboratório, a roupa comum, deverá ser trocada (nos vestiários externos) por roupa protetora completa e descartável. Todas as roupas usadas no laboratório, incluindo roupas de baixo, calças e camisas ou macacões, sapatos e luvas deverão ser fornecidas e utilizadas por todas as pessoas que entrarem no laboratório. Ao deixar o local e antes de se dirigirem para as áreas de banho, as pessoas deverão retirar a roupa usada no laboratório no vestiário interno. As roupas sujas deverão passar pela autoclave antes de serem lavadas.
10. Estoques e materiais necessários para o laboratório deverão ser descontaminados em autoclave de dupla porta, câmara de fumigação ou sistema de antecâmara pressurizada antes de serem utilizados. Após garantir a segurança das portas externas, a equipe dentro do laboratório deverá retirar os materiais abrindo as portas interiores da autoclave, da câmara de compressão ou da câmara de fumigação. Estas portas deverão ser trancadas depois da retirada dos materiais.
11. Deve-se sempre tomar extrema precaução com qualquer objeto perfurocortante contaminado, como seringas e agulhas, lâminas, pipetas, tubos capilares e bisturi.
 - a. Agulhas e seringas hipodérmicas ou outros instrumentos cortantes são restritos ao laboratório e usados somente quando não houver outra alternativa para inoculação parenteral, flebotomia ou aspiração de fluidos 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 agulhas fixas ou agulha e seringa em uma unidade única e 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 acondicionadas em um recipiente resistente a perfurações localizado convenientemente, utilizado para recolhimento de objetos cortantes desprezados. Objetos cortantes não descartáveis deverão ser acondicionados em um recipiente cuja parede deverá ser bem resistente para o transporte até uma 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.
12. O material biológico viável ou intacto, a ser removido de cabines Classe III ou do laboratório de Nível de Biossegurança, deverá ser acondicionado em recipiente de contenção primária lacrado e inquebrável. Este, por sua vez, deverá ser acondicionado em um segundo recipiente também selado e inquebrável que deverá passar por um tanque de imersão contendo desinfetante, uma câmara de fumigação ou por uma câmara de compressão planejada com este propósito.

13. Nenhum material, com exceção do material biológico que deverá permanecer intacto ou viável poderá ser removido de um laboratório de Nível de Biossegurança 4, sem antes ter sido autoclavado ou descontaminado. Equipamentos ou materiais que não resistam a temperaturas elevadas ou ao vapor deverão ser descontaminados utilizando-se gases ou vapor em uma câmara de compressão ou em uma câmara específica para este fim.
14. O equipamento do laboratório deverá ser descontaminado rotineiramente após o trabalho com materiais infecciosos e especialmente depois de vazamentos, gotejamentos ou outras contaminações por material infeccioso. O equipamento deverá ser descontaminado antes de ser enviado para conserto ou manutenção.
15. Vazamentos de materiais infecciosos deverão ser refreados e limpos por profissionais especializados ou outros propriamente treinados e equipados para o trabalho com material infeccioso concentrado. Um procedimento para vazamento deverá ser desenvolvido e adotado pelo laboratório.
16. Um sistema de notificação de acidentes e exposições laboratoriais, absenteísmo de empregados e doenças associadas ao laboratório deverá ser organizado, bem como um sistema de vigilância médica. Relatos por escrito deverão ser preparados e mantidos. Deve-se ainda, prever uma unidade de quarentena, isolamento e cuidados médicos para o pessoal contaminado por doenças conhecidas ou potencialmente associado a laboratório.
17. Todos os materiais não relacionados ao experimento que estiver sendo realizado no momento (por exemplo, plantas, animais e roupas) não deverão ser permitidos no laboratório.

C. *Equipamento de Segurança (Barreiras Primárias)*

Todos os procedimentos dentro do laboratório deverão ser conduzidos em cabines de segurança biológica Classe III ou cabines de Classe II usadas em associação com roupas de proteção pessoal com pressão positiva e ventiladas por sistema de suporte de vida.

D. *Instalação do Laboratório (Barreiras Secundárias)*

Existem dois modelos de laboratório de Nível de Biossegurança 4: (A) é o Laboratório Cabine onde todas as manipulações do agente são realizadas em uma cabine de segurança biológica Classe III, e o (B) que é o “Laboratório Escafandro” onde a equipe usa uma roupa de proteção. Os laboratórios de Nível de Biossegurança 4 podem se basear em um dos modelos ou em uma combinação dos dois modelos na construção de um só laboratório. Se a combinação for utilizada, cada tipo deverá atender todos os requisitos identificados para o mesmo.

(A) *Laboratório Cabine (veja Apêndice A)*

1. O laboratório de Biossegurança 4 deverá estar separado do prédio ou em uma área claramente demarcada e isolada dentro de um prédio. As salas do laboratório deverão ser planejadas para assegurar a passagem através de no mínimo duas portas antes de entrarmos nas salas contendo as cabines de segurança biológica Classe III (sala das cabines). Devem estar previstas câmaras de entradas e saídas de pessoal, para troca de roupas, separadas por chuveiro. Deve ser previsto, ainda, um sistema de autoclave de duas portas, um tanque de imersão contendo desinfetante, uma câmara de fumigação ou uma ante-sala ventilada para descontaminação na barreira de contenção para o fluxo de materiais, estoques ou equipamentos que não passam no interior dos pelos vestiários para chegarem até a sala.

2. Inspeções diárias de todos os parâmetros de contenção (por exemplo, fluxo de ar direcionado) e sistemas de suporte de vida deverão estar concluídos antes que o trabalho se inicie dentro do laboratório para assegurarmos que este esteja funcionando de acordo com os parâmetros de operação.
3. As paredes, os pisos e tetos da sala contendo as cabines e do vestiário interno deverão ser construídas de maneira que formem uma concha interna selada que facilitará a fumigação e que evitará a entrada e saída de animais e insetos. Os pisos deverão ser totalmente selados e revestidos. As superfícies internas desta concha deverão ser resistentes a líquidos e produtos químicos para facilitar a limpeza e a descontaminação da área. Aberturas ao redor das portas das salas de cabine e dentro dos vestiários internos deverão ser minimizadas e facilmente seladas para facilitar a descontaminação. O sistema de drenagem do piso da sala da cabine deverá estar conectado diretamente ao sistema de descontaminação do dejetos líquido. O sistema de esgoto e outra linha de serviço deverão conter filtros HEPA e proteções contra animais nocivos, parasitas, etc.
4. As bancadas deverão possuir superfícies seladas e sem reentrâncias que 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 dos equipamentos.
5. Os móveis do laboratório deverão ter uma construção simples e deverão suportar cargas e usos previstos. O espaçamento entre as bancadas, as cabines e armários e o equipamento deverá ser suficiente para facilitar a limpeza e a descontaminação. As cadeiras e outros móveis usados em um laboratório deverão ser cobertos por um material que não seja tecido e que possa ser facilmente descontaminado.

6. Pias com acionamento automático ou que sejam acionadas sem uso das mãos, deverão ser construídas próximas à porta da sala da cabine e perto dos vestiários internos e externos.
7. Se existir um sistema central de vácuo, este não deverá servir as áreas fora da sala das cabines. Filtros HEPA em série deverão ser colocados da forma mais prática possível em cada ponto onde será utilizado ou próximo da válvula de serviço. Os filtros deverão ser instalados de forma a permitir a descontaminação e a substituição local dos mesmos. Outras linhas utilitárias, como a de gás e líquidos, que convergem para a sala das cabines deverão ser protegidas por dispositivos que evitem o retorno do fluxo.
8. Se houver bebedouros de água, eles deverão ser acionados automaticamente ou através dos pés e deverão estar localizados nos corredores do local, fora do laboratório. O serviço de abastecimento da água dos bebedouros deverá ser isolado do sistema de distribuição e abastecimento de água das áreas laboratoriais e deverá ser equipado com um dispositivo que previna o retorno do fluxo.
9. As portas de acesso ao laboratório deverão possuir trancas e fechamento automático.
10. Todas as janelas deverão ser inquebráveis e seladas.
11. Todos os laboratórios deverão possuir autoclaves de duas portas para a descontaminação de materiais que passem pelas cabines de segurança biológica Classe III em pelas salas com cabines. As portas das autoclaves que se abrem para fora da barreira de contenção deverão ser seladas às paredes da barreira de contenção. Estas portas deverão ser controladas automaticamente de forma que a porta externa da autoclave somente possa ser aberta depois que o ciclo de “esterilização” da autoclave tenha sido concluído.
12. Todos os laboratórios deverão possuir tanques de imersão contendo desinfetantes, câmaras de fumigação ou métodos

equivalentes de descontaminação de forma que os materiais e equipamentos que não possam ser descontaminados em uma autoclave possam ser removidos de maneira segura das cabines de segurança biológica Classe III e das salas com as cabines.

13. Efluentes líquidos vindos da parte suja dos vestiários internos (incluindo os vasos sanitários), das pias das salas das cabines, do sistema de esgoto (se utilizado), das câmaras da autoclave e de outras fontes dentro da sala das cabines deverão ser descontaminados através de um método de descontaminação comprovado, de preferência através de um tratamento por calor – antes de serem jogados no esgoto sanitário. Os efluentes vindo de chuveiros e vasos sanitários limpos deverão ser jogados no esgoto sem antes passar por um tratamento. O processo usado para a descontaminação de dejetos líquidos deverá ser validado fisicamente e biologicamente.
14. Todos os laboratórios deverão possuir um sistema de ventilação sem uma re-circulação. Os componentes de abastecimento e de liberação do sistema deverão estar equilibrados para assegurar um fluxo de ar direcionado da área de menos risco para área(s) de maior risco potencial. O sistema de ar no laboratório deverá prever uma pressão diferencial e fluxo unidirecionado de modo a assegurar diferencial de pressão que não permita a saída do agente de risco. O fluxo de ar direcionado/pressão diferencial deverá ser monitorado e deverá conter um alarme que acuse qualquer irregularidade no sistema. Um dispositivo visual que monitorize a pressão de maneira apropriada, que indique e confirme o diferencial da pressão da sala das cabines deverá ser providenciado e deverá ser colocado na entrada do vestiário. O fluxo de ar de entrada e saída também deverá ser monitorado, e um sistema de controle HEPA deverá existir para evitar uma contínua pressurização positiva do laboratório. A cabine de Classe III deverá ser diretamente conectada ao sistema de exaustores. Se a cabine de Classe III estiver conectada ao sistema de

abastecimento, isto deverá ser feito de forma que previna uma pressurização positiva da cabine.

15. O ar que entra e sai da sala das cabines, do vestiário interno e da ante-sala deverá passar pelo(s) filtro(s) HEPA. O ar deverá ser liberado longe dos espaços ocupados e das entradas de ar. O(s) filtro(s) deverá(ão) estar localizado(s) de maneira mais próxima possível da fonte a fim de minimizar a quantidade de canos potencialmente contaminados. Todos os filtros HEPA deverão ser testados e certificados anualmente. O alojamento dos filtros HEPA deverá ser projetado de maneira que permita uma descontaminação *in situ* do filtro antes deste ser removido, ou antes, da remoção do filtro em um recipiente selado e de contenção de gás para subsequente descontaminação e/ou destruição através da incineração. O projeto do abrigo do filtro HEPA deverá facilitar a validação da instalação do filtro. O uso de filtros HEPA pré-certificado pode ser vantajoso. A vida média de filtros HEPA de exaustão pode ser prolongada através de uma pré-filtração adequada do ar insuflado.
16. O projeto e procedimentos operacionais de um local de Nível de Biossegurança 4 deverão ser documentados. O local deverá ser testado em função do projeto e dos parâmetros operacionais para ser verificado se realmente atendem a todos os critérios antes que comecem a funcionar. Os locais deverão ser checados novamente pelo menos uma vez ao ano e os procedimentos neles existentes deverão ser modificados de acordo com a experiência operacional.
17. Sistemas de comunicações apropriados deverão ser instalados entre o laboratório e o exterior (por exemplo, fax, computador, interfone).

(B) Laboratório “Escafandro”

1. A instalação de Nível de Biossegurança 4 consiste de um edifício separado ou de uma área claramente demarcada e

isolada dentro do edifício. As salas deverão ser construídas de forma que assegurem a passagem através dos vestiários e da área de descontaminação antes da entrada na(s) sala(s) onde o trabalho com os agentes do NB-4 (área do escafandro). Vestiários interno e externo, separados por um chuveiro deverão ser construídos para a entrada e saída da equipe que trabalha no laboratório escafandro. Uma área para o uso do escafandro, projetada especialmente para o local, também será construída para proporcionar uma proteção pessoal equivalente àquela proporcionada pelas cabines de segurança biológica Classe III. As pessoas que entrarem nesta área deverão vestir uma roupa de peça única de pressão positiva e que seja ventilada por um sistema de suporte de vida protegido pelo sistema de filtros HEPA. O sistema de suporte de vida inclui compressores de respiração de ar, alarmes e tanques de ar de reforço de emergência. A entrada nesta área deverá ser feita através de uma câmara de compressão adaptada com portas herméticas. Um chuveiro químico para descontaminação da superfície da roupa antes que o trabalhador saia da área deverá ser instalado. Um gerador de luz, automaticamente acionado em casos de emergência, será instalado para evitar que os sistemas de suporte de vida, os alarmes, a iluminação, os controles de entrada e saída e as cabines de segurança parem de funcionar. A pressão do ar dentro da roupa deverá ser positiva em relação à área ao redor do laboratório. Já a pressão do ar dentro da área da roupa deverá ser menor que aquela das áreas adjacentes. A iluminação e os sistemas de comunicação de emergência deverão ser instalados. Todas as aberturas e fendas dentro da concha interna da sala da roupa de proteção, do chuveiro químico e das fechaduras deverão ser seladas.

2. Uma inspeção diária de todos os parâmetros de contenção (por exemplo, o fluxo de ar direcionado, chuveiros químicos) e dos sistemas de suporte de vida deverão estar concluídos antes que o trabalho no laboratório se inicie para garantir que o laboratório esteja operando de acordo com os parâmetros operacionais.

3. Uma autoclave com duas portas deverá ser instalada na barreira de contenção para descontaminação dos dejetos a serem removidos da área do laboratório escafandro. A porta da autoclave, que se abre para a área externa da sala escafandro, deverá ser automaticamente controlada de forma que a porta exterior só possa ser aberta depois que o ciclo de “esterilização” esteja concluído. Um tanque de imersão, uma câmara de fumigação, ou câmara de compressão deverá ser colocado no local para permitir a passagem de materiais, suprimentos ou equipamentos que serão trazidos para o interior do laboratório escafandro, através dos vestiários. Estes dispositivos podem também ser utilizados para a remoção de materiais, suprimentos ou equipamentos que não possam ser descontaminados em uma autoclave.
4. As paredes, pisos e tetos do laboratório escafandro deverão ser construídos de maneira que formem uma concha interna selada, que facilite a fumigação e que evite a entrada de animais e insetos (veja Apêndice G). As superfícies internas desta concha deverão ser resistentes a líquidos e soluções químicas, facilitando a limpeza e a descontaminação da área. Todas as aberturas e fendas nestas estruturas e superfícies deverão ser seladas. Qualquer sistema de drenagem do piso deverá conter sifões cheios de desinfetante químico de eficácia comprovada contra o agente alvo e deverão estar conectados diretamente ao sistema de descontaminação de dejetos líquidos. O esgoto e outras linhas de serviço deverão conter filtros HEPA.
5. Acessórios internos como dutos de ventilação, sistemas de suprimento de luz e água deverão ser instalados de maneira que minimizem a área da superfície horizontal.
6. As bancadas deverão possuir superfícies seladas e sem emendas que deverão ser impermeáveis e resistentes ao calor moderado e aos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e solventes químicos utilizados na descontaminação das superfícies de trabalho e nos equipamentos.

7. Os móveis do laboratório deverão ter uma construção simples e deverão suportar cargas e usos previstos. Recomenda-se o uso de materiais não porosos. Os espaços entre os bancadas, as cabines e armários e o equipamento deverão ser suficientes para facilitar a limpeza e a descontaminação. As cadeiras e outros móveis do laboratório deverão ser cobertos por um material que não seja tecido e que possa ser facilmente descontaminado.
8. Pias com funcionamento automático ou que sejam acionadas sem o uso das mãos, deverão ser construídas próximas à área em conjunto com a roupa de proteção. A construção de pias para a lavagem das mãos nos vestiários internos e externos deverá ser considerado básico para a avaliação de risco.
9. Se existir um sistema central de vácuo, este não servirá as áreas fora do laboratório conjunto com a roupa de proteção. Os filtros HEPA enfileirados deverão ser colocados da forma mais prática possível em cada ponto onde será utilizado ou próximo da válvula de serviço. Os filtros deverão ser instalados para que permitam a descontaminação e a substituição local dos mesmos. Outros serviços de gás e líquidos para estas áreas conjuntas deverão ser protegidas através de dispositivos que evitem o retorno do fluxo.
10. As portas de acesso ao laboratório deverão possuir trancas e fechamento automático. As portas internas e externas ao chuveiro químico e as internas e externas às entradas de ar deverão ser trancadas para evitar que ambas as portas sejam abertas simultaneamente.
11. Todas as janelas deverão ser resistentes e deverão ser seladas.
12. Efluentes líquidos provenientes das pias, dos canos de esgoto do piso (se utilizado), das câmaras da autoclave e

de outras fontes dentro da barreira de contenção deverão ser descontaminados através de um método de descontaminação comprovado, de preferência através de um tratamento com calor – antes de serem jogados no esgoto sanitário. Os efluentes vindo de chuveiros e vasos sanitários limpos deverão ser jogados no esgoto sem antes passar por um tratamento. O processo usado para a descontaminação de dejetos líquidos deverá ser validado fisicamente e biologicamente.

13. Todos os laboratórios deverão possuir um sistema de ventilação sem re-circulação. Os componentes de insuflação e exaustão de ar do sistema deverão estar equilibrados para assegurar um fluxo de ar direcionado da área de menos risco para área(s) de maior perigo. Recomendamos o uso de ventiladores para o abastecimento e para a liberação de ar. O fluxo de ar direcionado/pressão diferencial entre as áreas adjacentes deverá ser monitorado e deverá conter um alarme para indicar qualquer irregularidade no sistema. Um dispositivo visual que monitore a pressão de maneira apropriada, que indique e confirme o diferencial da pressão da sala das cabines deverá ser providenciado e deverá ser colocado na entrada do vestiário. O fluxo de ar nos componentes de abastecimento e escape também deverá ser monitorado, e um sistema de controle HVAC deverá ser instalado para evitar uma pressurização positiva do laboratório.
14. O ar que abastece a área conjunta, o chuveiro químico e a câmara de compressão deverão passar através do filtro HEPA. O ar que sai desta área conjunta, do chuveiro químico e das câmaras de compressão e de descontaminação deverá passar por dois filtros HEPA em série antes de ser jogado para fora do laboratório. O ar deverá ser lançado distante dos espaços ocupados e das entradas de ar. O(s) filtro(s) HEPA deverão estar localizados de maneira mais próxima possível da fonte a fim de minimizar a extensão dos canos potencialmente contaminados. Todos os filtros

HEPA deverão ser testados e certificados anualmente. O abrigo para os filtros HEPA deverá ser projetado de maneira que permita uma descontaminação *in situ* do filtro antes deste ser removido. Uma outra alternativa seria a remoção do filtro em um recipiente primário e hermético ao gás para subsequente descontaminação e/ou destruição através da incineração. O projeto do abrigo do filtro HEPA deverá facilitar a validação da instalação do filtro. O uso de filtros HEPA pré-certificados pode ser vantajoso. A vida média de filtros HEPA exaustores pode ser prolongada através de uma pré-filtração adequada do ar fornecido.

15. O posicionamento dos pontos de entrada e saída de ar deverá ser de forma que os espaços de ar estáticos dentro do laboratório escafandro sejam minimizados.
16. O ar de saída tratado e o liberado das cabines de segurança biológica Classe II, localizadas no local onde os trabalhadores vestem a roupa de pressão positiva, poderá ser jogado para dentro do ambiente de trabalho ou para o exterior através do sistema de exaustores do local. Se o ar tratado for liberado para fora através dos exaustores, este deverá estar diretamente conectado a este sistema, de maneira que evite qualquer interferência no equilíbrio do ar das cabines ou do sistema de exaustores.
17. O projeto e procedimentos operacionais de um local de Nível de Biossegurança 4 deverão ser documentados. O local deverá ser testado em função do projeto e dos parâmetros operacionais para que se verifique se realmente atendem a todas as necessidades antes que comecem a funcionar. Os locais deverão ser checados novamente uma vez ao ano e os procedimentos neles existentes deverão ser modificados de acordo com a experiência operacional.

18. Sistemas de comunicações apropriados deverão ser instalados entre o laboratório e o exterior (por exemplo, fax, computador, interfone).

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

NB	AGENTES	PRÁTICAS	EQUIPAMENTO DE SEGURANÇA (Barreiras Primárias)	INSTALAÇÕES (Barreiras Secundárias)
1	Que não são conhecidos por causarem doenças em adultos saudáveis.	Práticas Padrões de microbiologia	Não são necessários	Bancadas abertas com pias próximas.
2	Associados com doenças humanas, risco = lesão percutânea, ingestão, exposição da membrana mucosa.	Prática de NB-1 mais: <ul style="list-style-type: none"> · Acesso limitado · Avisos de Risco Biológico · Precauções com objetos perfurocortantes. · Manual de Biossegurança que define qualquer descontaminação de dejetos ou normas de vigilância médica. 	Barreiras Primárias= Cabines de Classe I ou II ou outros dispositivos de contenção física usados para todas as manipulações de agentes que provoquem aerossóis ou vazamento de materiais infecciosos; Procedimentos Especiais como o uso de aventais, luvas, proteção para o rosto como necessário.	NB-1 mais: Autoclave disponível.
3	Agentes exóticos com potencial para transmissão via aerosol; a doença pode ter consequências sérias ou até fatais.	Práticas de NB-2 mais: <ul style="list-style-type: none"> · Acesso controlado · Descontaminação de todo o lixo · Descontaminação da roupa usada no lab. antes de ser lavada. · Amostra sorológica 	Barreiras Primárias = Cabines de Classe I ou II ou outros dispositivos de contenção usados para todas as manipulações abertas de agentes; Uso de aventais, luvas, proteção respiratória quando necessária.	NB-2 mais: <ul style="list-style-type: none"> · Separação física dos corredores de acesso. · Portas de acesso dupla com fechamento automático. · Ar de exaustão não recirculante. · Fluxo de ar negativo dentro do laboratório.
4	Agentes exóticos ou perigosos que impõem um alto risco de doenças que ameaçam a vida, infecções laboratoriais transmitidas via aerosol; ou relacionadas a agentes com risco desconhecido de transmissão.	NB-3 mais: <ul style="list-style-type: none"> · Mudança de roupa antes de entrar. · Banho de ducha na saída. · Todo o material descontaminado na saída das instalações. 	Barreiras Primárias = Todos os procedimentos conduzidos em cabines de Classe III ou Classe I ou II <u>juntamente com</u> macacão de pressão positiva com suprimento de ar.	NB-3 mais: <ul style="list-style-type: none"> · Edifício separado ou área isolada. · Sistemas de abastecimento e escape, a vácuo, e de descontaminação. · Outros requisitos sublinhados no texto.

SEÇÃO IV

Crítérios para os Níveis de Biossegurança para Animais Vertebrados

Caso sejam usados animais experimentais, a administração da instituição deverá fornecer instalações adequadas, equipe para cuidar dos animais e estabelecer práticas que assegurem níveis apropriados para a qualidade, segurança e cuidados para com o meio ambiente. As instalações para animais de laboratório consistem de um tipo especial de laboratório. Como princípio geral, os níveis de biossegurança (as instalações laboratoriais, as práticas e os requisitos operacionais) indicado para o trabalho envolvendo agentes infecciosos *in vivo* e *in vitro* são similares.

Porém, é bom lembrarmos que as salas onde se encontram os animais podem apresentar alguns problemas singulares. No laboratório de microbiologia, as condições de risco são provocadas pela equipe do laboratório ou pelo equipamento usado por eles. Nas salas dos animais, as atividades dos próprios animais podem apresentar novos riscos. Os animais podem produzir aerossóis, morder e arranhar e podem estar infectados por uma doença zoonótica.

Essas recomendações presumem que as dependências de um laboratório de experimentação animal, as práticas operacionais e a qualidade do tratamento ao animal atendam a padrões e regulamentos aplicáveis (por exemplo, *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*¹ e *Laboratory Animal Welfare Regulations*²) e que espécies adequadas tenham sido selecionadas para os experimentos animais. Além deste aspecto, a organização deverá ter um plano de segurança e de saúde ocupacional. A publicação recente do Institute of Medicine, Occupational Health and Safety Care of Research Animals³, auxilia muito.

O ideal seria que as dependências para animais de laboratórios usados nos estudos de doenças infecciosas ou não infecciosas possuíssem um isolamento físico de outros locais, onde são realizadas atividades tais como a reprodução animal e a

quarentena; de laboratórios clínicos e especialmente de dependências onde pacientes são atendidos. No momento da elaboração do projeto das instalações, deve-se considerar o fluxo de pessoas no local, de forma que minimize o risco de infecções.

As recomendações, detalhadas abaixo, descrevem quatro combinações de práticas, equipamentos de segurança e dependências para experimentos com animais infectados por agentes que provocam, ou que possam provocar infecções humanas. Essas quatro combinações, designadas de Níveis de Biossegurança para Animais (NBA) 1-4, proporcionam níveis crescentes de proteção ao pessoal e ao meio ambiente, e são recomendadas como padrões mínimos a serem seguidos em atividades que envolvam animais de laboratórios infectados. Os quatro níveis descrevem as dependências para animais e práticas aplicáveis para o trabalho com animais infectados por microorganismos pertencentes aos Níveis de Biossegurança 1-4, respectivamente.

Os pesquisadores inexperientes quanto   condução destes tipos de procedimentos deverão procurar ajuda com pessoas que possuam experiência com esse trabalho especial para que possam realiz -lo com segurança.

Padrões para as instalações e práticas de manuseio de vetores e hospedeiros invertebrados não estão incluídos nos padrões de trabalhos para animais de laboratório comumente utilizados. O livro *Laboratory Safety for Arboviruses and Certain Other Viruses of Vertebrates*⁴, preparado pelo Subcomit  de Segurança de Laboratórios de Arbovírus (SALS) do Comitê Americano de Vírus de Artrópodes, serve como uma referência útil no planejamento e operação das dependências onde serão realizados trabalhos com artrópodes.

Nível de Biossegurança Animal 1 (NBA-1)

O Nível de Biossegurança Animal 1 (NBA-1)   recomendado para o trabalho que envolva agentes bem caracterizados, que não

sejam conhecidos por provocarem doenças em humanos adultos saudáveis e que apresentem um risco potencial mínimo para a equipe laboratorial e para o meio ambiente.

A. *Práticas Padrões*

1. O chefe do laboratório de experimentação animal deverá estabelecer normas, procedimentos e protocolos para situações de emergência. Cada projeto deverá ser submetido a uma pré-aprovação pelo Comitê Institucional de Tratamento e Uso de Animais (IACUC) e pelo Comitê Institucional de Biossegurança (IBC). Quaisquer práticas especiais deverão ser aprovadas neste momento.
2. Somente as pessoas que trabalham ou que fazem parte da equipe de apoio deverão receber autorização para entrarem no local. Antes de entrarem, essas pessoas deverão ser avisadas quanto aos riscos biológicos potenciais e deverão receber instruções sobre os procedimentos de segurança apropriados.
3. Um programa de vigilância médica adequado deverá ser instituído.
4. Um manual de segurança deverá ser preparado ou adotado. A equipe deverá ser avisada sobre os riscos especiais, deverão ler e seguir as instruções sobre as práticas e os procedimentos.
5. É proibido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato e aplicar cosméticos. Os alimentos para uso humano deverão ser guardados somente em áreas designadas para esse fim, e não serão permitidos nas salas de trabalho ou nas salas dos animais.
6. Todos os procedimentos deverão ser realizados com cuidado para minimizarmos a criação de aerossóis e borrifos.

7. As superfícies de trabalho deverão ser descontaminadas após o uso ou depois de qualquer derramamento de materiais viáveis.
8. Todos os rejeitos da sala de animais (incluindo tecidos, carcaças e o material das camas de animais contaminados) deverão ser transportados da sala dos animais em recipientes, rígidos, cobertos e a prova de vazamento para serem adequadamente desprezados de acordo com os requisitos locais ou institucionais aplicáveis. Recomenda-se a incineração.
9. Normas quanto ao manuseio seguro de objetos cortantes deverão ser instituídas.
10. A equipe deverá lavar as mãos após ter manuseado culturas e animais, depois da remoção das luvas e antes de saírem da sala dos animais.
11. Um aviso de risco biológico deverá ser colocado na entrada da sala de animais quando agentes infecciosos estiverem presentes no local. O aviso de risco deverá identificar o(s) agente(s) infeccioso(s) em uso, o nome e o número do telefone da pessoa responsável e indicar os requisitos especiais para a entrada na sala dos animais (por exemplo, necessidade de imunização e do uso de respiradores).
12. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle de insetos e roedores (veja Apêndice G).

B. *Práticas Especiais:* Nenhuma.

C. *Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias):*

1. Recomenda-se o uso de jalecos, aventais e/ou uniformes próprios nas dependências. Estes deverão permanecer no local e não deverão ser usados fora das dependências do laboratório de experimentação animal.

2. As pessoas que tiverem contato com primatas não-humanos deverão avaliar o risco de exposição das mucosas e usar uma proteção para os olhos e a face⁵.

D. Instalações (Barreiras Secundárias):

1. As dependências do laboratório de experimentação animal deverão estar separadas das áreas do edifício abertas ao público.
2. As portas externas do laboratório deverão ser fechadas e trancadas automaticamente. As portas das salas dos animais deverão abrir para dentro, fechar automaticamente e serem mantidas fechadas quando os animais estiverem presentes. As portas internas da sala da ante-sala deverão abrir para fora ou deslizarem vertical ou horizontalmente.
3. As dependências deverão ser planejadas, construídas e mantidas de tal forma a facilitar a limpeza e a manutenção. As superfícies das paredes, pisos e tetos deverão ser impermeáveis a água.
4. Acessórios internos, como fixação de luzes, dutos de ar, e canos de gás e água deverão ser instalados de tal forma a minimizar áreas de superfície horizontal.
5. Janelas não são recomendadas. Qualquer janela deverá ser resistente a quebra. Em todos os locais possíveis as janelas que porventura existirem, deverão ser seladas. Se as dependências para animais possuírem janelas que são abertas, estas deverão conter telas para insetos.
6. Se houver sistema de drenagem no piso, os ralos deverão sempre conter água e/ou um desinfetante adequado.
7. A ventilação a ser instalada deverá estar de acordo com a última edição do *Guide for Care and Use of Laboratory Animals*⁶. Não deverá haver nenhuma recirculação do ar

exaurido. Recomenda-se que as salas para os animais sejam mantidas com uma pressão negativa em relação aos corredores adjuntos.

8. A dependência deverá conter uma pia para lavagem das mãos.
9. As caixas e gaiolas deverão ser lavadas manualmente ou em uma máquina para a lavagem mecânica de caixas e gaiolas. Esta máquina deverá ter enxágüe final com água a uma temperatura de pelo menos 72°C (180°F).
10. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e brilhos que possam impedir a visão.

Nível de Biossegurança Animal 2 (NBA-2)

O Nível de Biossegurança Animal 2 envolve práticas para o trabalho com agentes associados a doenças humanas. Esse nível é indicado tanto para riscos advindos da ingestão, quanto para exposições da membrana mucosa e cutânea. O NBA-2 baseia-se nos requisitos de práticas padrões, procedimentos, equipamentos de contenção e instalações do NBA-1.

A. Práticas Padrões

1. Além das normas, procedimentos e protocolos padrões para situações de emergência estabelecidas pelo diretor do local, normas e procedimentos especiais deverão ser desenvolvidos quando necessário e deverão ser aprovados pelo Comitê Institucional de Tratamento e Uso de Animais (IACUC) e pelo Comitê Institucional de Biossegurança (IBC).
2. O acesso às salas dos animais deverá ser limitado, permitindo o acesso ao menor número de pessoas possível. As pessoas que receberem autorização para entrar nas salas para trabalharem ou realizarem algum tipo de serviço quando o trabalho estiver sendo realizado, deverão ser avisadas em relação aos riscos em potencial.

3. Um programa de vigilância médica adequado deverá ser adotado. Toda a equipe deverá ser imunizada e testada contra os agentes manuseados ou potencialmente presentes (por exemplo, vacina de Hepatite B, teste cutâneo para TB). Quando apropriado, um sistema de vigilância sorológica deverá ser implementado⁷.
4. Um manual de biossegurança deverá ser preparado ou adotado. A equipe do laboratório deverá ser avisada sobre os riscos especiais, deverão ler e seguir as instruções sobre as práticas e procedimentos.
5. É proibido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato e aplicar cosméticos. Os alimentos de uso humano deverão ser guardados somente em áreas designadas para esse fim e não serão permitidos dentro das salas para os animais ou salas de procedimentos.
6. Todos os procedimentos deverão ser realizados com cuidado para minimizarmos a criação de aerossóis e borrifos.
7. O equipamento e as superfícies de trabalho na sala deverão ser rotineiramente descontaminados com um desinfetante de ação comprovada, após o trabalho com o agente, e especialmente depois de borrifos, derramamentos ou de outras contaminações com materiais infecciosos.
8. Todas as amostras infecciosas deverão ser coletadas, etiquetadas, transportadas e processadas de maneira que contenha e previna a transmissão do(s) agente(s). Todos os rejeitos da sala para animais (incluindo tecidos, carcaças e o material das camas contaminadas dos animais, sobra de alimentos e objetos perfurocortantes) deverão ser transportados da sala de animais em recipientes rígidos, cobertos e a prova de vazamentos, de acordo com os requisitos locais aplicáveis. A superfície exterior dos recipientes deverá ser desinfetada antes do material ser

transportado. Antes da incineração o conteúdo deverá ser autoclavado.

9. Normas para um manuseio seguro de objetos perfurocortantes deverão ser adotadas:
 - a. As seringas e agulhas ou outros instrumentos perfurocortantes deverão ficar restritos ao laboratório e deverão ser usados somente quando não houver uma outra alternativa, como nos casos de injeção parenteral, flebotomia, aspiração de líquidos de animais e de garrafas de diafragma.
 - b. Usar seringas que possuam envoltório para a agulha, ou sistemas que não utilizam agulhas e outros dispositivos de segurança quando apropriados.
 - c. Recipientes de plástico deverão ser substituídos por recipientes de vidro sempre que possível.
10. A equipe deverá lavar as mãos após o manuseio de culturas e animais, após a remoção das luvas, e antes de sair das dependências dos animais.
11. Um aviso de risco biológico deverá ser colocado na entrada da sala dos animais sempre que houver agentes infecciosos presentes. Este aviso deverá conter a identificação do(s) agente(s) infeccioso(s), deverá relacionar o nome e o telefone da pessoa responsável e deverá indicar os requisitos especiais (por exemplo, necessidade de imunização e do uso de respiradores) para a entrada na sala dos animais.
12. Um programa de controle de insetos e roedores deverá ser adotado (veja Apêndice G).

B. *Práticas Especiais*

1. As pessoas que tratam dos animais e as que dão suporte ao programa, deverão receber treinamento adequado sobre

os riscos potenciais associados ao trabalho, sobre as precauções necessárias para evitar exposições e os procedimentos de avaliação da exposição. A equipe deverá receber cursos anuais de atualização, ou treinamento adicional quando forem necessárias mudanças de normas ou procedimentos. Os registros de todo o treinamento fornecido deverão ser mantidos. Em geral, as pessoas expostas a um elevado risco de contaminação ou para quem as infecções possam ser perigosas, não serão permitidas dentro da sala para animais, a menos que procedimentos especiais possam eliminar os riscos extras.

2. Somente animais usados para o(s) experimento(s) serão permitidos na sala.
3. Todo o equipamento deverá ser adequadamente descontaminado antes de ser removido da sala.
4. Respingos e acidentes que resultem em exposições a materiais infecciosos deverão ser imediatamente relatados ao chefe do laboratório. Uma avaliação médica, vigilância e tratamento deverão ser providenciados e registros por escrito deverão ser mantidos.

C. *Equipamento de Segurança (Barreira Primária)*

1. Os aventais, uniformes, ou jalecos de laboratório deverão ser usados enquanto a pessoa estiver dentro da sala dos animais. O jaleco do laboratório deverá ser removido e mantido dentro da sala. Antes de sair da sala, os aventais, uniformes e jalecos deverão ser removidos. As luvas deverão ser usadas ao manipular animais infectados e quando for inevitável o contato da pele com os animais infectados.
2. O equipamento de proteção individual deverá ser baseado nas determinações da avaliação do risco (veja Seção V). Protetores respiratórios e para olhos/rosto deverão ser usados por todos que entrarem nas salas de animais que abrigam primatas não-humanos⁸.

3. Cabines de segurança biológica, assim como outros dispositivos de contenção física e/ou equipamento de contenção física (por exemplo, respiradores, protetores faciais) deverão ser usados ao conduzir procedimentos que apresentem um alto potencial de criação de aerossóis. Estes procedimentos incluem necropsia de animais infectados, coleta de tecidos, líquidos de animais ou ovos infectados e inoculação intranasal de animais.
4. Quando necessário, os animais deverão ser alojados em equipamentos de contenção primária apropriados às espécies animais. Sistemas com filtros de caixas ou gaiolas deverão sempre ser manipuladas em cabines de biocontenção animal, recomendadas para roedores, adequadamente projetadas e operadas.

D. *Instalações (Barreiras Secundárias)*

1. A dependência para animais deverá ser separada das áreas que são abertas ao trânsito irrestrito de pessoas dentro do edifício.
2. O acesso às dependências deverá ser limitado através de portas hermeticamente fechadas. As portas externas deverão ser fechadas e trancadas automaticamente. As portas das salas dos animais deverão se abrir para dentro, ser fechadas automaticamente e mantidas fechadas quando os animais estiverem presentes. As portas internas da sala da ante-sala deverão ser abertas para fora ou deslizarem vertical ou horizontalmente.
3. As dependências deverão ser planejadas, construídas e mantidas de tal forma a facilitar a limpeza e a manutenção. As superfícies das paredes, pisos e tetos deverão ser impermeáveis a água.
4. Acessórios internos, como fixação de luzes, dutos de ar, e canos de gás e água deverão ser instalados de tal forma a minimizar áreas de superfície horizontal.

Nível de Biossegurança Animal — NBA-3

5. As janelas não são indicadas. Qualquer janela deverá ser resistente a quebra. Em todos os locais possíveis, as janelas que porventura existirem, deverão ser seladas.
6. Se houver sistema de drenagem no piso, os sifões deverão sempre conter desinfetante adequado.
7. O ar exaurido deverá ser jogado para o lado de fora do prédio, sem recircular por outras salas. A ventilação a ser instalada deverá estar de acordo com a última edição do *Guide for Care and Use of Laboratory Animals*. A direção do fluxo de ar na sala dos animais deverá ser para dentro; e as salas para os animais deverão ser mantidas sob pressão negativa em relação aos corredores adjuntos.
8. As caixas e gaiolas deverão ser lavadas manualmente ou em uma máquina para a lavagem mecânica de caixas e gaiolas. Esta máquina deverá ter enxágüe final com água a uma temperatura de pelo menos 72°C (180°F).
9. Deverá existir uma autoclave dentro do laboratório de experimentação animal para descontaminação do lixo infeccioso.
10. A sala de manutenção de animais infectados deverá conter uma pia para lavagem das mãos, assim como em qualquer outro lugar do laboratório.
11. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e brilhos que possam impedir a visão.

Nível de Biossegurança Animal 3 (NBA – 3)

O Nível de Biossegurança Animal 3 envolve as práticas adequadas para o trabalho com animais infectados por agentes nativos ou exóticos que apresentem potencial elevado de transmissão por aerossóis e risco de provocar doenças fatais ou sérias. O NBA-3 baseia-se nos requisitos de práticas padrões,

procedimentos, equipamentos de contenção e instalações do NBA-2.

A. *Práticas Padrões*

1. Além das normas, procedimentos e protocolos padrões para situações de emergência estabelecidas pela chefia do laboratório, normas e procedimentos especiais deverão ser desenvolvidos quando necessário e deverão ser aprovadas pelo Comitê Institucional de Tratamento e Uso de Animais (IACUC) e pelo Comitê Institucional de Biossegurança (IBC).
2. O chefe do laboratório limitará o acesso às salas dos animais, ao menor número de pessoas possível. As pessoas que receberem autorização de entrada, para trabalharem ou realizarem algum tipo de serviço, deverão ser avisadas em relação ao risco em potencial.
3. Um programa de vigilância médica adequado deverá ser adotado. Toda a equipe deverá ser imunizada e testada contra os agentes manuseados ou potencialmente presentes (por exemplo, vacina de Hepatite B, teste cutâneo para TB). Quando apropriado, um sistema de vigilância sorológica deverá ser adotado⁹. Em geral, as pessoas que podem estar passando por um risco crescente de adquirirem a infecção ou para quem as infecções possam ter sérias conseqüências, não serão permitidas dentro da sala para animais, a menos que procedimentos especiais possam eliminar os riscos extras.
4. Um manual de biossegurança deverá ser preparado ou adotado. A equipe do laboratório deverá ser avisada sobre os riscos especiais, deverão ler e seguir as instruções sobre as práticas e procedimentos.
5. É proibido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato e aplicar cosméticos. Os alimentos de uso humano deverão ser guardados somente em áreas designadas para esse

fim e não serão permitidos dentro das salas para animais ou das salas de procedimentos.

6. Todos os procedimentos deverão ser realizados cuidadosamente para minimizar a produção de aerossóis e borrifos.
7. Os equipamentos e as superfícies de trabalho na sala deverão ser rotineiramente descontaminados com desinfetante que possua ação comprovada, após o trabalho com agentes infecciosos, e especialmente após borrifos, derramamentos ou outras contaminações com materiais infecciosos tenham ocorrido.
8. Todos os rejeitos da sala de animais (incluindo tecidos, carcaças e o material das camas dos animais contaminados, alimentação que não tenha sido utilizada e objetos perfurocortantes) deverão ser transportados da sala dos animais em recipientes rígidos, a prova de vazamentos e cobertos, para serem desprezados de forma adequada e de acordo com os requisitos locais ou institucionais aplicáveis. Recomendamos a incineração. A superfície externa dos recipientes deverá ser desinfetada antes da remoção do material (veja Práticas Especiais Nº 3 abaixo).
9. Normas quanto ao manuseio seguro de objetos perfurocortantes deverão ser instituídas.
 - a. As seringas e agulhas ou outros instrumentos perfurocortantes deverão ser restritos ao laboratório e somente usados quando não houver outra alternativa, como nos casos de injeção parenteral, flebotomia, aspiração de líquidos de animais e de garrafas de diafragma. Os recipientes de plástico deverão ser substituídos por recipientes de vidro sempre que possível.
 - b. As seringas que possuem um envoltório para a agulha, ou sistemas sem agulhas e outros dispositivos de segurança deverão ser utilizados quando necessários.

- c. Vasilhas plásticas deverão ser substituídas por vasilhames de vidro sempre que possível.
- 10. A equipe deverá lavar as mãos após ter manuseado culturas e animais, depois da remoção das luvas e antes de sair da sala dos animais.
- 11. Um aviso de risco biológico deverá ser colocado na entrada da sala do laboratório de experimentação animal, quando agentes infecciosos estiverem presentes no local. O aviso de risco deverá identificar o(s) agente(s) infeccioso(s) em uso, relacionar o nome e o número do telefone da pessoa responsável e indicar os requisitos especiais para a entrada na sala dos animais (por exemplo, necessidade de imunização e do uso de respiradores).
- 12. Todas as amostras infecciosas deverão ser coletadas, etiquetadas, transportadas e processadas de maneira que façam a devida contenção e previnam a transmissão de agentes.
- 13. As pessoas que cuidam dos animais de laboratório e as que dão suporte ao programa, deverão receber treinamento adequado sobre os riscos potenciais associados ao trabalho, sobre as precauções necessárias para evitar exposições e os procedimentos de avaliação da exposição. A equipe deverá receber cursos anuais de atualização, ou treinamento adicional quando forem necessárias mudanças de normas ou procedimentos. Os registros de todo o treinamento fornecido deverão ser mantidos.
- 14. Um programa de controle de insetos e roedores deverá ser adotado.

B. *Práticas Especiais*

- 1. As caixas e gaiolas dos animais deverão passar pela autoclave ou terão que ser descontaminadas antes que o

material da cama seja removido e antes de serem lavadas. O equipamento deverá ser descontaminado de acordo com as normas locais, estaduais ou federais antes de ser embalado para transporte ou remoção do local, para reparo ou manutenção.

2. Deve-se desenvolver um procedimento para o caso de respingos. Somente o pessoal adequadamente treinado e equipado para trabalhar com materiais infecciosos deverá limpar os respingos. Respingos e acidentes que resultem em uma exposição direta com materiais infecciosos deverão ser imediatamente relatados ao chefe do laboratório. Uma avaliação médica, vigilância e tratamento deverão ser providenciados e registros por escrito deverão ser mantidos.
3. Todos os rejeitos provenientes das salas de animais deverão passar pela autoclave antes de serem incinerados ou serem tratados através de outro método de esterilização.
4. Os materiais que não tiverem relação alguma com o experimento (por exemplo, plantas ou animais que não forem ser utilizados no ensaio) não serão permitidos na sala.

C. *Equipamento de Segurança (Barreiras Primárias)*

1. Uniformes ou roupas específicos deverão ser usadas pelas pessoas que entrarem na sala de animais. Estas vestimentas terão toda a frente protegida, ou seja, as vestimentas que são abotoadas na frente não são adequados. O uniforme deverá ser retirado e deixado na sala de animais NBA-3. Antes de sair das salas, as roupas ou uniformes deverão ser removidos e adequadamente acondicionados e descontaminados antes de serem lavados ou descartados (no caso de uniformes descartáveis).
2. O equipamento de proteção individual deverá ser usado de acordo com as determinações da avaliação de riscos.
 - a. O equipamento de proteção individual deverá ser usado em todas as atividades envolvendo manipulações de material infeccioso ou de animais infectados.

- b. A equipe deverá usar luvas ao manusear animais infectados. Essas luvas deverão ser removidas assepticamente e autoclavadas juntamente com outros lixos da sala de animais antes de serem descartadas.
 - c. Protetores respiratórios e para olhos/rosto deverão ser usados por todos que entrarem nas salas de animais.
 - d. Botas, sapatilhas ou pró-pés ou outro tipo de proteção para os pés, e banhos desinfetantes para os pés ou “lava-pés” deverão ser avaliados e usados onde forem indicados.
3. Podemos reduzir o risco de formação de aerossóis infecciosos advindos da manipulação de animais infectados ou dos materiais utilizados nas camas infectadas, se os animais forem colocados em sistemas de confinamento parcial, como caixas cobertas com filtros e paredes rígidas, colocadas em locais com ventilação direcionada para o interior das mesmas (por exemplo, cabines de fluxo laminar), ou outros sistemas similares de contenção primária.
4. As cabines de segurança biológica e outros dispositivos de contenção física deverão ser usados ao conduzir procedimentos que possuam um alto risco de criação de aerossóis. Esses incluem a necropsia de animais infectados, coleta de tecidos, líquidos de animais ou ovos infectados e inoculação intranasal de animais. Em um laboratório NBA-3, todo o trabalho deverá ser realizado em uma barreira primária, caso contrário as pessoas deverão usar protetores respiratórios dentro da sala.

D. Instalações (Barreiras Secundárias)

1. A dependência para os animais deverá ser separada das áreas que são abertas ao trânsito irrestrito de pessoas dentro do edifício.

2. O acesso às dependências deverá ser limitado através de portas que se fecham e se trancam automaticamente, com sistema de intertravamento, ou leitura ótica ou cartão magnético. A entrada de pessoal para a sala dos animais deverá ser realizada através de uma antecâmara pressurizada, que deverá incluir chuveiro(s) e um vestiário para troca de roupa. Um acesso adicional com porta dupla (air-lock) deverá ser construído ou uma autoclave com porta dupla deverá existir no local para o fluxo de suprimentos e rejeitos dentro e fora do laboratório, respectivamente. As portas para as salas de animais deverão se abrir para dentro e deverão se fechar automaticamente. As portas internas da ante-sala dentro de uma sala para animais deverão ser abertas para fora ou deslizarem vertical ou horizontalmente.
3. As instalações de um laboratório de experimentação animal NBA-3 deverão ser planejadas, construídas e mantidas de forma que facilitem a limpeza e a manutenção. As superfícies das paredes, pisos e tetos deverão ser impermeáveis a água. Selar as juntas, fendas ou aberturas em paredes, pisos e tetos. Penetrações das linhas de serviço, tais como água, luz, gás, e outras devem ser vedadas e os espaços entre as portas e esquadrias deverão permitir um selamento para facilitar a descontaminação do ambiente.
4. Cada sala para animais deverá conter uma pia para lavagem das mãos acionada automaticamente ou sem o uso das mãos perto das portas de saída. O sifão da pia deverá conter um desinfetante adequado após o uso da mesma.
5. Acessórios internos, como fixação de luzes, dutos de ar, e canos de gás e água deverão ser instalados de tal forma a minimizar áreas de superfície horizontal.
6. Qualquer janela deverá ser resistente a quebra. Em todos os locais possíveis, as janelas que porventura existirem, deverão ser vedadas. Se as instalações para animais possuírem janelas que são abertas, estas deverão conter telas contra insetos.

7. Se houver sistema de drenagem no piso, estes deverão sempre conter um desinfetante adequado.
8. A ventilação instalada deverá estar de acordo com a última edição do *Guide for Care and Use of Laboratory Animals*. Os sistemas de entrada de ar e exaustão devem ser interligados. Esse sistema cria um fluxo de ar direcionado, retirando o ar contaminado de dentro do laboratório, jogando-o para fora e ao mesmo tempo retira o ar das áreas “limpas” e o joga para dentro do laboratório. O ar exaurido não pode recircular em nenhuma outra área do prédio. Filtração ou outros tipos de tratamento do ar exaurido podem não ser necessários, mas deverão ser considerados, baseados nos requisitos do local, nos microorganismos específicos manipulados e nas condições de uso. O ar exaurido deverá ser lançado para longe de áreas ocupadas e de entradas de ar, ou poderá ser filtrado através de filtros HEPA. A equipe deverá verificar se a direção do ar insuflado (para dentro das áreas dos animais) está apropriada. Recomenda-se o uso de monitores visuais que indiquem e confirmem o fluxo de ar direcionado para dentro do recinto. Devemos considerar a instalação de um sistema de controle de HVAC para evitar a pressurização positiva nas áreas onde estão os animais. Alarmes audíveis devem ser considerados para evidenciar qualquer falha no sistema de controle HVAC.
9. O ar filtrado pelo HEPA de uma cabine de segurança biológica Classe II poderá recircular dentro da sala para animais se a cabine for testada e aprovada anualmente. Quando o ar exaurido das cabines de segurança biológica classe II, for lançado para fora do ambiente de trabalho, através do sistema de exaustão do edifício, as cabines deverão estar conectadas de maneira que evitem qualquer interferência no equilíbrio do ar das cabines ou do sistema de exaustão do edifício (por exemplo, uma conexão metálica entre o exaustor das cabines e que se prende ao duto dos exaustores do edifício). Quando as cabines de segurança

biológica Classe III forem utilizadas, elas deverão estar conectadas diretamente ao sistema de exaustão. Se as cabines de Classe III estiverem conectadas ao sistema de insuflação, isto deverá ser feito de tal maneira que previna a pressurização positiva das cabines (veja Apêndice A).

10. As caixas e gaiolas deverão ser lavadas manualmente ou em uma máquina para a lavagem mecânica de caixas e gaiolas. Esta máquina deverá ter enxágüe final com água a uma temperatura de pelo menos 72°C (180°F).
11. Deverá existir uma autoclave dentro da sala de experimentação animal NBA-3, onde o risco está contido, para descontaminação de lixo infeccioso antes de ser removido para outras áreas do local.
12. Se houver um sistema de vácuo (por exemplo, central ou local), cada conexão de serviço deverá possuir um sifão contendo desinfetante líquido e um filtro HEPA em linha, colocado o mais próximo possível de cada ponto de uso ou da válvula de serviço. Os filtros deverão ser instalados de tal forma que permitam a descontaminação e a substituição dos mesmos no local.
13. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e brilhos que possam impedir a visão.
14. O projeto de edificação e os procedimentos operacionais do laboratório de experimentação animal NBA-3, deve ser documentado. O local deverá ser testado em função do projeto e dos parâmetros operacionais para verificarmos se realmente eles atendem a todas as necessidades antes que comecem a operar. Os locais deverão ser checados novamente pelo menos uma vez ao ano e os procedimentos neles existentes deverão ser modificados de acordo com a experiência operacional.
15. Proteções adicionais ao meio ambiente (por exemplo, chuveiros para a equipe, filtros HEPA para filtração do ar

exaurido, contenção de outras linhas de serviços, e a provisão da descontaminação dos efluentes) deverão ser considerados, se recomendados devido às características dos agentes manipulados, determinado pela avaliação do risco das condições locais, ou por outros regulamentos locais, estaduais ou federais.

Nível de Biossegurança Animal 4 (NBA-4)

O Nível de Biossegurança Animal 4 envolve as práticas adequadas para o trabalho com agentes perigosos ou exóticos que exponha o indivíduo a um alto risco de infecções que podem ser fatais, além de apresentarem um potencial elevado de transmissão por aerossóis ou de agentes relacionados com um risco de transmissão desconhecido. O NBA-4 baseia-se nos requisitos de práticas, procedimentos, equipamento de contenção e instalações padrões do NBA-3. Os procedimentos deverão ser desenvolvidos no próprio local para direcionar as operações específicas das cabines de segurança biológica Classe III ou no “laboratório escafandro”.

A. Práticas Padrões

1. Além das normas, procedimentos e protocolos padrões para situações de emergência estabelecidas pela chefia do laboratório, normas e procedimentos especiais deverão ser desenvolvidos, quando necessário, e deverão ser aprovadas pelo Comitê Institucional de Tratamento e Uso de Animais (IACUC) e pelo Comitê Institucional de Biossegurança (IBC).
2. O chefe do laboratório deverá limitar o acesso às salas dos animais, permitindo o acesso ao menor número de pessoas possível. As pessoas que receberem autorização de entrada, para trabalharem ou realizarem algum tipo de serviço, deverão ser avisadas em relação ao risco em potencial.
3. Um programa de vigilância médica adequado deverá ser adotado para todas as pessoas que entrarem em um

laboratório NBA-4. Esse programa deverá incluir imunizações, coleta para acompanhamento sorológico, disponibilidade de aconselhamento pós-exposição e potencial profilaxia¹⁰. Em geral, as pessoas que podem estar passando por um crescente risco de adquirirem a infecção ou para quem as infecções possam ser perigosas, não serão permitidas dentro da sala para animais a menos que procedimentos especiais possam eliminar os riscos extras. A avaliação deverá ser realizada pelo médico do trabalho.

4. Um manual de biossegurança específico para o local deverá ser preparado ou adotado. A equipe do laboratório deverá ser avisada sobre os riscos especiais, deverão ler e seguir as instruções sobre as práticas e procedimentos.
5. É proibido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato e aplicar cosméticos. O alimento de uso humano deverá ser guardado somente em áreas designadas para esse fim e não será permitido dentro das salas para os animais ou salas de procedimentos.
6. Todos os procedimentos deverão ser realizados cuidadosamente para minimizar a produção de aerossóis e borrifos.
7. Os equipamentos e as superfícies de trabalho na sala deverão ser rotineiramente descontaminados com desinfetante que possua ação comprovada, após o trabalho com agentes infecciosos, e especialmente após borrifos, derramamentos ou outras contaminações com materiais infecciosos tenham ocorrido.
8. Um procedimento para borrifos deverá ser desenvolvido e instituído. Somente o pessoal adequadamente treinado e equipado para esse tipo de trabalho deverá limpar os borrifos de materiais infecciosos. Borrifos e acidentes que resultem em uma exposição direta com materiais infecciosos deverão ser imediatamente relatados ao chefe do

laboratório. Uma avaliação médica, vigilância e tratamento deverão ser providenciados e registros por escrito deverão ser mantidos.

9. Todos os rejeitos provenientes das salas de animais (incluindo tecidos animais, carcaças e material da cama contaminado), outros materiais que serão descartados e as roupas ou uniformes usados que irão ser encaminhados para a lavanderia, deverão ser esterilizadas em uma autoclave de porta dupla (veja B-4 abaixo). Recomendamos a incineração de materiais descartáveis.
10. Normas quanto ao manuseio seguro de objetos perfurocortantes deverão ser instituídas.
 - a. As seringas e agulhas ou outros instrumentos perfurocortantes deverão ser restritos a sala dos animais e deverão ser usados somente quando não houver uma outra alternativa, como nos casos de injeção parenteral, coleta de sangue ou aspiração de líquidos de animais de laboratório e de garrafas de diafragma.
 - b. As seringas que possuem um envoltório para a agulha, ou sistemas sem agulhas e outros dispositivos de segurança deverão ser utilizados quando necessários.
 - c. Vasilhas plásticas deverão ser substituídas por vasilhames de vidro sempre que possível.
11. Um aviso de risco biológico deverá ser colocado na entrada da sala do laboratório de experimentação animal, quando agentes infecciosos estiverem presentes no local. O aviso de risco deverá identificar o(s) agente(s) infeccioso(s) em uso, relacionar o nome e o número do telefone da pessoa responsável e indicar os requisitos especiais para a entrada na sala dos animais (por exemplo, necessidade de imunização e do uso de respiradores).
12. As pessoas que cuidam dos animais de laboratório e as que dão suporte ao programa deverão receber treinamento

adequado sobre os riscos potenciais associados ao trabalho, sobre as precauções necessárias para evitar exposições e os procedimentos de avaliação da exposição. A equipe deverá receber cursos anuais de atualização, ou treinamento adicional quando forem necessárias mudanças de normas ou procedimentos. Os registros de todo o treinamento fornecido deverão ser mantidos.

13. As caixas e gaiolas dos animais deverão passar pela autoclave ou terão que ser descontaminadas antes que o material da cama seja removido e antes de serem lavadas. Os equipamentos e as superfícies de trabalho deverão ser rotineiramente descontaminados com desinfetante que possua ação comprovada, após o trabalho com materiais infecciosos, e especialmente depois de borrifos, derramamentos ou outras contaminações com materiais infecciosos tenham ocorrido. Os equipamentos deverão ser descontaminados de acordo com qualquer regulamento local, estadual ou federal antes de ser removido do local para reparo ou manutenção.
14. As pessoas responsáveis pelo trabalho com animais infectados deverão trabalhar em pares. Baseado na avaliação dos riscos (veja Seção V), procedimentos, tais como o uso de caixas ou gaiolas de contenção, realização de trabalho somente com animais anestesiados ou outros, que visem reduzir as possíveis exposições do trabalhador deverão ser adotados.
15. Os materiais não relacionados ao ensaio (por exemplo, plantas e animais que não forem ser utilizados) não serão permitidos no local.

B. Práticas Especiais

1. Medidas adicionais deverão ser efetivadas para controle do acesso (por exemplo, um sistema de guarda durante 24 horas para entrada e saída de pessoas). A equipe deverá

entrar ou sair do local somente através do vestiário e das salas de banhos. Cada vez que saírem do local, a equipe deverá tomar banho. A entrada ou a saída de pessoal por antecâmara pressurizada somente deverá ocorrer em situações de emergência.

2. Em uma operação na cabine de segurança biológica Classe III, a roupa do pessoal deverá ser retirada no vestiário externa e deixada lá mesmo. O traje laboratorial completo, incluindo peças íntimas, calças e camisas ou macacões, sapatos e luvas deverão ser fornecidos e usados pelo pessoal. Ao sair, deverão retirar os trajes laboratoriais no vestiário interno antes de entrar na sala de banho. A roupa suja (usada) deverá ser esterilizada na autoclave.
3. Nos procedimentos operacionais em laboratórios NBA-4, deverá ser necessária a mudança completa de roupa. Um banho será necessário após a remoção da roupa descontaminada. As roupas sujas do laboratório deverão ser autoclavadas antes de serem lavadas.
4. Os materiais e suprimentos que forem introduzidos no laboratório deverão passar por uma autoclave de porta dupla ou por uma câmara de fumigação. Depois que a porta externa estiver trancada, as pessoas dentro do laboratório deverão abrir a porta interna e retirar os materiais. As portas da autoclave e da câmara de fumigação deverão ser interligadas de maneira que a porta externa só seja aberta depois que o “ciclo de esterilização” tenha sido concluído ou depois que a câmara de fumigação tenha sido descontaminada.
5. Um sistema para notificação de acidentes, incidentes, exposições e absenteísmo deve ser estabelecido, e um outro sistema para a vigilância médica de doenças potencialmente associadas ao trabalho em laboratório. Um aspecto essencial para esta vigilância/notificação é a disponibilidade de um local para quarentena, isolamento e

atendimento médico de pessoas com suspeitas de contaminação.

6. As amostras sorológicas coletadas deverão ser analisadas periodicamente. Os resultados deverão ser comunicados aos participantes.

C. Equipamento de Segurança (Barreiras Primárias)

1. Os animais infectados com microorganismos da classe de risco 4 deverão ser alojados dentro de cabines de segurança biológica classe III em um laboratório NBA-4. Em um laboratório NBA-4 “escafandro”, toda a equipe deverá vestir macacões com pressão positiva e ventilados com um sistema de suporte de vida. Os animais infectados deverão ser alojados em um sistema de contenção parcial (como em caixas abertas colocadas em locais ventilados, caixas de paredes sólidas, possuindo um sistema de ventilação e a exaustão feita através de filtros e abertas em fluxos laminares ou outros sistemas de contenção primária equivalentes).
2. O uso de materiais descartáveis que não requerem limpeza, incluindo caixas e gaiolas de animais, deverão ser levadas em consideração. Esses materiais descartáveis deverão passar pela autoclave na saída do laboratório e depois incinerados.

D. Instalações (Barreiras Secundárias)

Os laboratórios NBA-4 poderão ser incluídos como uma parte integrante dos Laboratórios NBA-4 de Cabine ou aos Laboratórios NBA-4 “de Escafandro” como descrito na Seção III deste documento. Os requisitos para instalações descritos na seção Laboratório NB-4 deverão ser utilizados juntamente com o uso das caixas descritas na seção de equipamentos acima.

Referências:

1. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Academy Press, Washington, DC, 1996.
2. U.S. Department of Agriculture. Laboratory Animal Welfare Regulations – 9 CFR, Subchapter A, Parts 1, 2 and 3.
3. Occupational Health and Safety in the Care of Research Animals. National Academy Press, Washington, D.C., 1996.
4. Subcommittee on Arbovirus Laboratory Safety for Arbovirus and Certain Other Viruses for Vertebrates. 1980. *Am J Trop Med Hyg* **29**(6): 1359-1381.
5. Centers for Disease Control and Prevention. 1998. Fatal Cercopithecine herpesvirus 1 (B Virus) Infection Following a Mucocutaneous Exposure and Interim Recommendations for Worker Protection. *MMWR* **47** (49); 1073-6, 1083.
6. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (1)
7. Occupational Health and Safety in the Care of Research Animals (3).
8. Centers for Disease Control and Prevention. 1998. (5)
9. Occupational Health and Safety in the Care of Research Animals (3)
10. Occupational Health and Safety in the Care of Research Animals. (3)

Tabela 1. Resumo dos Níveis de Biossegurança Recomendados para as Atividades nas quais Animais Vertebrados Infectados Naturalmente ou Experimentalmente são Utilizados.

BSL	Agentes	Práticas	Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias)	Instalações (Barreiras Secundárias)
1	Desconhecidos por causarem doenças em adultos humanos saudáveis	Cuidado com o animal e práticas de gerenciamento padrões, incluindo programas de vigilância médica adequados.	Cuidados normais, solicitados, por cada espécie.	Instalações animal padrões. - Nenhuma recirculação do ar exaurido. - Recomendação de fluxo de ar direcionado. - Recomendação de pia para lavagem de mão.
2	Associados com doenças humanas. Risco: exposição cutânea, ingestão, exposição da membrana mucosa.	Práticas de NBA-1 mais: - Acesso limitado. - Avisos de risco - Precaução com objetos perfurocortantes. - Manual de biossegurança. - Descontaminação de todo o lixo infeccioso e de caixas e gaiolas de animais antes da lavagem.	Equipamento de NBA-1 mais barreiras primárias: equipamento de contenção adequado para espécies animais; PPES: jalecos, luvas, proteção facial e respiradores quando necessários.	Instalações de NBA-1 mais: - Autoclave à disposição. - Pia para lavagem de mãos dentro da sala de animais. - Uso de lavagem mecânica das caixas e gaiolas.
3	Agentes nativos ou exóticos com elevado potencial de transmissão por aerossóis; doenças que podem causar sérios danos à saúde.	Práticas de NB-2 mais: - Acesso controlado - Descontaminação de todo o lixo - Descontaminação da roupa usada no lab. antes de ser lavada. - Amostra sorológica	Práticas de NBA-2 mais: - Acesso controlado. - Descontaminação das roupas antes de serem lavadas. - Descontaminação das caixas e gaiolas antes do material da cama ser removida. - Lavagem dos pés com desinfetante.	Equipamento de NBA-2 mais: - Equipamento de contenção para manutenção dos animais. - Cabines SB de Classe I ou II para manipulações (inoculação, necropsia) que possam criar aerossóis infecciosos. PPEs; proteção respiratória adequada. Instalações de NBA-2 mais: - Separação física dos corredores de acesso. - Fechamento automático, porta dupla de acesso. - Linhas de penetrações seladas. - Janelas vedadas. - Autoclave presente no local.
4	Agentes exóticos ou perigosos que imponham alto risco de doença fatal, transmissão por aerossóis, ou relacionada a agentes com risco de transmissão desconhecido.	Práticas de NBA-3 mais: - Entrada através do vestiário para troca de roupa onde a roupa pessoal é removida e a do laboratório vestida; banho na saída. - Todos os lixos deverão ser descontaminados antes da remoção do local.	Equipamento de NBA-3 mais: - Equipamento de máxima contenção (CSB Classe III ou de contenção parcial junto com macacão pressurizado positivamente com ar) usado para todas as atividades e procedimentos.	Instalações de NBA-3 mais: - Edifício separado ou área isolada. - Sistemas de insuflação e exaustão, vácuo e sistemas de descontaminação. - Outros requisitos enfatizados no texto.

SEÇÃO V

Avaliação dos Riscos

A palavra “risco” indica a probabilidade que um dano, um ferimento ou uma doença ocorra. No contexto dos laboratórios biomédicos e de microbiologia, a avaliação do risco se concentra primariamente na prevenção de infecções relacionadas aos laboratórios. Ao endereçar atividades laboratoriais que envolvam materiais infecciosos ou potencialmente infecciosos, a avaliação do risco é um exercício essencial e produtivo. Ele auxilia a designar os níveis de biossegurança (instalações, equipamentos e práticas) que reduzirão para um risco mínimo, a exposição de trabalhadores e do meio ambiente a um agente perigoso. A intenção desta seção é a de fornecer um guia e o de estabelecer parâmetros para a seleção do apropriado nível de biossegurança.

A avaliação do risco pode ser qualitativa ou quantitativa. Na presença de riscos conhecidos (por exemplo, níveis residuais de gás de formaldeído depois da descontaminação do laboratório), a avaliação quantitativa poderá ser realizada. Mas em muitos casos, os dados quantitativos estarão incompletos ou ausentes (por exemplo, a investigação de um agente desconhecido ou de uma amostra sem rótulo). Os tipos, subtipos e variantes dos agentes infecciosos envolvendo vetores diferentes ou raros, a dificuldade de avaliar as medidas de um potencial de amplificação do agente e as singulares considerações dos recombinantes genéticos são alguns dos vários desafios na condução segura de um laboratório. Diante tal complexidade, nem sempre os métodos de amostragem quantitativa significativos estão à nossa disposição. Desta forma, o processo de avaliação do risco para o trabalho com materiais biológicos perigosos pode não depender de um algoritmo prescrito.

O diretor do laboratório ou o principal pesquisador deverá ser o responsável pela avaliação dos riscos que implique no estabelecimento de níveis de biossegurança para o trabalho. Isto deverá ser realizado em colaboração com o Institutional Biosafety Committee (e/ou outros profissionais ou instituições se necessário) para assegurar a obediência às normas e regras estabelecidas.

Ao realizar a avaliação do risco qualitativo, todos os fatores de risco deverão ser identificados e explorados. Informações relacionadas deverão estar disponíveis, na forma de um manual. Consultas às Normas do NIH de DNA Recombinante, Normas de Biossegurança em Laboratórios Canadenses e Normas de Segurança da Organização Mundial de Saúde deverão ser consideradas. Em alguns casos, devemos confiar nas fontes de informações, como os dados de campo de um “*expert*” no assunto. Essa informação deverá ser interpretada pela sua tendência em aumentar ou diminuir o risco de uma infecção adquirida em laboratório¹.

O desafio da avaliação do risco se encontra naqueles casos onde uma informação completa sobre esses fatores não está à nossa disposição. Uma abordagem conservadora é geralmente aconselhada quando as informações forem insuficientes nos forçando a um julgamento subjetivo. As *Precauções Universais* deverão sempre ser recomendadas.

Os fatores de interesse em uma avaliação dos riscos incluem:

- A *patogenicidade* do agente infeccioso ou suspeito, incluindo a incidência e gravidade da doença (ex. morbidade média contra uma mortalidade alta, doença aguda versus doença crônica). Quanto mais grave a potencialidade da doença adquirida, maior será o risco. Por exemplo, o *Staphylococcus aureus* raramente provoca uma doença grave ou fatal em um indivíduo contaminado em um laboratório e está relegado ao NB-2. Já vírus como o Ebola, Marburg e da febre de Lassa, que provocam doenças com alta taxa de mortalidade e para as quais não existem vacinas ou tratamentos são trabalhadas em um NB-4. Porém, a gravidade da doença precisa ser amenizada por outros fatores. O trabalho com um vírus humano de imunodeficiência (HIV) e com o vírus da Hepatite B também é feito em um NB-2, embora eles possam causar uma doença potencialmente fatal. Mas esses vírus não são transmitidos através de aerossóis, e

a incidência de uma infecção adquirida em laboratório é extremamente baixa para o HIV. No caso da Hepatite B, já existe uma vacina eficaz contra esta patologia.

- A *via de transmissão* (por exemplo, parenteral, via aérea ou por ingestão) de agentes isolados recentemente pode não estar definitivamente estabelecida. Os agentes que podem ser transmitidos via aerossol têm provocado grande parte das infecções laboratoriais. Ao planejar o trabalho com um agente relativamente não caracterizado e com um modo de transmissão desconhecido, o mais seguro é considerar o *potencial* de transmissão por *via aerossol*. Quanto maior o potencial do aerossol, maior o risco.
- A *estabilidade do agente* é um aspecto que envolve não somente a infectividade de aerossóis (por exemplo, de bactérias formadoras de esporos), mas também a capacidade de sobreviver por um tempo extra do agente no meio ambiente. Fatores como a dissecação, a exposição à luz solar ou ultravioleta, ou a exposição a desinfetantes químicos deverá ser considerada.
- A *dose infecciosa* do agente é um outro fator a ser considerado. A dose infecciosa pode variar de uma a milhares de unidades. A natureza complexa da interação dos microorganismos e do hospedeiro apresenta um desafio significativo até mesmo para o mais saudável e imunizado trabalhador de laboratório, e pode impor um sério risco àqueles com menos resistência. O *grau de imunização* do trabalhador do laboratório está diretamente relacionado à sua susceptibilidade à doença provocada por um agente infeccioso.
- A *concentração* (número de organismos infecciosos por unidade de volume) será importante na determinação do risco. Essa determinação deverá considerar o meio que contém o organismo (por exemplo, tecido sólido, sangue viscoso ou escarro ou meio líquido) e a atividade

laboratorial planejada (por exemplo, amplificação, sonificação ou centrifugação do agente). O volume do material concentrado a ser manipulado também é importante. Na maioria dos casos, os fatores de risco aumentam com o aumento do volume de trabalho de microorganismos de alta titulação, uma vez que um manuseio adicional dos materiais é frequentemente solicitado.

- A *origem* do material potencialmente infeccioso é também fundamental para a avaliação dos riscos. A palavra “origem” pode se referir à localização geográfica (por exemplo, doméstico ou originários de outros países); hospedeiro (por exemplo, animal ou ser humano infectado ou não); ou natureza da fonte (por exemplo, potencialmente zoonótica ou associada a um outro surto de doença). Sob outro ângulo, esse fator pode também levar em consideração o potencial dos agentes que ameaçam as aves e os animais de criação.
- A *disponibilidade de dados gerados por estudos animais*, na falta de dados humanos, poderá fornecer informações úteis para uma avaliação do risco. As informações sobre a patogenicidade, a infectividade e a via de transmissão em animais podem proporcionar informações valiosas. Porém, sempre devemos tomar cuidado em traduzir dados de uma espécie animal para os de outras espécies.
- A *disponibilidade de uma profilaxia eficaz* estabelecida ou de uma intervenção terapêutica é outro fator importante a ser considerado. A forma mais comum de profilaxia é a imunização com uma vacina eficiente. A avaliação do risco inclui a determinação da disponibilidade de imunizações eficazes. Em alguns casos, a imunização pode afetar o nível de biossegurança (por exemplo, o vírus Junin do grupo NB-4 pode ser trabalhado no NB-3 por um trabalhador imunizado). A imunização também pode ser

passiva (por exemplo, o uso de uma imunoglobulina sorológica nas exposições ao HBV). Apesar de importante, a imunização somente servirá como uma camada adicional de proteção mediante os controles de engenharia, as práticas e procedimentos padrões e o uso de equipamento de proteção individual. Ocasionalmente, a imunização ou a intervenção terapêutica (terapia com antibióticos ou antiviral) pode ser particularmente importante nas condições de campo. A oferta de imunizações é parte do gerenciamento do risco.

- A *vigilância médica* assegura que as normas de segurança decididas realmente produzam os resultados positivos esperados. A vigilância médica também é parte da administração do risco. Podemos incluir o banco de soro, monitoramento da condição de saúde do trabalhador e a participação em um gerenciamento pós-exposição.
- A avaliação do risco também pode incluir uma avaliação da *experiência e nível de capacitação das pessoas expostas a riscos* como os laboratoristas e as pessoas que cuidam dos animais, da limpeza e manutenção (veja Seção III). Uma educação adicional também pode ser necessária para garantir a segurança das pessoas que trabalham em cada um dos níveis de biossegurança.

Os agentes infecciosos cujo risco é avaliado freqüentemente serão classificados em uma destas categorias:

Materiais contendo agentes infecciosos conhecidos.

As características da maioria dos agentes infecciosos são conhecidas. As informações úteis para a avaliação do risco podem ser obtidas através de pesquisas laboratoriais, vigilância da doença e estudos epidemiológicos. Os agentes infecciosos conhecidos por causarem infecções associadas a laboratório estão incluídas no Resumo das Características dos Agentes neste volume (veja Seção VII). Outras fontes incluem o manual do American Public Health Association, *Control of Communicable Diseases*². Os artigos

literários sobre infecções adquiridas em laboratório também poderão ser úteis^{3, 4, 5, 6, 7, 8}.

Materiais contendo agentes infecciosos desconhecidos. O desafio aqui é estabelecer o nível de biossegurança mais adequado tendo, em mãos, somente informações limitadas. Com frequência essas serão amostras clínicas. Algumas perguntas que poderão auxiliá-lo em uma avaliação do risco são as seguintes:

1. Por que um agente infeccioso é considerado suspeito?
2. Quais são os dados epidemiológicos disponíveis? Qual via de infecção é indicada? Qual é o índice de morbidade ou de mortalidade associado ao agente?
3. Quais são os dados médicos disponíveis?

As respostas a essas perguntas podem identificar o agente ou o agente substituto cujas características encontradas no Resumo das Características dos Agentes e poderão ser utilizadas para determinarmos um nível de biossegurança. Na ausência de dados concretos, recomenda-se uma abordagem conservadora.

Materiais contendo moléculas de DNA recombinantes.

Essa categoria de agentes inclui os microorganismos que foram geneticamente modificados através de tecnologias do DNA recombinante. Essas tecnologias continuam a serem desenvolvidas rapidamente. Os projetos experimentais designados para extrair novos vírus, bactérias, levedo e outros microorganismos recombinantes se tornaram comuns nos dias de hoje. É muito provável que futuras aplicações da tecnologia do DNA recombinante produzirão novos vírus híbridos. A publicação do National Institutes of Health chamado *Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules*⁹ é um excelente ponto de referência para a seleção de um nível de biossegurança adequado para o trabalho que envolva microorganismos recombinantes.

Ao selecionar um nível de biossegurança apropriado para este trabalho, talvez o maior desafio seja avaliar o aumentado do

risco biológico associado a uma modificação genética em particular. Em grande parte dos casos, a seleção de um nível de biossegurança adequado começa ao estabelecermos a classificação do vírus não modificados. Entre os vírus recombinantes, agora rotineiramente desenvolvidos estão o adenovírus, alfavírus, retrovírus, vírus vacínia, herpesvírus e outros designados para expressar os produtos de genes heterólogos. Porém, a natureza da modificação genética e a quantidade de vírus deverão ser cuidadosamente considerados ao selecionar um nível de biossegurança adequado para o trabalho com um vírus recombinante.

Entre os pontos a serem considerados no trabalho com os microorganismos recombinantes estão:

- O gene inserido codifica uma toxina conhecida ou uma toxina relativamente descaracterizada?
- A modificação possui um potencial para alterar o alcance do hospedeiro ou o tropismo celular do vírus?
- A modificação possui um potencial para aumentar a capacidade de replicação do vírus?
- O gene inserido codifica um oncogene conhecido?
- O gene inserido possui o potencial para alterar o ciclo celular?
- O DNA viral se integra ao genoma do hospedeiro?
- Qual é a probabilidade de que cepas de vírus competentes replicados sejam geradas?

A lista de perguntas não significa que seja uma questão inclusiva. Pelo contrário, elas servem como um exemplo de informação necessário para julgarmos se um nível de biossegurança maior é necessário para o trabalho com microorganismos geneticamente modificados. Já que em muitos casos as respostas para essas perguntas não serão definitivas, é importante que a empresa possua um Comitê Institucional de Biossegurança constituída e informada, como enfatizado pelos estatutos do NIH, para verificar a avaliação do risco.

Materiais que possam conter ou não agentes infecciosos desconhecidos. Na ausência de informações que possam sugerir a infectividade do agente, deve-se considerar as precauções universais.

Estudos Animais. Estudos laboratoriais que envolvam animais poderão apresentar muitos tipos diferentes de riscos físicos, biológicos e ao meio ambiente. Os riscos específicos presentes em qualquer dependência para animais em particular são únicos, variando de acordo com as espécies envolvidas e com a natureza da pesquisa desenvolvida. A avaliação do risco quanto ao perigo biológico deverá se concentrar particularmente no potencial das instalações animais para uma aumentada exposição de patógenos humanos e aos agentes zoonóticos.

Os próprios animais podem introduzir novos perigos biológicos nas instalações. As infecções latentes são mais comuns em animais capturados no campo ou em animais vindo de populações não selecionadas. Por exemplo, o vírus-b do macaco apresenta um risco latente aos indivíduos que lidam com símios. As vias de transmissão animais devem também ser consideradas na avaliação do risco. Os animais que transmitem vírus através de disseminação respiratória ou disseminação na urina ou fezes são muito mais perigosos do que aqueles que não o fazem. As pessoas que lidam com animais experimentais em locais de pesquisas e que trabalham com agentes infecciosos apresentam um risco muito maior de exposição devido às mordidas, arranhões e aerossóis provocados por eles. A Seção IV descreve as práticas e instalações aplicáveis ao trabalho de animais infectados por agentes listados nos Níveis de Biossegurança de 1-4¹.

Outras aplicações. O processo de avaliação dos riscos descritos também se aplica às operações laboratoriais que não envolvam o uso de agentes primários de doenças humanas. É verdade que os estudos microbiológicos de patógenos específicos de hospedeiros animais, do solo, água, alimentos, rações e outros materiais naturais ou industrializados impõem riscos consideravelmente menores para os laboratoristas. Ainda assim, os microbiologistas e outros cientistas que trabalhem com esses materiais podem achar de grande valor estas práticas, equipamentos de contenção e recomendações para as instalações descritas neste livro, para o desenvolvimento de padrões operacionais que atenda todas as necessidades de suas próprias avaliações.

Referências:

1. Knudsen, R.C. 1998. Risk Assessment for Biological Agents in the Laboratory. In J. Richmond, Ph. D, R.B.P. (ed.) Rational Basis for Biocontainment: Proceedings of the Fifth National Symposium on Biosafety. American Biological Safety Association, Mundelein, IL.
2. Benenson, Abram S., Editor. Control of Communicable Diseases Manual. 16th Edition, 1995. American Public Health Association, Washington, D.C. 200005.
3. Collins, C.H. Laboratory-acquired infections, history, incidence, causes and prevention. Butterworths, and Co.Ltd. 1983.
4. Richmond, Jonathan Y., McKinney, Robert W. Editors. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Public Health Service, 3rd Edition, May, 1993.
5. Sewell, David L. Laboratory Associated Infections and Biosafety. Clinical Microbiology Reviews, 8:389-405, 1995.
6. Sulkin, S.E., Pike, R.M. 1949. Viral Infections contracted in the laboratory. New England J. Medicine. 241:205-213.
7. Sulkin, S.E., Pike, R.M. 1951. Survey of Laboratory Acquired infections. Am J Public Health 41:769-781.
8. Sullivan, J.F. Songer, J.R., Estrem, I.E. 1978. Laboratory acquired infections at the National Animal Disease Center, 1960-1975. Health Laboratory Sci. 15: 58-64.
9. National Institutes of Health. Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules. (Washington: GPO, 1998) Federal Register. 59FR34496.

Outras Fontes:

- NIH Guidelines for Recombinant DNA Molecules:
<http://www.NIH.gov/od/orda/toc.html>
- NIH Office of Recombinant DNA Activities:
<http://www.NIH.gov/od/orda>

SEÇÃO VI

Níveis de Biossegurança Recomendados para Agentes Infecciosos e Animais Infectados

A seleção de um nível de biossegurança adequado para o trabalho envolvendo um agente ou um estudo animal em particular depende de um número de fatores (veja a Seção V, Avaliação dos Riscos). Alguns destes fatores mais importantes são: a virulência, a patogenicidade, a estabilidade biológica, a rota de disseminação e a transmissibilidade do agente; a natureza ou função do laboratório; os procedimentos e manipulações envolvendo o agente; a endemicidade do agente e a disponibilidade de vacinas ou de medidas terapêuticas eficazes.

A relação sumária dos agentes apresentada nesta seção proporciona um guia para a seleção dos níveis de biossegurança adequados. As informações específicas sobre riscos laboratoriais relacionados com um agente em particular e as recomendações sobre uma conduta segura de procedimentos que possam reduzir significativamente o risco de doenças associadas ao trabalho laboratorial, também se encontram relacionadas nesta seção. As relações sumárias dos agentes incluem um ou mais dos seguintes critérios: o agente é um fator de risco comprovado para os trabalhadores que manipulam materiais infecciosos (por exemplo, vírus da hepatite B, *M. tuberculosis*); o potencial para as infecções associadas ao trabalho laboratorial é elevado mesmo na falta de um documento prévio das infecções adquiridas em laboratório (por exemplo, arbovírus exóticos); ou as consequências da infecção serão graves.

As recomendações para o uso de vacinas e toxóides estão incluídas nas relações sumárias dos agentes, assim como os produtos licenciados disponíveis, além dos produtos em investigação pelo Investigational New Drug (IND) – (veja o Apêndice B, Imunoprofilaxia). Quando aplicável, as recomendações para o uso destes produtos serão baseadas nas recomendações do Public Health Service Advisory Committee on Immunization Practice, e são específicas às pessoas que estão expostas a este tipo de risco,

que trabalham em laboratório ou as que têm de entrar em áreas laboratoriais. Essas recomendações específicas de maneira alguma deverão impedir o uso rotineiro destes produtos como o toxóide tetânico-diftérico, a vacina contra pólio, a vacina contra influenza e outras, porque o risco potencial de exposição da comunidade, independe de quaisquer riscos laboratoriais. Precauções adequadas deverão ser tomadas na administração de vacinas atenuadas de vírus vivo em indivíduos com sistema auto-imune alterado ou com outra condição médica (por exemplo, gravidez), na qual uma infecção viral pode resultar em conseqüências adversas.

As avaliações dos riscos e os níveis de biossegurança recomendados nas relações sumárias dos agentes referem-se a uma população de indivíduos imune competentes. As pessoas com a imunocompetência alterada poderão ser expostos gradativamente aos riscos. A imunodeficiência pode ser hereditária, congênita ou induzida por um número de doenças neoplásicas ou infecciosas, por terapia ou por radiação. O risco de se tornar infectado ou a conseqüência de uma infecção pode também ser influenciado por fatores tais como: idade, sexo, raça, gravidez, cirurgias (por exemplo, esplenectomia, gastrostomia), predisposição a doenças (por exemplo, diabetes, lúpus eritematoso) ou uma função fisiológica alterada. Estas e outras variáveis deverão ser consideradas na aplicação das avaliações dos riscos às atividades específicas dos indivíduos selecionados.

O nível de biossegurança escolhido para um agente é baseado nas atividades associadas ao crescimento e manipulação das quantidades e concentrações dos agentes infecciosos requeridos para realizar a identificação ou a tipagem. Se as atividades com os materiais infecciosos provocarem um menor risco aos trabalhadores do que aquelas atividades associadas com a manipulação de culturas, recomenda-se um nível de biossegurança menor. Por outro lado, se as atividades envolverem grandes volumes e/ou altas concentrações (“quantidades de produção”) ou se as manipulações geralmente provocarem a formação de aerossóis ou que sejam intrinsecamente perigosos, podem ser indicados precauções individuais específicas e de elevar os níveis de contenção primária a secundária.

O termo “quantidades de produção” se refere a grandes volumes ou altas concentrações de agentes infecciosos considerados volumosos em relação àquelas usadas para a identificação e a tipagem. A propagação e a concentração dos agentes infecciosos, como ocorre na fermentação em grande escala, na produção de antígeno e de vacinas e em inúmeras atividades comerciais e de pesquisa, lidam claramente com massas significativas de agentes infecciosos que são considerados “quantidades de produção”. Porém, em termos de um risco potencialmente aumentado em função da massa de agentes infecciosos, é impossível definir como “quantidades de produção” os volumes ou concentrações finitas de qualquer agente. Portanto, cabe ao diretor do laboratório realizar uma avaliação das atividades conduzidas e das práticas selecionadas, dos equipamentos de contenção e das instalações apropriadas ao risco, independente do volume ou da concentração do agente envolvido.

Haverá casos em que o diretor do laboratório terá que selecionar um nível de biossegurança maior que o recomendado. Por exemplo, um nível de biossegurança maior poderá ser indicado pela natureza única da atividade proposta (por exemplo, a necessidade de uma contenção especial para aerossóis gerados experimentalmente para estudos de inalação) ou pela proximidade das áreas de risco do laboratório (por exemplo, um laboratório de diagnósticos localizado próximo às áreas de atendimento de pessoas). Da mesma forma, um nível de biossegurança recomendado pode ser adaptado para compensar a ausência de certas proteções recomendadas. Por exemplo, nas situações em que é recomendado Nível de Biossegurança 3, pode-se conseguir um nível satisfatório de proteção nas operações rotineiras ou repetitivas (por exemplo, procedimentos para diagnóstico envolvendo a reprodução de um agente para identificação, tipagem e teste de susceptibilidade) nos laboratórios onde as características construtivas satisfaçam as recomendações para o Nível de Biossegurança 2, providos das boas práticas microbiológicas, de práticas especiais e de equipamentos de segurança para que o Nível de Biossegurança 3 seja rigorosamente seguido.

Um exemplo envolve o trabalho com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). O trabalho de rotina para o

diagnóstico do vírus com amostras clínicas pode ser feito com segurança em um nível de Biossegurança 2, usando as práticas e os procedimentos do Nível de Biossegurança 2. O trabalho de pesquisa (incluindo co-cultivo, estudos de replicação do vírus, ou manipulações envolvendo o vírus concentrado) pode ser feito em instalações NB-2, usando as práticas e os procedimentos de NB-3. As atividades de produção de vírus, incluindo as concentrações virais, requerem instalações NB-3 e o uso de práticas e procedimentos de NB-3 (veja o resumo dos agentes).

A decisão de adaptar as recomendações do Nível de Biossegurança 3, como foi feito no exemplo acima, deverá ser tomada somente pelo diretor do laboratório. Essa adaptação, porém, não é indicada para as operações ou atividades de produção de agentes onde os procedimentos freqüentemente são mudados. O diretor do laboratório também deverá ter uma atenção especial ao estabelecer procedimentos de segurança para os materiais que possam conter um agente suspeito. Por exemplo, soro de origem humana pode conter vírus da hepatite B e desta forma, todo o sangue ou fluidos derivados do sangue deverão ser manuseados sob condições que evitem ao máximo a exposição cutânea, da membrana mucosa ou parenteral do pessoal. O escarro enviado ao laboratório para o ensaio do bacilo da tuberculose deverá ser manipulado sob condições que evitem a formação de aerossóis durante a manipulação dos materiais clínicos ou das culturas.

Os agentes infecciosos que atendam os critérios anteriormente estabelecidos estão relacionados pela categoria do agente na Seção VII. Para usar esses sumários, primeiro localize o agente na lista através da categoria adequada ao mesmo. Segundo utilize as práticas, os equipamentos de segurança e o tipo de instalação recomendada nas relações dos agentes como descrito na Seção VII para o trabalho com materiais clínicos, culturas, agentes infecciosos, ou animais infectados.

O diretor do laboratório também será o responsável pela avaliação dos riscos e pela utilização adequada das práticas, dos equipamentos de contenção e das instalações para os agentes não incluídos na lista dos agentes.

SEÇÃO VII

Relação dos Agentes

• Seção VII-A: Agentes Bacterianos

Agente: Bacillus anthracis

Numerosos casos de carbúnculo adquiridos no laboratório que acontecem primariamente em locais onde são conduzidas pesquisas do antraz, têm sido relatados^{1, 2}. Nenhum caso de antraz que não esteja associado a laboratório foi relatado nos Estados Unidos desde o final dos anos 50 quando a vacina contra o carbúnculo foi introduzida. Nenhum trabalho com o *B. anthracis* requer considerações de segurança especiais devido ao seu uso potencial no terrorismo biológico. Os animais naturalmente e experimentalmente infectados oferecem um risco potencial à equipe do laboratório e aos tratadores de animais.

Riscos no Laboratório: O agente pode estar presente no sangue, em exudatos de lesão de pele, no líquido cerebrospinal, no líquido pleural, no escarro e raramente na urina e fezes. O contato direto e indireto da pele intacta e rachada com culturas e superfícies laboratoriais contaminadas, inoculações parenterais por acidente e raramente através de aerossóis infecciosos são considerados como riscos primários para os trabalhadores de um laboratório.

Precauções Recomendadas: As práticas, o equipamento de contenção e as dependências do Nível de Biossegurança 2 deverão ser os procedimentos indicados para as atividades que utilizem materiais clínicos e quantidades de culturas infecciosas para diagnóstico. As práticas, os equipamentos de contenção e as dependências do Nível de Biossegurança Animal 2 são as recomendadas para estudos que utilizem roedores de laboratório infectados experimentalmente. Já as práticas, o equipamento de contenção e as dependências do Nível de Biossegurança 3 são indicados para o trabalho que envolva quantidades ou

concentrações de produção de culturas, e para as atividades com um alto potencial para a produção de aerossóis.

Observação: Uma vacina licenciada está disponível através dos Centers for Disease Control and Prevention; porém, a imunização de toda a equipe não é recomendada a não ser que o freqüente trabalho com amostras clínicas ou culturas para diagnóstico esteja previsto (por exemplo, laboratório de diagnóstico de doença animal). Nestas dependências, a imunização é recomendada para todas as pessoas que trabalhem com o agente, todas as pessoas que trabalhem na mesma sala do laboratório onde as culturas são manuseadas e para as pessoas que trabalhem com animais infectados.

Transferência do Agente: A licença para a importação deste agente pode ser obtida junto com o CDC. Já para exportação ligue para o Department of Commerce. É necessário um registro do laboratório com o CDC antes de enviar ou receber esse agente. Uma licença para importação ou transporte doméstica pode ser obtida através da USDA/APHIS/VS.

Agente: *Bordetella pertussis*

O *Bordetella pertussis*, um patógeno presente no sistema respiratório humano e de distribuição mundial, é o agente causador da coqueluche. A doença é tipicamente uma doença que ocorre na infância; entretanto, o agente tem sido cada dia mais associado com a doença em adultos^{3, 4, 5}. Vários surtos em trabalhadores da área da saúde foram relatados na literatura^{6, 7}. Adolescentes e adultos com doença atípica ou sem diagnóstico podem servir como reservatórios da infecção e podem transmitir o patógeno para recém-nascidos e crianças⁸. Oito casos de infecção em adultos pelo *B. pertussis* foram documentados em um instituto de grandes pesquisas. Os indivíduos infectados não trabalhavam diretamente com o microorganismo, mas possuíam um acesso aos espaços em comum de um laboratório onde o agente era manipulado. Um caso de transmissão secundária para uma pessoa da família foi também documentado⁹. Um incidente semelhante ocorreu em uma grande

universidade do Meio-Oeste dos Estados Unidos que resultou em dois casos documentados de infecção adquirida em laboratório e um caso documentado de transmissão secundária¹⁰. Outras infecções com o *B. pertussis* adquiridas em laboratório foram relatadas, assim como a transmissão de adulto para adulto no local de trabalho^{11, 12}. As infecções adquiridas em laboratórios resultantes de manipulação de amostras clínicas ou substâncias isoladas não foram relatadas. A incidência desta infecção disseminada no ar é influenciada pela intimidade e frequência da exposição de indivíduos suscetíveis.

Riscos em Laboratório: O agente pode estar presente em secreções respiratórias, mas não é encontrado no sangue ou tecido. Uma vez que o modo de transmissão é via respiratória, quanto maior a geração de aerossóis durante a manipulação de culturas ou de suspensões concentradas do agente, maior será o risco.

Precauções Recomendadas: As práticas, o equipamento de contenção e as dependências do Nível de Biossegurança 2 são recomendados para todas as atividades que envolvam a manipulação de materiais ou culturas conhecidamente ou potencialmente infecciosas. Já o Nível de Biossegurança Animal 2 deverá ser usado para o alojamento de animais. Os dispositivos e equipamentos de contenção primária (por exemplo, cabines de segurança biológica, conchas de segurança para centrífugas ou centrífugas de segurança especialmente projetadas) deverão ser utilizados para as atividades que provavelmente irão causar a formação de aerossóis potencialmente infecciosos. As práticas, os procedimentos e as dependências do Nível de Biossegurança 3 são indicados para produções em grande escala.

Observação: As vacinas contra a coqueluche estão disponíveis, mas não são atualmente recomendadas para uso em adultos. Sugerimos ao leitor consultar as recomendações atuais do Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) publicada no CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) para a vacinação de adultos contra a coqueluche.

Transferência do Agente: A licença de importação deste agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: *Brucella* (*B. abortus*, *B. canis*, *B. melitensis*, *B. suis*).

A Brucelose continua sendo a infecção bacteriana associada a laboratório mais comumente relatada^{13, 14, 15}. O *B. abortus*, o *B. canis*, o *B. melitensis* e o *B. suis* têm provocado várias doenças em trabalhadores de laboratórios^{16, 17, 18}. A hipersensibilidade aos antígenos da *Brucella* é também prejudicial à equipe do laboratório. Casos ocasionais têm sido atribuídos à exposição a animais infectados experimentalmente ou naturalmente e aos seus tecidos.

Riscos em Laboratório: O agente pode estar presente no sangue, no líquido cerebrospinal, no sêmen e ocasionalmente na urina. A maioria dos casos associados a laboratório ocorreu em dependências para pesquisas e envolveu a exposição ao agente *Brucella* largamente produzido. Vários casos em laboratórios clínicos também foram constatados em culturas bacteriológicas desprezadas¹⁹. O contato direto da pele com culturas ou com amostras clínicas infecciosas de animais (por exemplo, sangue, secreções uterinas) está comumente envolvido nestes casos. Os aerossóis formados durante os procedimentos laboratoriais têm provocado grandes surtos^{20, 21}. Pipetagem com a boca, inoculações parenterais acidentais e sprays lançados nos olhos, nariz e boca também têm provocado infecções.

Precauções Recomendadas: Recomenda-se as práticas do Nível de Biossegurança 2 para atividades que envolvam amostras clínicas de origem humana ou animal contendo ou potencialmente contendo *Brucella spp.* patogênico. Já as práticas, o equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 3 e do Nível de Biossegurança Animal 3 são recomendados, respectivamente, para todas as manipulações de culturas do *Brucella spp.* patogênico relacionadas neste resumo e para estudos de animais experimentais.

Observação: Embora as vacinas humanas contra a brucelose tenham sido desenvolvidas e testadas em outros países com limitado sucesso, até o momento da publicação deste volume, nenhuma vacina humana encontrava-se à disposição nos Estados Unidos²².

Transferência do Agente: A licença para a importação deste agente deve ser conseguida junto ao CDC e a licença de exportação deverá ser obtida no Department of Commerce. No caso de envio ou recebimento deste agente é necessário obter um registro do laboratório com o CDC. A licença para importação ou transporte doméstico deste agente poderá ser obtida no USDA/APHIS/VS.

Agente: *Burkholderia pseudomallei* (*Pseudomonas pseudomallei*)

Dois casos de melioidose associados a laboratório foram relatados: um associado à exposição massiva da pele aos aerossóis; e o segundo provocado pela formação de aerossóis durante uma destruição de uma cultura, que se supunha ser de *Ps. Cepacia*, em frasco aberto através das ondas sonoras de alta frequência²⁴.

Riscos em Laboratório: Este agente pode estar presente no escarro, sangue, exsudatos de um ferimento e em vários tecidos, dependendo do local da infecção. O contato direto com culturas e materiais infecciosos de homens, animais ou do meio ambiente, a ingestão, auto-inoculação e exposição aos aerossóis e perdigotos infecciosos são considerados como riscos primários de um laboratório. O agente tem sido encontrado em sangue, escarro e materiais de abscesso e pode estar presente em amostras de solo e de água de áreas endêmicas.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são recomendadas para todas as atividades que envolvam líquidos corporais, tecidos e culturas reconhecidamente ou potencialmente infecciosas. Deve-se usar luvas ao manusear animais infectados durante a necropsia e quando existir a possibilidade de contato direto da pele com os materiais infecciosos destes animais. A contenção primária e precauções pessoais adicionais, como àquelas descritas para o Nível de Biossegurança 3, podem ser indicadas para atividades com um alto potencial para produção de aerossóis ou perdigotos, e para as atividades envolvendo quantidades ou concentrações de produção de materiais infecciosos. As vacinas não se encontram atualmente a disposição para o uso em homens.

Transferência do Agente: Entre em contato com o Department of Commerce para uma licença de exportação do agente.

Agente: *Campylobacter (C. jejuni/C. coli, C. fetus subsp. fetus).*

O *C. jejuni* / *C. coli* gastroenteritis raramente é a causa de doenças associadas a laboratório, embora alguns casos adquiridos em laboratórios tenham sido documentados^{25, 26,27}. Numerosos animais domésticos e selvagens, incluindo aves, animais de estimação, animais de fazenda, animais de laboratório e pássaros selvagens são reconhecidos como reservatórios e são uma fonte potencial de infecção para as pessoas que cuidam destes animais e que trabalham no laboratório. Animais experimentalmente infectados também são uma fonte potencial de infecção²⁸.

Riscos em Laboratório: As *campylobacters* patogênicas podem ser encontradas em amostras fecais em grande número. A *C. fetus subsp. fetus* pode também estar presente no sangue, exudatos de abscessos, tecidos e escarro. A ingestão ou inoculação parenteral da *C. jejuni* constitui os riscos primários de um laboratório. A ingestão oral de 500 microorganismos provocou uma infecção em um indivíduo²⁹. A importância da exposição aos aerossóis não é conhecida.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são recomendadas para atividades que envolvam culturas ou materiais clínicos potencialmente infecciosos. As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são recomendadas para atividades com animais experimentalmente ou naturalmente infectados. As vacinas, atualmente, não se encontram a disposição para o uso em humanos.

Transferência do Agente: Para obtenção de uma licença para importação, entre em contato com o CDC.

Agente: *Chlamidia psittaci, C. pneumoniae, C. trachomatis.*

As infecções como a psitacose, tracoma e o linfogranuloma venéreo já foram, no passado, as infecções bacterianas mais

comuns associadas a laboratório³⁰. Em casos relatados antes de 1955³¹, a maioria das infecções diagnosticadas era de psitacose e esta era a doença que apresentava o mais alto índice de mortalidade de agentes infecciosos adquiridos em laboratório. O contato e a exposição aos aerossóis infecciosos ao manusear, cuidar ou realizar necropsias em animais naturalmente ou experimentalmente infectados são as maiores fontes de transmissão da psitacose associada a laboratório. Ratos e ovos infectados são fontes menos importantes do *C. psittaci*. Os animais de laboratório não são fontes relatadas de infecção humana com o *C. trachomatis*.

Riscos em Laboratório: A bactéria *C. psittaci* pode estar presente nos tecidos, fezes, secreções nasais e sangue de pássaros infectados, e no sangue, escarro e tecidos de homens infectados. A *C. trachomatis* pode estar presente nos líquidos genitais, bulbares e conjuntivais de homens infectados. A exposição aos aerossóis e perdigotos infecciosos produzidos durante o manuseio de pássaros e tecidos infectados é o risco primário para os trabalhadores de um laboratório que trabalham com a bactéria psitacose. Já os riscos primários em um laboratório em relação ao *C. trachomatis* se encontram na inoculação parenteral acidental e na exposição direta ou indireta das membranas mucosas dos olhos, nariz e boca aos líquidos genitais, bulbares e conjuntivais, aos materiais de culturas de células e aos líquidos de ovos infectados. Os aerossóis infecciosos também podem ser uma fonte potencial de infecção.

Precauções Recomendadas: As práticas, o equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são os recomendados para atividades envolvendo a necropsia de pássaros infectados e no diagnóstico de tecidos ou de culturas conhecidas por conterem ou por estarem potencialmente infectadas com a *C. psittaci* ou a *C. trachomatis*. Para reduzirmos o risco de formação de aerossóis de fezes e secreções nasais infectadas contidas nas asas e nas superfícies externas do pássaro, o melhor procedimento é molhar as asas dos pássaros infectados com um detergente-desinfetante antes de realizar a necropsia. As práticas, o equipamento de contenção, as instalações e a proteção respiratória do Nível de Biossegurança Animal 2 são os procedimentos indicados

para as pessoas que realizam trabalhos com pássaros engaiolados naturalmente ou experimentalmente infectados. Recomenda-se o uso de luvas para a necropsia dos pássaros e ratos, para a abertura de ovos inoculados e quando houver a possibilidade de contato direto da pele com tecidos infectados, líquido bulbar e outros materiais clínicos. As instalações e práticas do Nível de Biossegurança 3 são indicadas para as atividades com alto potencial de produção de perdigotos ou aerossóis e para as atividades envolvendo grandes quantidades ou concentrações de materiais infecciosos.

Observação: Atualmente, as vacinas para esses agentes não se encontram disponíveis para o uso humano.

Transferência dos Agentes: Para obter uma licença para exportação dos agentes, entre em contato com o Department of Commerce.

Agente: *Clostridium botulinum*

Embora só exista um relatório³² sobre o botulismo associado ao manuseio do agente ou da toxina no laboratório ou no trabalho com animais naturalmente ou experimentalmente infectados, as consequências de tais intoxicações ainda são consideradas bem graves. O trabalho com culturas de *C. botulinum* requer considerações especiais de segurança devido ao uso potencial destas culturas no terrorismo biológico.

Riscos em Laboratório: O *C. botulinum* ou a sua toxina pode estar presente em uma variedade de produtos alimentícios, em materiais clínicos (soro, fezes) e amostras do meio ambiente (solo, água de superfície). A exposição à toxina do *C. botulinum* é considerada o risco laboratorial primário. Esta toxina pode ser absorvida após a ingestão ou contato posterior com a pele, ou com as membranas mucosas, incluindo o trato respiratório. A inoculação parenteral acidental também representa uma significativa exposição à toxina. O crescimento das culturas em caldos quando sob ótima produção de toxina pode conter uma DL_{50} de 2×10^6 ratos por mL³⁴.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e instalações do Nível de Biossegurança 2 são as indicadas para todas as atividades com materiais conhecidos por conter ou potencialmente conter a toxina. Um toxóide pentavalente do botulismo (ABCDE) encontra-se disponível através dos Centers for Disease Control and Prevention, como uma nova droga de pesquisa (IND). Este toxóide é indicado para as pessoas que trabalham com culturas de *C. botulinum* ou com suas toxinas. Soluções de hipoclorito de sódio (0.1%) ou de hidróxido de sódio (0.1 N) inativam a toxina prontamente, e são recomendadas para a descontaminação das superfícies de trabalho e perdigotos de culturas ou de toxinas. Cuidados pessoais e contenção primária adicional, como as recomendadas para o Nível de Biossegurança 3, são indicadas para as atividades com um alto potencial para a produção de aerossóis ou perdigotos e para as atividades envolvendo quantidades grandes de toxinas. As práticas, equipamento de contenção e instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para estudos de diagnósticos e titulação da toxina.

Transferência do Agente: Para obter uma licença de importação para este agente, entre em contato com o CDC.

Agente: *Clostridium tetani*

Embora o risco de infecção da equipe do laboratório seja insignificante, cinco incidentes relacionados à exposição do pessoal durante a manipulação da toxina foram relatados³⁵.

Riscos em Laboratório: A inoculação parenteral acidental e a ingestão da toxina são consideradas como risco primário para a equipe laboratorial. Como não se tem certeza se a toxina pode ser absorvida através das membranas mucosas, os riscos associados aos aerossóis e perdigotos ainda permanecem desconhecidos.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para atividades envolvendo a manipulação de culturas

ou toxinas. Embora o risco de tétano associado a laboratório seja baixo, a administração de um toxóide tétano-difteria adulto em intervalos de 10 anos, reduz o risco de exposição à toxina e de contaminação por ferimento do pessoal do laboratório e dos tratadores de animais, e é, portanto, altamente recomendada³⁶. O leitor deverá consultar as atuais recomendações do Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) publicadas no CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) para a vacinação de adultos contra o *C. tetani*.

Transporte do Agente: Para obter uma licença de importação para esse agente, entre em contato com o CDC e com o Department of Commerce para uma licença de exportação. O registro do laboratório com o CDC será necessário antes do envio ou recebimento deste agente.

Agente: *Corynebacterium diphtheriae*

As infecções com o *C. diphtheriae* associadas a laboratório têm sido relatadas, mas as associadas a animais de laboratório ainda não foram relatadas³⁷.

Riscos em Laboratório: O agente pode estar presente em exudatos ou secreções de nariz, garganta (amígdala), faringe, laringe, ferimentos, sangue e sobre a pele. A inalação, a inoculação parenteral acidental e a ingestão são os riscos primários em um laboratório.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são as indicadas para todas as atividades utilizando materiais clínicos ou culturas potencialmente ou conhecidamente infectadas. Já as práticas do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para estudos que utilizem animais de laboratórios infectados. Embora o risco da difteria associado a laboratório seja baixo, a administração de um toxóide tétano-difteria adulto em intervalos de 10 anos pode posteriormente reduzir o risco de exposições à toxina e a trabalhos com materiais infecciosos pela equipe do laboratório e aos tratadores

de animais³⁸. O leitor deverá consultar as atuais recomendações do Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) publicadas no CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) para a vacinação contra o *C. diptheriae*.

Transferência do Agente: Para obtenção de uma licença para este agente, entre em contato com o CDC.

Agente: *Escherichia coli* (organismos produtores (VTEC/SLT) de citotoxina)

As cepas produtoras de citotoxina (VTEC/SLT) da *Escherichia coli* (também chamada de cepas enterohemorrágicas) são riscos comprovados para as pessoas que trabalham em laboratórios nos Estados Unidos e em outros locais^{39, 40, 41}. A síndrome urêmica hemolítica ocorre em uma pequena proporção de pacientes (geralmente crianças) e é a responsável pela maioria das mortes associadas às infecções com esses organismos. Os animais domésticos de fazendas (em particular os bovinos) são reservatórios significativos do organismo. Porém, os pequenos animais experimentalmente infectados também são fontes de infecções no laboratório.

Riscos em Laboratório: A *E. coli* enterohemorrágica é geralmente isolada nas fezes. Uma grande variedade de alimentos contaminados com esses agentes pode servir como veículo de transmissão e incluem a carne moída crua e produtos de laticínio não pasteurizados. Ela raramente é encontrada no sangue de homens e animais infectados. A ingestão é o risco laboratorial primário. A importância da exposição aos aerossóis ainda não é conhecida.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do nível de Biossegurança 2 são as indicadas para todas as atividades utilizando materiais clínicos ou culturas conhecidamente ou potencialmente infecciosos. Já as práticas do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para as atividades com animais naturalmente ou experimentalmente

infectados. Atualmente, as vacinas para uso em homens não se encontram a disposição. O leitor deve consultar as recomendações atualizadas do ACIP relacionadas no CDC *Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR) sobre a existência de indicações para a vacinação contra cepas enterohemorrágicas de *E. coli*.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida no CDC.

Agente: *Francisella tularensis*

A tularemia tem sido uma infecção bacteriana associada a laboratório comumente relatada⁴². Quase todos os casos ocorreram nas dependências onde a pesquisa da tularemia estava sendo realizada. Casos ocasionais têm sido relacionados ao trabalho com animais naturalmente ou experimentalmente infectados ou seus ectoparasitas. Embora não tenha sido relatado, existem casos que ocorreram em laboratórios. O trabalho com culturas de *F. tularensis* requer uma segurança especial devido ao seu potencial uso no terrorismo biológico.

Riscos em Laboratório: O agente pode estar presente em exudatos de lesões, secreções respiratórias, líquido cerebroespinal, sangue, urina, tecidos de animais infectados e líquidos de artrópodes infectados. O contato direto da pele ou de membranas mucosas com materiais infecciosos, inoculação parenteral acidental, ingestão e exposição aos aerossóis e perdigotos infecciosos resultaram em infecção. A infecção tem sido mais comumente associada às culturas do que aos materiais clínicos e animais infectados. A dose 25% a 50% infecciosa para homens é de aproximadamente 10 microorganismos pela via respiratória⁴³.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as dependências do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para as atividades com materiais clínicos de origem humana ou animal contendo ou potencialmente contendo *Francisella tularensis*. Já as práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 3 e do Nível de

Biossegurança Animal 3 são indicadas, respectivamente, para todas as manipulações de culturas e para estudos de animais experimentais.

Observação: A vacinação contra a *F. tularensis* encontra-se a disposição para a população e deve ser levada em consideração para as pessoas que trabalham com materiais infecciosos ou roedores infectados. A vacina também é recomendada para as pessoas que trabalham com o agente ou animais infectados e para aquelas que trabalham dentro ou que entram no laboratório ou na sala para animais onde as culturas ou animais infectados estão sendo mantidos⁴⁴. O leitor deverá consultar as recomendações atualizadas do Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) publicadas no CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) sobre as recomendações para vacinas contra a *F. tularensis*.

Transferência do Agente: Para obtenção de licença para importação do agente, entre em contato com o CDC. Se a licença for para exportação deste agente, entre em contato com o Department of Commerce. O registro do laboratório com o CDC é necessário antes do envio ou recebimento deste agente.

Agente: *Helicobacter pylori*

Desde a sua descoberta em 1982, a *Helicobacter Pylori* tem recebido uma grande atenção como um agente causador da gastrite⁴⁵. O habitat principal do *H. pylori* é a membrana mucosa gástrica humana. A infecção com este agente pode ser longa quanto à duração, com poucos ou nenhum sintoma, ou pode-se apresentar como uma doença gástrica aguda. Tanto as infecções humanas associadas a laboratórios experimentais ou as acidentais foram relatadas^{46, 47}. O agente pode estar presente nas secreções gástricas ou orais e nas fezes. A transmissão, embora não seja completamente clara, acredita-se ser através da via oral-fecal ou oral-oral.

Riscos em Laboratório: Este agente pode ser encontrado nas secreções gástricas e orais ou nas fezes. A ingestão é o principal

risco dentro de um laboratório. A importância da exposição aos aerossóis é desconhecida.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para as atividades com materiais clínicos e culturas conhecidamente ou potencialmente infectados por este agente. Já as práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para atividades com animais naturalmente ou experimentalmente infectados. Atualmente, as vacinas não se encontram a disposição para o uso em homens.

Transferência do Agente: A licença para importação do agente poderá ser obtida através do CDC.

Agente: *Leptospira interrogans* – todos os sorotipos

A leptospirose é um risco laboratorial muito bem documentado. Pike relatou 67 infecções associadas a laboratório e 10 mortes⁴⁸, e ainda três casos foram relatados em outros locais⁴⁹.

Um coelho infectado experimentalmente foi identificado como uma fonte de contaminação do *L. interrogans sorotipo icterohemorrhagiae*⁵⁰. O contato direto e indireto com líquidos e tecidos de mamíferos naturalmente ou experimentalmente infectados durante o manuseio, o cuidado, ou a necropsia é uma fonte potencial de infecção. Em animais com infecções renais crônicas, o agente é encontrado na urina em numerosas quantidades por longos períodos.

Riscos em Laboratório: O agente pode ser encontrado na urina, sangue e tecidos de animais e homens infectados. A ingestão, a inoculação parenteral acidental e o contato direto ou indireto da pele ou da membrana mucosa com culturas, tecidos ou líquidos corporais infectados – especialmente a urina – são considerados riscos laboratoriais primários. Ainda não se conhece a importância da exposição aos aerossóis.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são

indicadas para todas as atividades que envolvam o uso ou a manipulação de tecidos, líquidos corporais e culturas conhecidamente ou potencialmente infecciosas e para o alojamento de animais infectados. Recomenda-se o uso de luvas para o manuseio e a necropsia de animais infectados e quando houver uma possibilidade de contato direto da pele com os materiais infectados. Atualmente, as vacinas contra este agente não se encontram a disposição para uso em homens.

Transferência de Agentes: Uma licença para importação destes agentes poderá ser obtida junto ao CDC. Uma licença para importação ou transporte doméstico deste agente poderá ser obtida no USDA/APHIS/VS.

Agente: Listeria monocytogenes

A *Listeria monocytogenes* oferece um risco potencial para a equipe de laboratório. Os bacilos aeróbicos, gram-positivos e não formadores de esporos são hemolíticos e catalase positivos⁵¹. As bactérias têm sido isoladas no solo, poeira, alimento humano, animais e humanos assintomáticos^{52, 53}. A maioria dos casos de listerose aconteceram devido à ingestão de alimentos contaminados, mais notavelmente de queijos suaves, carne crua e vegetais crus não lavados⁵⁴. Embora adultos e crianças saudáveis possam contrair a infecção por *Listeria*, elas geralmente não adquirem uma doença séria. Já as mulheres grávidas, os recém-nascidos e as pessoas com um sistema imune deficiente fazem parte do grupo de risco e adquirem a forma grave da doença.

Riscos em Laboratório: A *Listeria monocytogenes* pode ser encontrada nas fezes, líquido cerebrospinal e no sangue, assim como em alimentos e materiais provenientes do meio ambiente^{55, 56}. Os animais naturalmente ou experimentalmente infectados são uma fonte de exposição aos trabalhadores de laboratório e as pessoas que zelam dos animais, e para outros animais. A ingestão é o modo de exposição mais provável, mas a *Listeria* também pode causar infecções nos olhos e na pele após uma exposição direta. As infecções causadas por este agente em mulheres grávidas ocorrem

com mais freqüência no terceiro semestre e podem precipitar o parto. A transmissão transplacentária deste agente oferece um grave risco ao feto e pode até resultar em um abscesso disseminado, contribuindo para o índice de mortalidade de aproximadamente 100%⁵⁷.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades com amostras clínicas e culturas reconhecidas ou suspeitas de conterem o agente. Recomenda-se o uso de luvas e proteção para os olhos ao manusear culturas infectadas. As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para atividades com animais naturalmente ou experimentalmente infectados. Atualmente, as vacinas não se encontram a disposição para uso humano⁵⁸. Mulheres grávidas que trabalham com este agente em um laboratório de diagnóstico ou de pesquisa deverão ser informadas sobre os riscos potenciais associados ao agente, incluindo os riscos potenciais para o feto.

Transferência do Agente: Uma licença para importação ou transporte doméstico deste agente poderá ser obtida através do USDA/APHIS/VS.

Agente: Legionella pneumophila, outros agentes semelhantes a Legionella.

Devido a uma presumida exposição aos aerossóis ou perdigotos durante estudos animais com o agente da Febre de Pontiac (*L. pneumophila*), um único documento apresentando um caso de legionelose associado a laboratório foi relatado⁵⁹. A transmissão de homem para homem ainda não foi documentada.

As infecções experimentais são prontamente produzidas em cobaias e ovos de galinha embrionários⁶⁰. Coelho de laboratórios também desenvolvem anticorpos, mas não a doença clínica, enquanto que os camundongos são resistentes a exposição parenteral. Estudos não publicados dos Centers for Disease Control

and Prevention mostram que a transmissão de animais para animais não acontece em uma variedade de espécies mamíferas e avícolas experimentalmente infectadas.

Riscos em Laboratório: Este agente pode ser encontrado no líquido pleural, tecido, escarro e fontes do meio ambiente (por exemplo, água de torre). Uma vez que o modo natural de transmissão aparentemente é via aérea, o maior risco potencial é a produção de aerossóis durante a manipulação de culturas ou de outros materiais que contenham uma grande concentração de microorganismos infecciosos (por exemplo, tecidos e o saco vitelino infectado).

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades envolvendo o uso ou a manipulação de materiais clínicos ou de culturas sabiamente ou potencialmente infecciosas. Já as práticas do Nível de Biossegurança 3 com dispositivos de contenção primários e equipamentos (por exemplo, cabines de segurança biológica, conchas de segurança em centrífugas) são usadas para atividades que possivelmente produzem aerossóis potencialmente infecciosos e para as atividades que envolvam quantidades de produção de microorganismos.

Observação: Atualmente, as vacinas para uso em homens não se encontram a disposição.

Transferência do Agente: A obtenção de uma licença para importação deste agente deverá ser feita através do CDC.

Agente: Mycobacterium leprae

A transmissão parenteral acidental da lepra de homens para homens tem sido relatada após a contaminação de um cirurgião através de uma picada acidental de uma agulha⁶¹, e através do uso de uma agulha para tatuagem provavelmente contaminada⁶². Não existem casos relatados que tenham sido provocados pelo trabalho

em um laboratório envolvendo biópsias ou outros materiais clínicos de origem humana e animal. Embora a lepra que ocorre naturalmente ou as doenças semelhantes à lepra tenham sido relatadas em tatus⁶³ e em primatas não humanos^{64, 65}, o ser humano é o único reservatório importante desta doença.

Riscos em Laboratório: O agente infeccioso pode ser encontrado em tecidos e exudatos de lesões de homens infectados e em animais naturalmente ou experimentalmente infectados. O contato direto da pele e das membranas mucosas com materiais e inoculações parenterais acidentais infecciosas é considerado risco primário de um laboratório, associado com o manuseio de materiais clínicos infecciosos.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades com materiais clínicos sabidamente ou potencialmente infecciosos de homens e animais infectados. Um cuidado especial deve ser tomado para evitar uma inoculação parenteral acidental com instrumentos cortantes contaminados. As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para estudos animais que utilizem roedores, tatus e primatas não humanos. Atualmente, as vacinas para uso em humanos não se encontram a disposição.

Transferência do Agente: Para obtenção de uma licença para importação deste agente deverá ser feita através do CDC.

Agente: *Mycobacterium spp. diferente do M. tuberculosis, M. bovis ou M. leprae.*

Pike relatou 40 casos de “tuberculose” não-pulmonar que se acreditava estar relacionada a acidentes ou incidentes ocorridos no laboratório ou na sala de autópsia⁶⁶. Provavelmente, essas infecções eram provocadas por um outro tipo de micobactéria que não a *M. tuberculosis* ou a *M. bovis*. Um número de micobactérias que são ubíquas na natureza é associado com outras doenças que

não a tuberculose ou a lepra em homens, animais domésticos e selvagens. Em relação às características, esses organismos são infecciosos, mas não são contagiosos. Já clinicamente, as doenças associadas com as infecções por essas “atípicas” bactérias podem ser divididas, em geral, em três categorias:

1. **Doenças semelhantes à tuberculose**, que podem estar associadas com a infecção pelo complexo *M. kansasii*, *M. avium* e raramente pelos *M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. asiaticum*, *M. simiae* e *M. szulgai*.
2. **Limfadenitis**, que podem estar associadas com a infecção pelo complexo *M. scrofulaceum*, *M. avium* e raramente pelo *M. fortuitum* e *M. kansasii*.
3. **Úlceras de pele e infecções de ferimentos do tecido mole**, que podem estar associadas com infecção pelo *M. ulcerans*, *M. marinum*, *M. fortuitum* e *M. chelonae*.

Riscos em Laboratório: Os agentes podem ser encontrados no escarro, exudatos de lesões, tecidos e em amostras do meio ambiente (por exemplo, solo e água). O contato direto da pele ou da membrana mucosa com materiais infecciosos, ingestão e inoculação parenteral acidental é o risco primário laboratorial associado aos materiais clínicos e às culturas. Um risco de infecção potencial aos trabalhadores de laboratório é também oferecido pelos aerossóis infecciosos criados durante a manipulação do caldo de culturas ou homogeneização de tecidos contendo esses organismos associados com a doença pulmonar.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para atividades com materiais clínicos e culturas de *Mycobacterium spp.* com exceção dos tipos *M. tuberculosis* ou *M. bovis*. As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para estudos animais com a micobactéria que não a *M. tuberculosis*, *M. bovis* ou *M. leprae*. Atualmente, as vacinas para uso humano ainda não se encontram disponíveis.

Transferência do Agente: A obtenção de uma licença para importação do agente deverá ser feita através do CDC.

Agente: Mycobacterium tuberculosis, M. bovis.

As infecções com a *Mycobacterium tuberculosis* e a *M. bovis* (incluindo a BCG) são um risco comprovado aos trabalhadores de laboratório assim como para outras pessoas que podem estar expostas aos aerossóis infecciosos no laboratório^{67, 68, 69, 70,71}. A incidência da tuberculose em pessoas que trabalham com a *M. tuberculosis* em laboratório tem sido relatada como sendo três vezes maior do que em pessoas que não trabalham com o agente. Primatas não-humanos infectados naturalmente ou experimentalmente são uma fonte comprovada de infecção humana (por exemplo, o índice de conversão anual de tuberculina em pessoas que trabalham com primatas não-humanos infectados é de aproximadamente 70/10. 000 se comparada ao índice de menos de 3/10. 000 da população em geral)⁷³. Cobaias ou camundongos experimentalmente infectados não oferecem o mesmo risco, uma vez que núcleos em perdigotos não são produzidos pela tosse nestas espécies; porém, o dejetos de animais infectados pode se tornar contaminado e servir como uma fonte de aerossóis infecciosos.

Riscos em Laboratório: Os bacilos da tuberculose podem ser encontrados no escarro, líquidos de lavagem gástrica, líquido cerebroespinal, urina e nas lesões em vários tecidos⁷⁴. A exposição aos aerossóis produzidos em laboratório é o risco mais importante encontrado. Os bacilos da tuberculose podem sobreviver em esfregaços fixados com o calor⁷⁵ e podem ser nebulizados na preparação de secções congeladas e durante a manipulação de culturas líquidas. Devido à baixa dose infecciosa do *M.tuberculosis* para homens (i.e., $DI_{50} < 10$ bacilos) e, em alguns laboratórios, um alto índice de isolamento de organismos resistentes ao ácido originado de amostras clínicas ($>10\%$)⁷⁶, o escarro e outras amostras clínicas de casos de tuberculose suspeitos ou já comprovados deve ser considerados potencialmente infecciosos e manipulados com os adequados cuidados.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do nível de Biossegurança 2 são

indicadas para as manipulações de materiais clínicos que não produzam aerossóis como a preparação de esfregaços ácido-resistentes. Todas as atividades que formem aerossóis deverão ser conduzidas em cabines de segurança biológicas Classe I ou II. Recomenda-se o uso de uma bandeja para aquecer a lâmina ao invés de secá-la em um Bico de Bunsen. A liquidificação ou a concentração do escarro para a coloração ácido-resistente pode também ser conduzida de forma segura em uma bancada aberta, tratando, primeiramente, a amostra (em uma cabine de segurança Classe I ou II) com um igual volume de solução de hipoclorito de sódio a 5% (branqueamento doméstico não diluído) e depois esperando 15 minutos antes da centrifugação^{77, 78}.

As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 3 são indicadas para atividades laboratoriais na propagação e manipulação de culturas de *M. tuberculosis* ou *M. bovis*, e para estudos animais que utilizem primatas não-humanos naturalmente ou experimentalmente infectados com a *M. tuberculosis* ou a *M. bovis*. Estudos animais utilizando cobaias ou camundongos podem ser conduzidos em um Nível de Biossegurança Animal 2⁷⁹.

Observação: O teste cutâneo com uma proteína purificada derivada (PPD) de pessoas que trabalham em laboratórios e que apresentem um teste cutâneo negativo podem ser usados como um procedimento de vigilância. Uma vacina de vírus vivo atenuado (BCG) encontra-se a disposição, mas não é usada nos Estados Unidos para equipes de laboratório. O leitor deve consultar as recomendações atuais do Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) publicadas no CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) para as recomendações atuais para vacinação.

Transferência do Agente: A obtenção de uma licença para importação deste agente é conseguida no CDC. Já a licença para importação e transporte doméstico do *M. bovis* deve ser obtida através do USDA/APHIS/VS.

Agente: *Neisseria gonorrhoeae*

As infecções gonocócicas associadas a laboratório têm sido relatadas nos Estados Unidos⁸⁰.

Riscos em Laboratório: Esse agente pode ser encontrado em exudatos cervicais, uretrais e conjuntivais, líquido sinovial, urina, fezes e líquido cerebrospinal. A inoculação parenteral acidental e o contato direto ou indireto da membrana mucosa com materiais infecciosos são os riscos primários laboratoriais conhecidos. A importância dos aerossóis não foi ainda determinada.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades que envolvam o uso ou a manipulação de materiais clínicos ou de culturas. Recomenda-se o uso de luvas ao manipular animais laboratoriais infectados e quando houver a possibilidade do contato direto da pele com os materiais infecciosos. Cuidados de contenção primária ou pessoal, como as descritas para o Nível de Biossegurança 3, podem ser indicados para a produção de perdigotos ou aerossóis e para as atividades envolvendo quantidades de produção ou concentrações de materiais infecciosos. As vacinas, atualmente, não estão disponíveis para uso em humanos.

Transferência do Agente: A obtenção e uma licença para importação deste agente deverão ser feitas através do CDC.

Agente: Neisseria meningitis

A meningite meningocócica é um risco demonstrado, mas raro de ocorrer com trabalhadores de laboratório^{81, 82,83}.

Riscos em Laboratório: O agente pode ser encontrado em exudatos faringíneos, líquido cerebrospinal, sangue e saliva. A inoculação parenteral, a exposição da membrana mucosa a perdigotos e a ingestão são os riscos primários para a equipe do laboratório.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades que utilizem líquidos corpóreos, tecidos e culturas conhecidamente ou potencialmente infecciosas.

Precauções pessoais e de contenção primária adicional, como as descritas para o Nível de Biossegurança 3, podem ser indicadas para atividades com um alto risco potencial para formação de perdigotos ou aerossóis, e para as atividades que envolvam quantidades de produção ou concentrações de materiais infecciosos.

Observação: As vacinas para a *N. meningitidis* estão disponíveis e devem ser consideradas para as pessoas que trabalham regularmente com materiais infecciosos. O leitor deve consultar as atuais recomendações do Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) publicadas no CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) para as recomendações sobre vacinação contra a *N. meningitidis*.

Transferência de Agentes: A obtenção de uma licença para importação deste agente deve ser feita através do CDC.

Agente: *Salmonella* – todos os sorotipos com exceção do typhi

A salmonelose é um risco documentado para as pessoas que trabalham em um laboratório^{84, 85,86}. Os hospedeiros - reservatórios primários incluem um amplo espectro de animais domésticos e selvagens incluindo os pássaros, mamíferos e répteis, sendo que todos podem servir como uma fonte de infecção para a equipe laboratorial.

Riscos em Laboratório: O agente pode ser encontrado nas fezes, sangue, urina e em alimentos, rações e materiais provenientes do meio ambiente. A ingestão ou a inoculação parenteral é um perigo primário para um laboratório. A importância da exposição aos aerossóis ainda é desconhecida. Animais naturalmente ou experimentalmente infectados são uma fonte potencial de infecção para funcionários do laboratório e para os que tratam dos animais, além de serem perigosos para outros animais também.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para as atividades com materiais clínicos e culturas

conhecidas por possuírem ou potencialmente conterem os agentes. As práticas, equipamento de contenção e instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são recomendadas para atividades com animais naturalmente ou experimentalmente infectados. As vacinas ainda não se encontram a disposição da população.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deve ser obtida através do CDC.

Agente: Salmonella typhi

A febre tifóide é um risco comprovado para pessoas que trabalham em laboratório^{87, 88, 89}.

Riscos em Laboratório: Esse agente pode ser encontrado nas fezes, sangue, vesícula biliar (bile) e urina. O ser humano é o único reservatório conhecido da infecção. A ingestão e a inoculação parenteral do agente representam o risco primário em laboratório. Não se conhece ainda a importância da exposição aos aerossóis.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades que utilizem materiais clínicos e culturas sabidamente ou potencialmente infecciosas. As práticas do Nível de Biossegurança 3 são indicadas para atividades que possivelmente provoquem a formação de aerossóis ou de atividades que envolvam quantidades de produção de microorganismos.

As vacinas para a *S. typhi* estão disponíveis no mercado e devem ser consideradas para as pessoas que trabalhem regularmente com materiais potencialmente infecciosos. O leitor deve consultar as recomendações atuais do Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) publicadas pelo CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) para as recomendações sobre a vacinação contra a *S. typhi*.

Transferência do Agente: A licença para importação pode ser conseguida através do CDC.

Agente: *Shigella* spp.

A shigelose é um risco comprovado aos trabalhadores de um laboratório, com dúzias de casos relatados só nos Estados Unidos e Grã-Bretanha^{90, 91, 92, 93}. Embora surtos tenham ocorrido em primatas não-humanos em cativeiro, somente o ser humano é considerado um reservatório significativo da infecção. Porém, cobaias, outros roedores e primatas não-humanos experimentalmente infectados também são fontes comprovadas de infecção.

Riscos em Laboratório: Esse agente pode ser encontrado nas fezes e raramente no sangue de animais e humanos infectados. A ingestão e a inoculação parenteral do agente são os riscos primários de um laboratório. A dose oral 25%-50% infecciosa do agente da *S. flexneri* para humanos é de aproximadamente 200 microorganismos⁹⁴. Ainda não se sabe a importância da exposição aos aerossóis deste agente.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades que utilizem materiais clínicos ou culturas sabidamente ou potencialmente infecciosas. Já as práticas e instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para atividades com animais infectados experimentalmente ou naturalmente. As vacinas não se encontram a disposição no mercado para uso em homens.

Transferência do Agente: A licença para a exportação deste agente deverá ser obtida no Department of Commerce.

Agente: *Treponema pallidum*

A sífilis é um risco comprovado para as pessoas de um laboratório que manipulam ou coletam materiais clínicos de lesões cutâneas. Pike relacionou 20 casos desta infecção associada a laboratório⁹⁵. O ser humano é o único reservatório conhecido deste agente. Um exemplo é o caso onde o agente foi transmitido a um indivíduo da equipe de um laboratório que trabalhava com uma suspensão concentrada do *T. pallidum* obtido de um coelho com

orquite experimental¹⁹⁶. A transferência hematogênica da sífilis tem ocorrido através da transfusão de uma unidade de sangue fresco obtida de um paciente com sífilis secundária. O *T. pallidum* se encontra presente na circulação durante a sífilis primária e secundária. O número mínimo de organismos do *T. pallidum* (DL₅₀) necessários para infectar um indivíduo através de uma injeção subcutânea é de 23⁹⁷. A concentração do *T. pallidum* no sangue de pacientes durante o início da sífilis, porém, ainda não foi determinada.

Nenhum caso de infecção associado a laboratórios animais foi relatado até o momento; porém cepas do *T. pallidum* (Nichols e possivelmente outras) adaptadas a coelhos conservaram suas virulências em homens.

Riscos em Laboratório: Esse agente pode ser encontrado em materiais coletados de lesões cutâneas, de membranas mucosas primárias e secundárias e no sangue. A inoculação parenteral acidental, o contato das membranas mucosas e de pele lesada com os materiais infecciosos e possivelmente com aerossóis infecciosos são os riscos primários para as pessoas que trabalham em laboratório.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades que envolvam o uso ou a manipulação de sangue ou material de lesões de homens ou de coelhos infectados. Recomenda-se o uso de luvas quando houver a possibilidade do contato direto da pele com os materiais da lesão. O monitoramento sorológico periódico deve ser considerado para pessoas que trabalham com materiais infecciosos. As vacinas, atualmente, não se encontram disponíveis para o uso em humanos.

Transferência do Agente: A licença para importação do agente de verá ser obtida através do CDC.

Agente: *Vibronic enteritis (Vibrio cholerae, V. parahaemolyticus).*

A enterite vibriônica causada pelo *Vibrio cholerae* ou pelo *Vibrio parahaemolyticus* é uma doença associada a laboratório

documentada, mas rara⁹⁸. Os animais naturalmente ou experimentalmente infectados são uma fonte potencial de infecção.

Riscos em Laboratório: Os vibriões patogênicos podem ser encontrados nas fezes. A ingestão do *V. cholerae* e a ingestão ou inoculação parenteral de outros vibriões constituem os riscos primários laboratoriais. A dose infecciosa oral humana é de aproximadamente 10^6 organismos⁹⁹. A importância da exposição aos aerossóis ainda é desconhecida. O risco de infecção após uma exposição oral pode ser aumentado em indivíduos aclorídricos.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para atividades com culturas ou materiais clínicos potencialmente infecciosos. Já as práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicados para atividades com animais naturalmente ou experimentalmente infectados. Embora existam vacinas contra a cólera, não se recomenda o uso rotineiro pela equipe laboratorial. O leitor deve consultar as atuais recomendações do Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) publicadas no CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) sobre as recomendações para a vacinação humana contra *V. parahaemolyticus*.

Transferência do Agente: A licença para exportação deste agente deverá ser obtida através do Department of Commerce.

Agente: Yersinia pestis

A peste é um risco laboratorial comprovado, mas raro. Nos Estados Unidos há relatos desta infecção^{100, 101}. O trabalho com o *Y. pestis* requer considerações especiais de segurança devido ao seu alto uso potencial no terrorismo biológico.

Riscos em Laboratório: Este agente pode ser encontrado no líquido bulbar, sangue, escarro, líquido cerebrospinal, fezes e urina humana, dependendo da forma clínica e estágio da doença.

Os riscos primários para a equipe do laboratório se constituem do contato direto com culturas e materiais infecciosos de homens ou animais, aerossóis ou perdigotos infecciosos produzidas durante a manipulação de culturas e de tecidos infectados. Na necropsia de roedores, o risco primário para a equipe laboratorial inclui a inoculação parenteral acidental, a ingestão e a picada de pulgas infectadas coletadas em roedores.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades que envolvam o manuseio de materiais clínicos e culturas potencialmente infecciosas. Deve-se tomar um cuidado especial para evitar a produção de aerossóis de materiais infecciosos e durante a necropsia de roedores naturalmente ou experimentalmente infectados. Recomenda-se o uso de luvas ao manusear roedores de laboratório coletados no campo ou infectados e quando houver a possibilidade do contato direto da pele com os materiais infecciosos. A necropsia de roedores é idealmente conduzida em uma cabine de segurança biológica. Precauções individuais e de contenção primária adicional, como as descritas para o Nível de Biossegurança 3, são recomendadas para atividades com um alto potencial para formação de perdigotos ou aerossóis, para o trabalho com cepas resistentes a antibióticos e para as atividades envolvendo quantidades ou concentrações de produção de materiais infecciosos.

Observação: A vacina para o *Y. pestis* está à disposição para uso em humanos e deve ser usada pela equipe do laboratório que trabalha com materiais infecciosos ou roedores infectados. O leitor deve consultar as recomendações atuais do Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) publicadas no CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) para maiores informações sobre a vacinação contra o *Y. pestis*.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida através do CDC. Já a licença para exportação deve ser conseguida através do Department of Commerce. É necessário o registro do laboratório junto ao CDC antes do envio ou recebimento deste agente.

Referências:

1. Ellingson, H.V., et al. 1946. Cutaneous anthrax: report of twenty-five cases. *JAMA* **131**: 1105-8.
2. Pike, R.M. 1976. Laboratory-associated infections: Summary and analysis of 3.921 cases. *HLth Lab Sci* **13**: 105-114.
3. Linneman, C.C., et al. 1975. Use of pertussis vaccine in an epidemic involving hospital staff. *Lancet* **2**: 540.
4. Kurt, T.L., et al. 1972. Spread of pertussis by hospital staff. *JAMA* **221**: 264.
5. Morse, S.I. 1968. Pertussis in Adults (editorial). *Ann Intern Med.* **68**: 953.
6. Kurt, T.L., et al. 1972. (4)
7. Linneman, C.C., et al. 1975 (3)
8. Nelson, J.D. 1978. The changing epidemiology of pertussis in young infants. The role of adults as reservoirs of infection. *Am J Dis Child* **132**: 371.
9. McKinney, R.W., et al. 1985. XXVII Biological Safety Conference, Salk Institute for Biological Studies, La Jolla, CA.
10. Parker, C. 1992. Dept. of Microbiology, University of Missouri, Columbia, Missouri (personal communication).
11. Burstyn, D.G., et al. 1983. Serological response to filamentous hemagglutinin and lymphocytosis-promoting toxin of *Bordetella pertussis*. *Infection and Immunity* **41**:1150-6.
12. Centers for Disease Control. 1985. Pertussis- Washington, 1984. *MMWR* **34**(26): 90-400.
13. Miller, C.D., Songer, J.R., and Sullivan, J.F. 1987. A twenty-five year review of laboratory-acquired human infections at the National Animal Disease Center. *Am Ind Hyg Assoc J* **48**:271-275.
14. Olle-Goig, J. and Canela-Soler, J.C. 1987. An outbreak of *Brucella melitensis* infection by airborne transmission among laboratory workers. *Am J Publ HLth* **77**:335-338.
15. Pike, R.M. 1976 (2)
16. Morriset, R. and Spink, W.W. 1969. Epidemic canine brucellosis due to a new species, *Brucella canis*. *Lancet* **2**:1000-2.
17. Pike, R.M. 1976. (2).
18. Spink, W.W. 1956. *The nature of Brucellosis*. Minneapolis, The University of Minnessota Press, pp. 106-108.
19. Grammont-Cupillard, M., L. Berthet-Badetti and P. Dellamonica. 1996. *Lancet* **348**: 1733-1734.

20. Huddleson, I.F. and Munger, M. 1940. A study of an epidemic of brucellosis due to *Brucella melitensis*. Am J Public Health **30**:944-954.
21. Staszkiwicz, J., C.M. Lewis, J. Coville, M. Zervos and J. Band. 1991. Outbreak of *Brucellosis melitensis* among microbiology laboratory workers in a community hospital. J. Clin. Microbiol. **29**:278-290.
22. Nicoletti, P. 1990. Vaccination against Brucella. Advances in Biotechnological Processes **13**: 147-168.
23. Green, R.N. and Tuffnell, P.G. 1968. Laboratory-acquired melioidosis. Am J Med **44**: 599-605.
24. Schelech, W. F., et al. 1981. Laboratory-acquired infection with *Pseudomona pseudomallie*(melioidosis). N Eng J Med **305**: 1133-1135.
25. Oates, J.D. and Hodgins, U.G., Jr. 1981. Laboratory-acquired *Campylobacter enteritis*. South Med J **74**:83.
26. Penner, J.L., et al. 1983. Application of serotyping and chromosomal restriction endonuclease digest analysis in investigating a laboratory-acquired case of *Campylobacter jejuni enteritis*. J Clin Microbiol **18**: 1427-1428.
27. Prescott, J.F. and Karmali, M.A. 1978. Attempts to transmit *Campylobacter enteritis* to dogs and cats (letter). Can Med Assoc J **119**: 1001-1002.
28. Prescott, J.F. and Karmali, M.A. 1978. (25)
29. Robinson, D.A. 1981. Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. Brit Med J **282**:1584.
30. Miller, C.D., Songer, J.R., and Sullivan, J.F. 1987. (13).
31. Pike, R.M. 1976. (2)
32. Sterne, M. and Wertzell, L.M. 1950. A new method of large-scale production of high-titer botulinum formol-toxoid inhalation types C and D. J Immunol **65**: 175-183.
33. Holzer, E. 1962. Botulism caused by inhalation. Med Klin **41**: 1735-1740.
34. Sterne, M. and Wertzell, L.M. 1950 (30).
35. Pike, R.M. 1976. (2)
36. Centers for Disease Control. 1981. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) Diphtheria, Tetanus and Pertussis. MMWR **30**(32): 392-396.
37. Pike, R.M. 1976. (2)
38. Centers for Disease Control. 1981. (34).

39. Anonymous. 1994. Laboratory acquired infection with *Escherichia coli* O 157. Communicable Disease Weekly **4**(7):29
40. Rao, G.G, B.P. Saunders and R.G. Masterton. 1996. Laboratory-acquired verotoxin producing *Escherichia coli* (VTEC) infection. J. Hospital Infection **33**(3):228-230.
41. Burnens, A.P., R. Zbinden, L. Kaempf, I. Heinzer and J. Nicolet. 1993. A case of laboratory-acquired infection with *Escherichia coli* O 157:H7. Zentralblatt fur Bakteriologie 279:512-517.
42. Pike, R.M. 1976. (2).
43. Burke, D.S. 1977. Immunization against tularemia: Analysis of the effectiveness of live *Francisella tularensis* vaccine in prevention of laboratory-acquired tularemia. J Infect Dis **137**: 55-60.
44. Burke, D.S. 1977 (41).
45. Marshall, B.J., and J.R. Warren, 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet **i**:1311-1315.
46. Marshall, B.J., J.A. Armstrong, D.B. McGeachie and R.J. Glancy. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric Campylobacter. 1985. Med J. Aust. **142**:436-439.
47. Matysiak-Budnik, T., F. Briet, M. Heyman and F. Megraud. 1995. Laboratory-acquired *Helicobacter pylori* infection. Lancet **346**:1489-1490.
48. Pike, R.M. 1976 (2)
49. Miller, C.D., Songer, J.R., and Sullivan, J.F. 1987 (13).
50. Richardson, J.H. 1973. Provisional Summary of 109 laboratory-acquired infections at the Centers for Disease Control, 1947-1973. Presented at the 16th Annual Biosafety Conference, Ames, Iowa.
51. Schuchat, A., Swaminathan, B., Broome, C.V. 1991 Epidemiology of Human Listeriosis, *Clin. Microbiol. Ver.* **4**: 169-83.
52. Armstrong, D. *Listeria Monocytogenes*. In: Principles and Practices of Infectious Diseases, Mandell, G.L., Bennet, J.E., Dolin, R., Eds. (Churchill Livingstone, New York, 1995) pp. 1880-1.
53. Schuchat A., Swaminathan, B., Broome, C.V. 1991. (49).
54. Centers for Disease Control and Prevention. 1992. Update: Foodborne Listeriosis- United States, 1988-1990. MMWR. **41**: 251-7.
55. Armstrong, D. 1995. (50).
56. Schuchat, A., Swaminathan, B., Broome, C.V. 1991. (49)
57. Armstrong, D. 1995. (50).
58. Gellin, B.C. and Broome, C.V. 1976. Listeriosis. JAMA. **261**:1313-20.

59. Centers for Disease Control., 1976. Unpublished data. Center for Infectious Disease. U.S Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service.
60. McDade, J.E. and Sheparh, C.C. 1979. Virulent to avirulent conversions of Legionnaire's disease bacterium (*Legionella pneumophila*) – Its effect on isolation techniques. J. Infect Dis **139**:707-711.
61. Marchoux, P.E. 1934. Un cas d'inoculation accidentelle du bacille de Hanson en pays non lepreux. Int. J. Lepr **2**:1-7.
62. Parrit, R.J. and Olsen, R.E. 1974. Two simultaneous cases of leprosy developing in tattoos. Am J Patol **23**:805-817
63. Walsh. G.P. et al. 1975. Leprosy-like disease occurring naturally in armadillos. J Reticuloendothel Soc **18**:347-351.
64. Donham, K.J. and Leininger, J.R. 1997. Spontaneous leprosy-like disease in a chimpanzee, J. Infect. Dis **136**:132-136.
65. Meyers, W.M., et al. 1980. Naturally acquired leprosy in a mangabey monkey (*Cercocebus sp.*) Int J Lepr **48**:495-496.
66. Pike, R.M. 1976. (2).
67. Grist, N.R. and Emslie, J.A.N. 1985. Infections in British clinical laboratories, 1982-3. J Clin Pathol **38**:721-725.
68. Miller, C.D. Songer, J.R., and Sullivan, J.F. 1987 (13)
69. Müller, H.E. 1988. Laboratory-acquired mycobacterial infection. Lancet **2**:331.
70. Pike, R.M. 1976 (2).
71. Pike, R.M., Sulkin, S.E. and Schulze, M.L. 1965. Continuing importance of laboratory-acquired infections. Am J Public Health **55**: 190-199.
72. Reid, D.D. 1957. Incidence of tuberculosis among workers in medical laboratories. Brit Med **2**:10-14.
73. Kaufmann, A.F. and Anderson, D.C. 1978. Tuberculosis control in nonhuman primates. IN:Montali, R.J. (ed). *Mycobacterial Infections of Zoo Animals*. Washington, D.C.:Smithsonian Institution Press, 227-234.
74. Anonymous. 1980. Tuberculosis infection associated with tissue processing. Cal Morbid **30**.
75. Allen, B.W. 1981. Survival of tubercle bacilli in heat-fixed sputum smears. J Clinic Pathol **34**:719-722.
76. Good, R.C. and Snider, D.E., Jr. 1982. Isolation of nontuberculosis mycobacteria in the U.S., 1980. J Infect Dis **146**:829-833.
77. Smithwick, R.W. and Stratigos, C.B. 1978. Preparation of acid-fast microscopy smears for proficiency testing and quality control. J Clin Microbiol **8**:110-111.

78. Oliver, J. and Reusser, T.R. 1942. Rapid method for the concentration of tubercule bacilli. *Am Ver Tuberc* 45:450-452.
79. Richmond, J.Y., Knudsen, R.C., and Good, R.C. 1996. Biosafety in the clinical mycobacteriology laboratory. *Clin Mycobac* 16(3):527-550.
80. Diena, B.B., et al. 1976. Gonococcal conjunctivitis: accidental infection. *Can Med Assoc J.* 115:609-612.
81. Bacteriologist dies of meningitis. 1936. *JAMA.* 106:129.
82. Centers for Disease Control. 1991. Laboratory-acquired meningococcemia – California and Massachusetts. *MMWR* 40(3):46-47,55.
83. Pike, R.M. 1979. Laboratory-associated infections: incidence, fatalities, causes and prevention. *Ann Ver Microbiol* 33:41-66.
84. Grist, N.R. and Emslie, J.A.N. 1987. Infections in British clinical laboratories, 1984-5. *J Clin Pathol* 40:826-829.
85. Miller, C.D., Songer, J.R., and Sullivan, J. F. 1987. (13).
86. Pike, R.M. 1976. (2)
87. Blaser, M.J., et al. 1980. *Salmonella typhi*: the laboratory as a reservoir of infection. *J. Infect Dis* 142:934-938.
88. Grist, N.R. and Emslie, J.A.N. 1985. (65).
89. Pike, R.M. 1979. (85).
90. Grist, N.R. and Emslie, J.A.N. 1985 (65).
91. Grist, N.R. and Emslie, J.A.N. 1987 (84).
92. Jacobson, J.T., Orlob, R.B., Clayton, J.L. 1985. Infections acquired in clinical laboratories in Utah, *J Clin Microbiol* 21:486-489.
93. Pike, R.M., 1976 (2).
94. Wedum, A.G. Barkley, W.E., and Hellman, A 1972. Handling of infectious agents. *J Am Vet Med Assoc* 161:1557-1567.
95. Pike, R.M. 1976 (2).
96. Fitzgerald, J.J., Johnson, R.C., and Smith, M. 1976. Accidental laboratory Infection with *Treponema pallidum*, Nichols strain, *J Am Vener Dis Assoc* 3:76-78.
97. Magnuson, H.J. et al. 1956. Inoculation syphilis in human volunteers. *Medicine* 35:33-82.
98. Pike, R.M. 1979. (85)
99. Levine, M.M. et al. 1983. New knowledge on pathogenesis of bacterial enteric infections as applied to vaccine development. *Microbiol Reviews* 47:510-550.
100. Burmeister, R.W., Tigertt, W.D., and Overholt, E.L. 1962. Laboratory-acquired pneumonic plague. *Ann Intern Med* 56:789-800.
101. Pike, R.M. 1976. (2)

• Seção VII-B: Agentes Fúngicos

Agente: *Blastomyces dermatitidis*

Infecções locais associadas a laboratório têm sido relatadas após a inoculação parenteral acidental com tecidos ou culturas infectadas contendo formas da *B. dermatitidis* semelhantes à levedura^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,8}. Infecções pulmonares ocorreram depois de uma suposta inalação de conídios; duas pessoas desenvolveram pneumonia e uma apresentou uma lesão osteolítica de onde se retirou amostra da *B. dermatitis* para cultura^{9,10}. Provavelmente, as infecções pulmonares estão associadas somente às formas semelhantes à levedura formadoras de esporos (conídio).

Riscos em Laboratório: Formas semelhantes a leveduras podem ser encontradas nos tecidos de animais infectados e em amostras clínicas. A inoculação parenteral (subcutânea) destes materiais pode provocar granulomas locais. As culturas das formas fúngicas da *B. dermatitidis* contendo conídios infecciosos, solo processado ou outras amostras ambientais podem oferecer um risco quanto à exposição aos aerossóis.

Precauções Recomendadas: As práticas e as instalações do Nível de Biossegurança 2 e Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para as atividades com materiais clínicos, tecidos animais, culturas, amostras ambientais e animais infectados.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida através do CDC. O registro do laboratório junto ao CDC deverá ser obtido antes do envio ou recebimento deste agente.

Agente: *Coccidioides immitis*

A coccidioidomicose adquirida em laboratório é um risco documentado^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21,22}. Smith relatou que de 31 infecções adquiridas em laboratórios da sua instituição, 28 (90%) resultaram em uma doença clínica, onde mais da metade destas infecções adquiridas na natureza eram assintomáticas²³.

Riscos em Laboratório: Devido ao tamanho (2-5 milimicrons), os artroconídios tendem a ser prontamente espalhados no ar e retidos nos profundos espaços pulmonares. Quanto maior o tamanho da esférula (30-60 milimicrons) mais reduzida será a eficácia desta forma de fungo como um patógeno aéreo.

As esférulas dos fungos podem estar presentes em amostras clínicas e tecidos animais. Já os artroconídios infecciosos são encontrados em culturas e solo mofados ou em outras amostras de locais naturais. A inalação do artroconídio contido nas amostras ambientais ou nas culturas da forma fúngica é um perigo sério dentro de um laboratório. Um risco teórico dentro de um laboratório é imposto por amostras clínicas ou tecidos de animais ou homens infectados que foram armazenados ou embalados de forma a produzir a germinação de artroconídios. Há um único relatório sobre um veterinário com uma coccidiomicose que se iniciou 13 dias depois da autópsia de um cavalo com esta infecção, embora o veterinário morasse em uma área endêmica²⁴. A inoculação percutânea acidental da esférula pode resultar na formação de um granuloma local²⁵. A doença disseminada ocorre com uma frequência muito maior em negros e em filipinos do que em brancos.

Precauções Recomendadas: As práticas e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para o manuseio e processamento de amostras clínicas, identificação isolada e processamento dos tecidos animais. Já as práticas e as instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para estudos de experimentação animal quando a via de transmissão do agente é a via parenteral.

As práticas e as instalações do Nível de Biossegurança 3 são indicadas para a reprodução e manipulação de culturas que formam esporos já identificados como *C. immitis*, e para o processamento de solo ou outros materiais do meio ambiente que contenham ou possivelmente contenham artroconídios infecciosos.

Transferência do Agente: a licença para importação deste agente deverá ser obtida através do CDC. O registro do laboratório deverá ser obtido junto ao CDC antes do envio ou recebimento deste agente.

Agente: *Cryptococcus neoformans*

A inoculação acidental de uma pesada quantidade de *Cryptococcus neoformans* nas mãos de um trabalhador de laboratório ocorreu durante a injeção ou a necropsia de animais de laboratórios^{26, 27}. Mas não houve a formação de um granuloma local e nem uma lesão, sugerindo uma baixa patogenicidade por esta via. As infecções respiratórias como consequência de exposição laboratorial ainda não foram registradas.

Riscos em Laboratório: A inoculação parenteral acidental de culturas ou de outros materiais infecciosos representa um risco potencial para a equipe laboratorial, particularmente àqueles que possam estar imunodeprimidos. Mordidas de camundongos experimentalmente infectados e as manipulações de materiais do meio ambiente infeccioso (por exemplo, excrementos de pombos) também representam um risco primário ao pessoal do laboratório.

Precauções Recomendadas: As práticas e as instalações do Nível de Biossegurança 2 e do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas, respectivamente, para atividades com materiais clínicos, ambientais ou de culturas sabidamente ou potencialmente infecciosas e ainda com animais infectados experimentalmente.

O processamento do solo ou de outros materiais do meio ambiente que contenha ou que potencialmente contenha células infecciosas semelhantes à levedura deverá ser conduzida em cabines de segurança biológicas Classe I ou II. Esta precaução também é indicada para a cultura do estado perfeito ou sexual do agente.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida através do CDC.

Agente: *Histoplasma capsulatum*

A histoplasmose associada a laboratório é um risco comprovado em instalações onde são conduzidos trabalhos de

investigação ou de diagnósticos^{28, 29, 30}. As infecções pulmonares são resultantes de culturas que formam fungos³¹. Já uma perfuração na pele durante uma autópsia de um indivíduo infectado³² e uma inoculação parenteral acidental de uma cultura viável³³ provoca uma infecção local. A coleta e processamento de amostras de solo retiradas de áreas endêmicas têm provocado infecções pulmonares em trabalhadores de laboratório. Os esporos encapsulados são resistentes a secagem e podem permanecer viáveis durante longos períodos de tempo. O pequeno tamanho do conídio infeccioso (menos que 5 microns) possibilita sua dispersão no ar e a retenção intrapulmonar. Furcolow relatou que em camundongos 10 esporos foram quase que tão infecciosos quanto uma dose letal de 10.000 a 100.000 esporos³⁴.

Riscos em Laboratório: O estágio infeccioso deste fungo dimórfico (conídio) está presente nas culturas de formas esporuladas e no solo de áreas endêmicas. A forma de levedura em tecidos ou líquidos de animais infectados pode produzir uma infecção local após uma inoculação parenteral. As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 e Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para o manuseio e processamento de materiais clínicos, identificação de substâncias isoladas, tecidos animais e culturas fúngicas, identificação de culturas na rotina de laboratórios de diagnósticos e para estudos animais experimentais quando a via do agente for parenteral.

As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 3 são indicadas para a reprodução e manipulação de culturas já identificadas como de *H. capsulatum*, e para o processamento de solo ou de outros materiais ambientais conhecidos por conter ou possivelmente conter conídio infeccioso.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deve ser feita através do CDC.

Agente: Sporothrix schenckii

O *S. schenckii* tem causado um número expressivo de infecções locais na pele e nos olhos de pessoas que trabalham em

laboratórios³⁵. A maioria dos casos está associada a acidentes que ocorrem com borrifos do material de uma cultura dentro do olho^{36, 37}, arranhão³⁸ ou mordida de um animal infectado^{40, 41} ou ao injetar³⁹ material infectado na pele. As infecções dermatológicas são causadas também pelo manuseio de culturas^{42, 43} ou necropsias de animais⁴⁵ sem que ocorra um conhecido erro técnico na hora do procedimento. Não houve nenhum caso de infecção pulmonar resultante da exposição laboratorial, embora se supõe que a doença pulmonar tenha ocorrido naturalmente como resultado de uma inalação.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 e do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para todas as atividades em laboratórios e em atividades com experimentação animal com *S. schenckii*. Recomenda-se o uso de luvas ao manusear animais experimentalmente infectados e durante operações com culturas líquidas (caldos) que possam resultar em uma contaminação da mão.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: *Membros patogênicos dos Gêneros Epidermophyton, Microsporum e Trychophyton.*

Embora as infecções de pele, cabelo e unhas provocadas por estes fungos dermatofítes estejam entre as infecções humanas mais frequentes, o processamento do material clínico ainda não foi associado às infecções laboratoriais. As infecções relatadas foram adquiridas através de contatos com animais de laboratórios naturalmente ou experimentalmente infectados (camundongo, cobaias, etc.) e ocasionalmente com o manuseio de culturas^{46, 47, 48, 49}.

Perigos em Laboratório: Os agentes podem ser encontrados na pele, cabelo e unhas de hospedeiros humanos e animais. O contato com animais de laboratórios infectados que apresentem

infecções aparentes ou não aparentes é considerado como risco primário para a equipe do laboratório. As culturas e materiais clínicos não são uma fonte importante de infecção humana.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 e do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para todas as atividades em laboratórios e em atividades com experimentação animal com os dermatofitídes. Os animais infectados experimentalmente devem ser manipulados com luvas descartáveis.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: Fungos diversos

Vários fungos têm provocado sérias infecções em hospedeiros imunocompetentes após uma provável inalação ou inoculação parenteral acidental de fontes do meio ambiente. Esses agentes são os *Penicillium marneffe*, *Exophiala (Wangiella) dermatitidis*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Ochroconis gallopavum*, *Claudophialopora bantians* e *Ramichlorisium mackenzieim*. Embora nenhuma infecção causada por grande parte destes agentes associados a laboratórios tenha sido registrada, a gravidade desta patologia adquirida naturalmente é suficiente para adotarmos cuidados especiais no laboratório. O *Penicillium marneffe* causou uma infecção local por inoculação acidental em um laboratorista⁵⁰. Já o *Stachybotrus atra* provavelmente não é o agente causador da infecção em seres humanos quando o fungo ou fomitais contidos no mofo são inalados, embora a ingestão de grãos mofados que possuíam o fungo tenha envenenado animais.

Riscos em Laboratório: A inalação de conídios em culturas de fungos com esporos ou a injeção acidental na pele durante um procedimento de infecção de animais de experimentação são riscos teóricos aos trabalhadores de um laboratório.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para a reprodução e manipulação de culturas conhecidas por conterem esses agentes.

Transferência do Agente: A licença para importação deverá ser obtida junto ao CDC.

Referências:

1. Evans, N. 1903. A clinical report of a case of blastomycosis of the skin from accidental inoculation. *JAMA* **40**:1172-1175.
2. Harrel, E.R. 1964. The known and the unknown of the occupational mycoses, p. 176-178. In: *Occupational Diseases Acquired from Animals*. Continued Education Series Nº 124, Univ Mich Sch Pub Hlth, Ann Arbor, MI.
3. Larsh, H. W. and Schwartz, J. 1977. Accidental inoculation-blastomycosis. *Cutis* **19**:334-336.
4. Larson, D.M., et al. 1983. Primary cutaneous (inoculation) blastomycosis: an occupational hazard to pathologists. *Amer J Clin Pathol* **79**:253-25.
5. Segretain, G. 1959. *Penicillium mamefii*, n. sp., agent d'une mycose du systeme reticulo-endothelial. *Mycopathol Mycol Appl* **11**:327-353
6. Wilson, J.W., et al. 1955. Primary cutaneous North American blastomycosis. *Arch Dermatol* **71**:39-45.
7. Graham, W.R. Jr., Callaway, J.L. 1982. Primary inoculation blastomycosis in a veterinarian. *J Am Acad Dermatol* **7**:785-786.
8. Schawarz, J. and Kauffam, C.A. 1977. Occupational hazards from deep mycoses. *Arch Dermatol* **113**:1270-1275.
9. Baun, G.L., Lerner, P.I. 1971. Primary pulmonary blastomycosis: a laboratory acquired infection. *Ann Intern Med* **73**:263-265.
10. Denton, J.F., DiSalvo, A.F., and Hirsch, M.L. 1967. Laboratory-acquired North American blastomycosis. *JAMA* **199**:935-936.
11. Bush, J.D. 1943. Coccidioidomycosis. *J Med Assoc Alabama* **13**:159-166.
12. Conant, N.F. 1955. Development of a method for immunizing man against coccidioidomycosis, Third Quarterly Progress Report. Contract DA-18-064-CML-2563, Duke University, Durham, NC. Available from Defense Documents Center, AD 121-600.
13. Dickson, E.C. 1937. Coccidioides infection: Part I. *Arch Intern Med* **59**:1029-1044
14. Dickson, E.C. 1937. "Valley fever" of the San Joaquin Valley and fungus Coccidioides. *Calif Western Med* **47**:151-155.
15. Dickson, E.C. and Gifford, M.A. 1938. Coccidioides infection (coccidioidomycosis): II. The primary type of infection. *Arch Intern Med* **62**:853-871.

16. Klutsch, K., et al. 1965. Zur Klinik der Coccidioidomykose. Deut Med Wochensh **90**:1498-1501.
17. Looney, J.M. and Stein, T. 1950. Coccidioidomycosis. N Engl J Med **242**:77-82.
18. Nabarro, J.D.N. 1948. Primary pulmonary coccidioidomycosis: Case of laboratory infection in England. Lancet **1**:982-984.
19. Smith, C.E. 1950. The hazard of acquiring mycotic infections in the laboratory. Presented at 78th Ann. Meeting Am Pub Hlth Assoc, St. Louis, MO.
20. Smith, C.E., et al. 1961. Human coccidioidomycosis. Bacteriol Ver **25**:310-320.
21. Smith, D.T. and Harrell, E.R., Jr. 1948. Fatal Coccidioidomycosis: A case of laboratory infection. Am Ver Tuberc **57**:368-374.
22. Schwarz, J. and Kauffman, C.^a 1977. (8)
23. Wilson, J.W., Smuth, C.E., and Plunkett, O.A. 1953. Primary cutaneous coccidioidomycosis: the criteria for diagnosis and a report of a case. Calif Med **79**:233-239.
24. Kohn, G.J., Linee, S.R., Smith, C.M., Hoeprich, P.D. Acquisition of coccidioidomycosis by inhalation of coccidioidal endospores. Diagn Microbiol Infect Dis **15**:527-530.
25. Tomlinson, C.C. and Bancroft, P. 1928. Granuloma Coccidioides: Report of a case responding favorably to antimony and potassium tartrate. JAMA **91**:947-951.
26. Halde, C. 1964. Percutaneous *Cryptococcus neoformans* inoculation without infection. Arch Dermatol. **89**:545.
27. Casadevall, A., Mukherjee J., Yuan, R, Perfect, J. 1994. Management of injuries caused by *Cryptococcus neoformans*-contaminated needles. Clin Infect Dis **19**:951-953.
28. Pike, R.M. 1978. Past and present hazards of working with infectious agents. Arch Path Lab Med **102**:333-336.
29. Pike, R.M. 1976. Laboratory-associated infectionsL: Summary and analysis of 3,921 cases. Hlth Lab Sci **13**:105-114.
30. Schwarz, J. and Kauffman, C.A. 1977. (8)
31. Murray, J.F. and Howard, D.H. 1964. Laboratory-acquired histoplasmosis. Am Ver Respir Dis **89**:631-640.
32. Tosh, F.E., et al. 1964. Primary cutaneous histoplasmosis: Report of a case. Arch Intern Med **114**:118-119.
33. Tesh, R.B. and Schneiday, J.D. Jr. 1966. Primary cutaneous histoplasmosis. New Engl J Med **275**:597-599.
34. Furcolow, M.L. 1961. Airborne Histoplasmosis. Bact Ver **25**:301-309.

35. Ishizake, H., Ikeda, M., Kurata, Y. 1979. Lymphocutaneous sporotrichosis caused by accident inoculation. *J Dermatol* 6:321-323.
36. Fava, A. 1909. Un cas de sporotrichose conjonctivale et palpebrale primitives. *Ann Ocul (Paris)* **141**:338-343.
37. Wilder, W.H. and McCullough, C.P. 1914. Sporotrichosis of the eye. *JAMA* **62**:1156-1160.
38. Carougeau, M. 1909. Premier cas Africain de sporotrichose de deBeurmann: Transmission de la sporotrichose du mulet a l'homme. *Bull Mem Soc Med Hop (Paris)* **28**:507-510.
39. Thompson, D.W. and Kaplan, W. 1977. Laboratory- acquired Sporotrichosis. *Sabouraudia* **15**:167-170.
40. Jeanselme, E. and Chevallier, P. 1910. Chancres sporotrichosiques des doigts produits par la morsure d'un rat inocule de sporotrichose. *Bull Mem Soc Med Hop (Paris)* **30**:176-178.
41. Jeanselme, E. and Chevallier, P. 1911. Transmission de la sporotrichose a l'homme par les morsures d'un rat blanc inocule avec une nouvelle variete de *Sporotrichum*: Lymphangite gommeuse ascendante. *Bull Men Soc Med Hop (Paris)* **31**:287-301.
42. Meyer, K.F, 1915. The relationship of animal to human Sporotrichosis: Studies on American Sporotrichosis III. *JAMA* **65**:579-585.
43. Norden, A. 1951. Sporotrichosis: Clinical and laboratory features and a serologic study in experimental animals and humans. *Acta Pathol Microbiol Scand, Suppl.* **89**:3-119.
44. Cooper, C.R., Dixon, D.M., and Salkin, I.F. Laboratory-acquired Sporotrichosis. 1992. *J Med Vet Mycol* **30**:169-171.
45. Fielitz, H. 1970. Ueber eine Laboratorumsinfektion mit dem *Sporotrichum* de Beurmanni. *Centralbl Bakteriol Parasitenk Abt I Orig* **55**:361-370.
46. Hanel, E., Jr. and Kruse, R.H. 1967. Laboratory-acquired mycoses. Department of the Army, Miscellaneous Publication 28.
47. Mcakeerm, R. 1980. An epizootic in laboratory guinea pigs due to *Trichophyton mentagrophytes*. *Aust Vet J* **56**:234-236.
48. Pike, R.M. 1976. Laboratory-associated infections: Summary and analysis of 3,921 cases. *Hlth Lab Sci* **13**:105-114.
49. Kamalam, A., Thambiah, A.S. 1979. Trichophyton simii infection due to laboratory accident. *Dermatologica* 159:180-181.
50. Segretain, G. 1959. *Penicillium mamefii*, n. sp., agent d'une mycose du systeme reticulo-endothelial. *Mycopathol Mycol Appl* 11:327-353.

• Seção VII-C: Agentes Parasitários

Agente: Protozoários Parasitas de Tecido e Sangue Humanos

Infecções com o *Plasmodium spp.* (incluindo o *P. cynomolgi*), o *Trypanosoma spp.* e a *Leishmania spp.* adquiridas em laboratório foram relatadas^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11,12}. Embora nenhuma infecção laboratorial com a *Babesia spp.* tenha sido relatada, um indivíduo pode adquirir uma infecção através de uma picada acidental com agulha ou através de uma picada de um carrapato infectado.

Embora infecções associadas a animais de laboratório não sejam comuns, a malária transmitida pelo mosquito realmente ocorre. Outras fontes diretas potenciais de infecção para a equipe de um laboratório incluem o contato com um material extraído de uma lesão de roedores que apresentam uma leishmaniose cutânea e o contato com fezes ou sangue de animais experimentalmente ou naturalmente infectados com *T. cruzi*¹³.

Riscos em Laboratório: Os estágios contagiosos destes agentes podem estar presentes no sangue, fezes, fluído cerebroespinal, medula óssea ou em outros tecidos de biópsia, exudatos de lesão e artrópodes infectados. Dependendo do parasita, os riscos primários laboratoriais incluem a ingestão, penetração na pele através de ferimentos ou microabrasões, inoculação parenteral acidental e transmissão através de vetores artrópodes. A exposição aos aerossóis ou perdigotos de organismos nas membranas mucosas dos olhos, nariz ou boca é considerada como um risco potencial quando o trabalho com culturas de *Leishmania spp.*, *T. cruzi* ou com homogeneização de culturas ou de sangue contendo hemoflagelados é realizado. Os indivíduos imunocomprometidos devem evitar qualquer trabalho com esses agentes vivos.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do nível de Biossegurança 2 são indicadas para atividades com estágios infecciosos dos parasitas acima relacionados. Os artrópodes

infectados devem ser mantidos em dependências que impeçam a exposição do pessoal do laboratório ou a saída do artrópode para fora do local. A contenção primária (por exemplo, cabine de segurança biológica) ou proteção pessoal (por exemplo, proteção facial) pode ser indicada quando o trabalho com culturas de *Leishmania spp.*, de *T. cruzi*, ou a homogeneização de tecidos ou de sangue contendo hemoflagelados forem realizados^{14, 15}. Recomenda-se o uso de luvas para atividades onde exista a possibilidade do contato direto da pele com os estágios infecciosos dos parasitas acima listados. O tratamento apropriado para a maioria das infecções provocadas por protozoários existe e as informações sobre dosagem, fonte da droga, etc. se encontram a disposição¹⁶.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida através do CDC.

Agente: Protozoários Parasitas do Intestino Humano.

Infecções com o *Toxoplasma spp.*; *Entamoeba spp.*; *Isospora spp.*; *Giardia spp.*; *Sarcocystis spp.* e o *Cryptosporidium spp.* associadas a laboratório foram relatadas^{17, 18, 19, 20, 21}. Nenhuma infecção laboratorial com microsporídios foi registrada, mas a ingestão de esporos encontrados nas fezes, urina, escarro, fluido cerebroespinal ou culturas pode provocar uma infecção.

Infecções associadas ao laboratório de experimentação animal têm sido relatadas e constituem uma fonte direta de infecção para as pessoas que trabalham nestes laboratórios e que estão em contato com as fezes de animais naturalmente ou experimentalmente infectados. No caso de roedores inoculados experimentalmente com o *Toxoplasma* via intraperitoneal, o contato com o líquido peritoneal pode provocar uma exposição aos organismos infecciosos.

Já as infecções com o *Cryptosporidium* adquiridas em laboratório ocorrem com regularidade em quase todos os laboratórios que trabalham com esse agente, especialmente aqueles nos quais os bezerros são usados como fonte de oócitos. Outros animais infectados experimentalmente também oferecem

riscos potenciais. A evidência circunstancial sugere que a transmissão aérea de oócitos deste pequeno organismo pode acontecer. Uma obediência rigorosa a todas essas recomendações reduz a ocorrência de infecções nos laboratórios e em tratadores de animais.

Riscos em Laboratório: Os estágios ativos infecciosos podem ser encontrados nas fezes ou em outros fluídos e tecidos corporais. Dependendo do parasita, a ingestão é o risco primário laboratorial. Embora não se conheça o nível do risco, as exposições das membranas mucosas dos olhos, nariz ou boca aos aerossóis ou perdigotos de trofozoítas podem ser riscos potenciais quando trabalhos com culturas de amebas que vivem livremente, como a *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* ou a *Balamuthia* estão sendo realizados. Os indivíduos imunocomprometidos devem evitar o trabalho com organismos vivos. Devido às graves conseqüências da toxoplasmose em fetos em desenvolvimento e em mulheres sorologicamente negativas que podem engravidar, cabe ao supervisor do laboratório informar essas mulheres sobre os riscos potenciais ao feto. Caso os empregados bem informados sobre os riscos se recusarem a ficar expostos a esses agentes, o laboratório deverá designar outras atividades em uma área de trabalho onde o *Toxoplasma* não esteja sendo manipulado. O trabalho com oócitos contagiosos oferece um risco maior de se adquirir uma infecção. As picadas de agulhas com material contendo taquizoítas ou bradizoítas através da membrana mucosa ou de abrasões na pele também são riscos significativos. A infecção por taquizoítas ou bradizoítas através da membrana mucosa ou de abrasões da pele também são possíveis. Os laboratórios que conduzem estudos somente com materiais de parasitas mortos ou inativados e com frações de parasitas não oferecem riscos significativos de infecção.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para atividades com estágios contagiosos dos parasitas acima listados. A contenção primária (por exemplo, cabine de segurança biológica) ou a proteção pessoal (por exemplo, protetor facial) pode ser indicada em trabalhos envolvendo culturas de *Naegleria fowleri* ou *Cryptosporidium*. O

tratamento apropriado para a maioria das infecções provocadas por protozoários já existe e mais informações sobre a dose, fonte das drogas, etc. estão disponíveis²².

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida através do CDC.

Agente: Trematódeos Parasitas de Humanos (*Schistosoma spp.* e *Fasciola spp.*)

Infecções com o *Schistosoma spp.* e a *Fasciola spp.* adquiridas em laboratório têm sido relatadas. Nenhuma infecção estava diretamente associada aos animais de laboratório, com exceção dos moluscos infectados, que são os hospedeiros intermediários^{23,}

^{24, 25, 26}

Riscos em Laboratório: Os estágios contagiosos do *Schistosoma spp.* (cercária) e da *Fasciola spp.* (metacercária) podem ser encontrados, respectivamente, na água ou encistados em plantas de aquários de laboratórios usados para manter os caracóis hospedeiros. A penetração das cercárias do esquistossomo na pele e a ingestão da metacercária de qualquer trematódeo são considerados riscos primários. A dissecação ou o esmagamento de caracóis infectados pelo esquistossomo pode também resultar na exposição da pele ou da membrana mucosa aos tecidos contendo as cercárias. Além disto, a metacercária pode ser transferida inadvertidamente das mãos para a boca através dos dedos ou das luvas, depois do contato com a vegetação aquática contaminada ou com as superfícies contaminadas do aquário. A maioria das exposições laboratoriais ao *Schistosoma spp.* supostamente resultaria em baixas cargas de vermes com um potencial mínimo da doença. Drogas seguras e eficazes para o tratamento da esquistossomose já se encontram no mercado.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para atividades com os estágios contagiosos dos parasitas acima citados. Recomenda-se o uso de luvas onde houver um contato direto com água contaminada

por cercárias, ou onde houver vegetação contendo metacercária de caracóis infectados experimentalmente ou naturalmente. Jalecos de mangas compridas ou outro traje de proteção deverão ser usados quando um trabalho ao redor do aquário ou em outras fontes de água que possam conter cercárias do esquistossomo estiver sendo realizado. Os caracóis e as cercárias encontradas na água proveniente do aquário do laboratório devem ser eliminados através de substâncias químicas (por exemplo, hipoclorito, iodo) ou através do calor antes de serem jogados no esgoto. O tratamento apropriado para grande parte das infecções causadas por trematódeos existe, e as informações sobre a fonte das drogas, dosagens, estão disponíveis²⁷.

Transferência do Agente: A licença para importação do agente deve ser obtida junto ao CDC.

Agente: *Cestóides Parasitas de Humanos* – *Echinococcus granulosus*, *Taenia solium* (*cysticercus cellulosae*) e *Hymenolepis nana*.

Embora nenhuma infecção com o *E. granulosus* ou a *T. solium* relacionada a laboratório tenha sido relatada, as conseqüências destas infecções após a ingestão de ovos infectados por *E. granulosus* ou *T. solium* são potencialmente sérias. A *H. nana* é um parasita cosmopolita que não requer um hospedeiro intermediário e a contaminação se dá diretamente através da ingestão de fezes humanas ou de roedores infectados.

Riscos em Laboratório: Os ovos infectados podem ser encontrados nas fezes de cães ou de outros canídeos (hospedeiro definitivo do *E. granulosus*) ou nas fezes humanas (o hospedeiro definitivo da *T. solium*). A ingestão de ovos infectada destas fontes é considerada como risco primário em laboratórios. Os cistos e fluído de cistos do *E. granulosus* não são infecciosos para o homem. Já os cistos que contêm a larva da *T. solium* (*Cysticercus cellulosae*) prontamente produzem a infecção humana com a solitária adulta. A ingestão de um único ovo infectado pelos dois parasitas e proveniente das fezes do hospedeiro definitivo pode potencialmente

resultar em uma séria patologia. A ingestão dos ovos da *H. nana* nas fezes do hospedeiro definitivo pode causar uma infecção intestinal.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para o trabalho com os estágios contagiosos destes parasitas. Deve-se dar uma atenção especial a higiene pessoal (por exemplo, a lavagem das mãos) e evitar a ingestão de ovos infectados. Recomenda-se o uso de luvas quando houver um contato direto com as fezes ou com superfícies contaminadas por fezes frescas de cães infectados por *E. granulosus*, com humanos infectados pela *T. solium* adulta ou com humanos ou roedores infectados pela *H. nana*. O tratamento adequado para muitas infecções causadas por cestóides existe e informações sobre a fonte das drogas, dosagem, etc. já se encontram disponíveis²⁸.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deve ser obtida através do CDC.

Agente: Nematóides Parasitas de Humanos

Infecções por *Ascaris spp.*; *Strongyloides spp.*; ancilóstomos e *Enterobius spp.* já foram relatadas. As reações alérgicas a vários componentes antigênicos de nematóides (por exemplo, antígenos de *Ascaris* nebulizados) podem representar um risco ao indivíduo sensível. As infecções associadas a laboratório (incluindo artrópodes) não foram registradas, mas as larvas contagiosas encontradas nas fezes de primatas não-humanos infectados com o *Strongyloides spp.* são consideradas como um risco potencial de infecção para trabalhadores de laboratório e tratadores de animais.

Riscos em Laboratório: Os ovos e larvas de fezes frescas do hospedeiro definitivo não são geralmente infecciosos, uma vez que o desenvolvimento dos estágios infecciosos pode levar de um dia até várias semanas. A *Trichinella* preocupa porque o tecido fresco ou digerido pode conter larvas que seriam infecciosas se ingeridas. A ingestão de ovos infectados ou a penetração na pele de larvas

infectadas são os riscos primários para as pessoas que trabalham em um laboratório e as que tratam dos animais. Os artrópodes infectados com os parasitas filariais oferecem um risco potencial para a equipe laboratorial. É comum o desenvolvimento de uma hipersensibilidade em trabalhadores de laboratórios que freqüentemente são expostos aos antígenos aerolizados de *Ascaris spp.*

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para atividades que envolvam os estágios contagiosos relacionados. A exposição aos antígenos sensibilizados aerolizados do *Ascaris spp.* deve ser evitada. Uma contenção primária (por exemplo, cabine de segurança biológica) pode ser necessária para o trabalho com estes materiais por indivíduos hipersensíveis. O tratamento adequado para maior parte das infecções causadas por nematóides existe, e maiores informações sobre a dosagem, fonte das drogas e etc. já se encontram disponíveis³².

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deve ser obtida junto ao CDC.

Referências:

1. Centers for Disease Control. 1980. Chaga's disease, Kalamazoo, Michigan. MMWR **20**(13):147-8.
2. Eyles, D.E., Coatney, G.R., and Getz, M.E. 1960. Viax-type malaria parasite of macaques transmissible to man. Science **131**:1812-1813
3. Gutteridge, W.E., Cover, B., Cooke, A.J.D. 1974. Safety precautions for working with *Trypanosoma cruzi*. Trans R Soc Trop Med Hyg **68**:161.
4. Herwaldt, B.L., Juraneck, D.D. 1993. Laboratory acquired malaria, leishmaniasis, trypanosomiasis and toxoplasmosis. Am J Trop Med Hyg **48**:313-323.
5. Lettau, L.A. 1991. Nocosomial transmission and infection control aspects of parasites and ectoparasitic diseases: Part I. Introduction/enteric parasites. Part II. Blood and tissues parasites. Infect Control Hosp Epidemiol **12**:59-65;111-121.

6. Pike, R.M. 1976. Laboratory-associated infections: Summary and analysis of 3.921 cases. *Health Lab Sci* **13**:105-114.
7. Robertson, D.H.H., Pickens, S., Lawson, J.H., Lennex, B. 1980. An accidental laboratory infection with African trypanosomes of a defined stock. I and II. *J Infect* **2**:105-112,113-124.
8. Dillon, N.L., Stolf H.O., Yoshida, E.L Marques, M.E. 1993. Leishmaniose cutânea accidental. *Ver Insti Med Trop São Paulo* **35**:385-387.
9. Herwaldt, B.L., Juranek, D.D. 1995. Protozoa and Helminthes. In: *Laboratory Safety Principles and Practices, 2nd edition*. Fleming, D.O., Richardson, J.L. Tulis, J.J., and Vesley, D., Eds., Washington, D.C., American Society for Microbiological, pp. 77-91.
10. Kirchhoff, L.V. 1993. Chagas disease. American trypanosomiasis. *Inf Dis Clin North Am* **7**:487-502.
11. Receveur, M.C., Le Bras, M., Vingendeau, P. 1993. Laboratory-acquired Gambian trypanosomiasis. *N Engl J Med* **329**:209-210.
12. Sewell, D.L. 1995. Laboratory-acquired infections and biosafety. *Clin Microbiol Ver* **8**:389-405.
13. Herwaldt and Juranek. 1995 (9).
14. Gutteridge et al, 1974 (3).
15. Herwaldt and Juranek, 1995 (9).
16. Anonymous. 1995. Drugs for Parasitic Infections. *The Medical Letter on Drugs and Therapeutics* **37**:99-108.
17. Herwaldt and Juranek, 1993 (4).
18. Herwaldt and Juranek, 1995 (9).
19. Lettau, LA., 1991 (5).
20. Pike, R.M. 1976 (5).
21. Sewell, D.L. 995. (12).
22. Anonymous. 1995 (16).
23. Herwaldt and Juranek. 1995. (9).
24. Lettau, LA. 1991. (5).
25. Pike, R.M. 1976. (6).
26. Van Gompel, A., et al. 1993. Laboratory infection with *Schistosoma mansoni*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **87**:554.
27. Anonymous. 1995. (16).
28. Anonymous. 1995. (16).
29. Herwaldt and Juranek. 1995. (9).
30. Lettau. 1991. (5).
31. Pike. 1976. (6).
32. Anonymous. 1995. (16).

• Seção VII-D: Prions

Os Centros para Controle e Prevenção da Doença e os Institutos Nacionais de Saúde gostariam de expressar seus agradecimentos a Jiri Safar, M.D; Darlene Groth, A.B; Stephen J. DeArmond, M.D., Phd. e Stanley B. Prusiner, M.D., da University of California San Francisco, San Francisco, CA, pelas contribuições neste campo emergente e na preparação desta seção.

Os prions são partículas **Infecciosas** de **Proteináceos** que não possuem ácidos nucleicos¹. Os prions são em grande parte, se não totalmente, compostos por um isoforme anormal de uma proteína celular normal. Em mamíferos, os prions são compostos de um isoforme anormal, patogênico da proteína priônio (PrP), chamada de PrP^{Sc}. O expoente “Sc” inicialmente derivou-se do termo **scrapie** (tronco), já que a “scrapie” é um distúrbio degenerativo contagioso do sistema nervoso de ovinos e caprinos provocado pelos prions. Uma vez que todas as doenças causadas por prions conhecidas (Tabela 6) em mamíferos envolvem o metabolismo aberrante do PrP semelhante ao observado na “scrapie”, o uso de um expoente “Sc” é indicado para todos os isoformes PrP patogênicos, anormais². Neste contexto, o expoente “Sc” é utilizado para designar a isoforma do PrP semelhante à do “scrapie”.

Um gene cromossômico decodifica os genes PrP e não PrP que são encontrados em preparações purificadas dos prions. O PrP^{Sc} é derivado do PrP^C (o isoforme celular do PRP) por um processo pós-translacional onde o PrP^{Sc} adquire um alto conteúdo da enzima b da ovelha³. Nem os ácidos nucleicos específicos de prions e nem as partículas semelhantes ao vírus foram detectados nas preparações infecciosas purificadas. Em fungos, evidências de três prions diferentes foram acumuladas⁴.

Os prions em mamíferos causam a “scrapie” e outras doenças neurodegenerativas relacionadas ao homem e animais (Tabela 6).

As doenças provocadas pelos prions também são referidas como encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSEs)⁵.

Tabela 1. As doenças causadas por Prions

<u>Patologias</u> <u>(Abreviação)</u>	<u>Hospedeiro</u> <u>Natural</u>	<u>Prions</u>	<u>Isoforma Patogênica</u> <u>do PrP</u>
Scrapie	ovelhas e cabras	scrapie prions	OvPrP ^{Sc}
Encefalopatia Transmissível de Visão (TME)	visão	prions TME	MkPrP ^{Sc}
Doença Crônica Destrófica(CWD)	alce e veado de orelhas longas	prions CWD	MdePr ^{Sc}
Encefalopatia Espongiforme Bovina (BSE)	gado	prions BSE	BoPrP ^{Sc}
Encefalopatia Espongiforme Felina (FSE)	gatos	prions FSE	FePrP ^{Sc}
Encefalopatia Exótica Ungulada (EUE)	antílope africano e niala	prions EUE	UngPrP ^{Sc}
Kuru	humanos	prions kuru	HuPrP ^{Sc}
Doença de Cretzfeldt-Jakob (CDJ)	humanos	prions CJD	HuPrP ^{Sc}
Síndrome de Gerstmann – Stäussler-Scheinker (GSS)	humanos	prions GSS	HuPrP ^{Sc}
Insônia familiar Gatal (FFI)	humanos	prions FFI	HuPrP ^{Sc}

Prions específicos de espécies. Diferente de alguns vírus, as propriedades dos prions mudam dramaticamente quando são passados de uma espécie para outra. Os resultados de estudos transgênicos (Tg) em camundongos indicam que, quando os prions de homens são passados para os camundongos, a patogenicidade potencial dos não transgênicos para os humanos diminui drasticamente⁶. Os prions que são reproduzidos em camundongos não transgênicos são agora prions de camundongo e prions não

humanos. Estes prions de camundongos contêm o PrP^{Sc}, o PrP^{Sc} não humano. Esta mudança específica da espécie na molécula do PrP^{Sc} é acompanhada pela alteração na patogenicidade do prions. Em contraste aos prions humanos, os prions de camundongo são altamente patogênicos para o próprio camundongo. Nossa compreensão destas mudanças específicas na patogenicidade do prions de cada espécie é proveniente, em grande parte, de estudos de camundongos que apresentam uma variedade de transgenes PrP. Uma vez que o PrP^{Sc} produzido no camundongo é derivado do PrP^C não é possível determinar a origem do prions inicialmente inoculado no camundongo⁷.

Vale a pena observar que a susceptibilidade de espécies em particular a um prions de outras espécies pode ser profundamente afetada pelas diferentes cepas de prions. As propriedades manifestadas pelas cepas de prions como o período de incubação e os perfis neuropatológicos parecem estar contidas na estrutura do PrP^{Sc}.

Tais considerações dos princípios básicos da biologia priônica ajudam a formar a base para a classificação da biossegurança de diferentes prions.

Classificação do Nível de Biossegurança: Os prions humanos e os reproduzidos em macacos e chimpanzés são manipulados no Nível de Biossegurança 2 ou 3, dependendo dos estudos que estão sendo conduzidos. Os prions BSE são igualmente manipulados no Nível de Biossegurança 2 ou 3, devido à possibilidade dos prions terem sido transmitidos aos seres humanos na Grã-Bretanha e na França⁹.

Todos os outros prions animais são considerados patógenos do Nível de Biossegurança 2. Portanto, baseado na nossa compreensão atual sobre a biologia do prions descrita acima, assim que os prions humanos são passados para camundongos ocorre a produção do PrP^{Sc} de camundongo. Neste caso, estes prions devem ser considerados como prions do Nível de Biossegurança 2, embora os prions humanos sejam manipulados no Nível de Biossegurança

3 em grande parte das condições experimentais. Uma exceção a esta regra é no caso de camundongos que apresentam transgenes de camundongo/humanos quiméricos ou humanos. Esses camundongos transgênicos produzem prions humanos quando infectados por prions humanos e devem ser tratados no Nível de Biossegurança 2 ou 3, de acordo com os procedimentos descritos acima. Os mecanismos do prions disseminado em ovelhas e caprinos que são os responsáveis pelo desenvolvimento do “scrapie” ainda são desconhecidos^{10, 11}. Acredita-se que os prions CWD, TME, BSE, FSE e EUE ocorrem depois do consumo de alimentos infectados por prions^{12, 13, 14, 15}.

Doenças Humanas provocadas por Prions: Os mesmos cuidados usados em pacientes com AIDS ou com hepatite são certamente adequados para as patologias provocadas por prions e pacientes que estão morrendo devido a esta patologia. Em contraste a essas doenças viróticas, as doenças provocadas por prions não são transmissíveis e nem contagiosas¹⁶. Não há evidências sobre a transmissão através de contato ou de aerossóis de prions de um indivíduo para outro. Porém, esses agentes se tornam contagiosos sob algumas circunstâncias, como por exemplo, no ritual de canibalismo na Nova Guiné que provoca a doença chamada de kuru, na administração do hormônio do crescimento contaminado por prions que resultará na CJD iatrogênica e no transplante de enxertos de tecido da dura-máter contaminado por prions que provocam a doença em outras pessoas. Já as doenças CJD, GSS e FFI familiares, são doenças provocadas por prions dominantes herdados. Cinco mutações diferentes do gene PrP mostraram ser geneticamente ligadas ao desenvolvimento da doença congênita. Muitos prions de doenças congênitas foram transmitidos aos chimpanzés, macacos e camundongos portadores de transgenes PrP humano^{20, 21, 22}.

Procedimentos Cirúrgicos: Os procedimentos cirúrgicos em pacientes diagnosticados como portadores da doença priônica devem ser minimizados. Acredita-se que a CJD tenha sido transmitida de um paciente portador da CJD para dois outros que, momentos depois, sofreram procedimentos neurocirúrgicos na

mesma sala de cirurgia²³. Embora não existam documentos que comprovem a transmissão de prions aos homens através da exposição da pele intacta ou das membranas e gástricas aos perdigotos de sangue ou de líquido cerebrospinal, o risco da ocorrência de tais infecções é uma possibilidade. A esterilização dos instrumentos e a descontaminação da sala de cirurgia deve ser realizada, de acordo com as recomendações descritas acima.

Por ser importante o estabelecimento de um diagnóstico “definitivo” de uma doença provocada por prions e a distinção entre casos familiares e esporádicos e as adquiridas pela contaminação ocorrida através de procedimentos médicos ou da ingestão de alimentos contaminados por prions, deve-se obter o tecido cerebral não-fixado. Em todos os casos de suspeita de uma doença priônica, um mínimo de um centímetro cúbico de córtex cerebral não-fixado deve fazer parte da biópsia. Essa amostra deve ser biseccionada a partir da superfície cortical até a substância branca do cérebro adjacente, com uma metade da amostra fixada em formalina e a outra metade congelada.

Autópsias: As autópsias de rotina e o processamento de quantidades de tecidos fixados em formalina contendo prions humanos requerem os cuidados de um Nível de Biossegurança ²¹. Na autópsia, todo o cérebro deve ser coletado e cortado em secções coronais de aproximadamente 4 cm de espessura. Pequenos blocos de tecidos podem facilmente ser removidos de cada secção coronal e colocados em um fixador para posterior análise histopatológica. Cada secção coronal deverá ser imediatamente lacrada por calor em uma sacola de plástico para carga pesada. Presupõe-se que o exterior desta sacola esteja contaminado por prions e por outros patógenos. Com luvas novas ou com a ajuda de um assistente que esteja usando luvas sem contaminação, esta sacola contendo a amostra deverá ser colocada em outra sacola plástica que não possua uma superfície exterior contaminada. As amostras, então, deverão ser congeladas em gelo seco ou colocadas diretamente em um freezer com temperatura de – 70° C para armazenamento. Deve-se obter e congelar, no mínimo, uma secção coronal do hemisfério do cerebelo contendo o tálamo e uma do hemisfério cerebelar e do tronco cerebral.

A ausência de qualquer tratamento eficaz para doenças priônicas demanda muita cautela. As maiores concentrações de prions se encontram na área do sistema nervoso central. Baseado em estudos animais há a possibilidade de que altas concentrações de prions sejam encontradas no baço, timo, nódulos linfáticos e pulmões. O principal cuidado a ser tomado quando estiver realizando um trabalho com material contaminado ou infectado por prions é o de evitar a perfuração da pele²⁵. A pessoa que estiver realizando o procedimento deverá utilizar luvas resistentes a perfurações. Caso ocorra uma contaminação acidental da pele, a área deverá ser esfregada com hidróxido de sódio a 1 N durante cinco minutos e depois enxaguada com enormes quantidades de água. As Tabelas de 2-5 proporcionam procedimentos para a redução de perfurações na pele, formação de aerossóis e contaminação da sala de cirurgia, das superfícies do necrotério e dos instrumentos. As amostras não-fixadas de cérebro, medula espinhal e de outros tecidos contendo prions humanos deverão ser processadas com extremo cuidado em um Nível de Biossegurança 3.

Encefalopatia Espongiforme Bovino. O risco de contaminação humana pelos prions BSE ainda não está muito claro. Talvez, a abordagem mais prudente seja estudar os prions BSE em dependências de um Nível de Biossegurança 2 ou 3 dependendo das amostras a serem estudadas, como observado para prions humanos (cérebro, medula espinhal).

Doenças priônicas em roedores experimentais. Os camundongos e hamsters são os animais experimentais de escolha para todos os estudos da doença priônica. Com o desenvolvimento do camundongo transgênico, que é altamente susceptível aos prions humanos, o uso de chimpanzés e macacos raramente é necessário. As maiores titulações de prions ($\sim 10^{9,5}$ DI₅₀/g) são encontradas no cérebro e na medula espinhal de roedores de laboratório infectados com cepas adaptadas de prions^{26, 27}, e as menores titulações ($\sim 10^6$ DI₅₀/g) estão presentes no baço e no sistema linfático^{28, 29}.

Propriedades Físicas dos Prions. A menor partícula de um prion infeccioso é provavelmente de um dímero de PrP^{Sc}. Esta

estimativa é consistente com o tamanho de um alvo de radiação ionizante de 55 ± 9 kDa³⁰. Portanto, os prions podem não ser contidos pela maioria dos filtros existentes que de forma eficaz eliminam as bactérias e vírus. Além disto, os prions se agregam às partículas de tamanho não uniforme e assim, os detergentes não conseguem solubilizá-los, exceto sob condições de desnaturação onde a infectividade é perdida^{31, 32}. Os prions resistem à inativação através da nuclease³³, irradiação de UV a 254 nm^{34, 35} e tratamento com psoralens³⁶, cátions divalentes, queladores do íon metal, ácidos (entre pH 3 e 7), hidroxilamina, formalina, ebulição ou proteases^{37, 38}.

Inativação dos prions. Os prions se caracterizam pela extrema resistência aos procedimentos convencionais de inativação incluindo a irradiação, a ebulição, calor seco e agentes químicos (formalina, betapropiolactona, álcoois). Embora a infectividade do prions em amostras purificadas seja diminuída pela prolongada digestão com proteases^{39, 40}, os resultados de ebulições em dodecilsulfato de sódio e uréia são variáveis. A esterilização de extratos cerebrais de roedores com altas titulações requer o uso da autoclave a 132 ° C durante quatro horas e meia. Os solventes orgânicos desnaturadores como o fenol, os reagentes caotrópicos como o tiocianato de guanidina e os álcalis como o NaOH podem também ser utilizados para a esterilização^{41, 42, 43, 44, 45}. Os prions são inativados através do NaOH a 1 N, cloridrato ou isocianato de guanidínio a 4.0 M, hipoclorito de sódio (concentração livre de cloro ³ 2) e autoclave a vapor a 132° C durante quatro horas e meia^{46, 47, 48, 49}. Recomenda-se que o dejetto seco seja autoclavado a 132° C durante quatro horas e meia ou então incinerado. Grandes volumes de dejetos líquidos infecciosos contendo altas titulações de prions podem ser totalmente esterilizados através do tratamento com NaOH a 1 N (concentração final) ou através de uma autoclave a 132° C durante quatro horas e meia. Os vasilhames plásticos, que podem ser descartados como dejetto seco, são altamente recomendáveis. Uma vez que o procedimento de vaporização com paraformaldeído não diminui a titulação do prions, as cabines de segurança devem ser descontaminadas com NaOH a 1 N, seguido de HCl a 1 N e depois enxaguadas com água. Os filtros HEPA devem ser autoclavados e incinerados.

Embora não haja evidências que possam sugerir que a transmissão via aerosol ocorra na doença natural, é mais prudente evitar a formação de aerossóis ou perdigotos durante a manipulação de tecidos ou líquidos e durante a necropsia de animais experimentais. Recomenda-se também, o uso de luvas para atividades que propiciem o contato direto da pele com tecidos e líquidos infecciosos. Os tecidos fixados em formaldeídos e embebidos em parafina, especialmente tecidos cerebrais, permanecem infecciosos. Alguns pesquisadores recomendam que tecidos de casos suspeitos de doenças priônicas fixados em formaldeídos sejam imersos durante 30 minutos em ácido fórmico a 96% ou em fenol antes de ser processado histopatologicamente⁵⁰, mas esse tratamento pode distorcer a neuropatologia microscópica.

Manuseio e processamento de tecidos de pacientes com suspeita de doença por prions. As características especiais do trabalho com prions requerem uma atenção particular com as instalações, equipamentos, normas e procedimentos envolvidos. As considerações relacionadas sublinhadas nas seguintes tabelas devem ser incorporadas à administração dos riscos laboratoriais para este trabalho.

Tabela 2. Precauções padrões* para autópsias de pacientes com suspeita de doença por prions.

*Não confundir com “Procedimentos Universais Padrões”

1. O atendimento deverá ser limitado a um patologista experiente e uma equipe pequena. Os membros da equipe deverão evitar o contato direto com o corpo, mas deverão assistir ao procedimento através do manuseio dos instrumentos e recipientes da amostra.
2. Um traje padrão para autópsia é obrigatório.
 - a. Ao invés de um avental de tecido, deve-se usar uma roupa descartável e a prova de água.
 - b. Luvas resistentes a cortes e perfurações deverão ser colocadas debaixo de dois pares de luvas cirúrgicas ou

luvas “chain mail”, que deverão ser usadas entre dois pares de luvas cirúrgicas.

- c. Os aerossóis são formados principalmente durante a abertura do crânio com uma serra Stryker. Uma proteção respiratória adequada deverá ser utilizada (PAPR).

3. Para reduzir a contaminação da sala de autópsia:

- a. A mesa de autópsia deverá ser coberta com um lençol descartável com fundo plástico à prova d’água.
- b. Os instrumentos contaminados deverão ser colocados em um papel absorvente.
- c. O cérebro deverá ser removido, enquanto a cabeça deverá ser colocada em um saco plástico para a redução da nebulização e de borrifos.
- d. O cérebro poderá ser colocado em um recipiente com um revestimento de saco plástico para pesagem.
- e. O cérebro deverá ser colocado em uma tábua de corte e as amostras adequadas serão dissecadas para o congelamento instantâneo (veja Tabela 4).
- f. O cérebro ou os órgãos a ser fixado deverá ser imediatamente colocado em um recipiente com um tampão neutro de formalina a 10%.
- g. Na maioria dos casos de suspeita de doença priônica, a autópsia pode ser limitada somente ao exame do cérebro. Em casos que exijam uma autópsia completa, devemos considerar o exame e amostragem dos órgãos torácicos e abdominais *in situ*.

Tabela 3. Procedimentos de descontaminação da sala de autópsia.

- 1. Os instrumentos (grampos) e as lâminas da serra deverão ser colocados em uma placa grande de aço inoxidável que deverá

ser imersa durante uma hora em hidróxido de sódio a 2 N ou durante duas horas em hidróxido de sódio a 1 N, e depois deverão ser bem enxaguados em água antes de serem autoclavados a uma temperatura de 134° C (autoclave de vapor com deslocamento de gravidade) por 1 hora; autoclave de vapor para cargas porosas por um ciclo de 18 minutos a 30 libras por polegada quadrada ou seis ciclos de 3 minutos a 30 libras por polegada quadrada).

2. A serra Stryker deverá ser descontaminada através de repetidas umidificações com uma solução de hidróxido de sódio a 2 N por um período de um hora. Uma lavagem adequada deverá ser realizada para remoção do NaOH residual.
3. O papel absorvente que cobre a mesa e envolve os instrumentos, as roupas descartáveis, etc. deverão ser duplamente embaladas em sacos adequados para lixo infecciosos para posterior incineração.
4. Quaisquer áreas suspeitas de contaminação da mesa ou da sala de autópsia deverão ser descontaminadas através de repetidos banhos de uma solução de hidróxido de sódio a 2 N durante uma hora.

Tabela 4. Procedimentos de corte do cérebro.

1. Após a adequada fixação em formaldeído (pelo menos de 10-14 dias), o cérebro deverá ser examinado e cortado sobre uma mesa coberta com um papel absorvente que possua a parte de trás coberta por um material impermeável.
2. As amostras para a histologia deverão ser etiquetadas com o termo: “As precauções da CJD”. Para laboratórios que não possuam equipamento para coloração e imersão ou um micrótomo exclusivo para doenças infecciosas incluindo a CJD, blocos de tecido fixado através da formalina poderão ser colocadas em ácido fórmico absoluto a 96% durante 30 minutos, seguido de uma solução de tampão neutro de formalina a 10% por pelo menos 48 horas⁵¹. O bloco de tecido será,

então, imerso em parafina como normalmente é realizado. As técnicas neurohistológicas ou imunohistoquímicas padrões não são afetadas pelo tratamento com o ácido fórmico; porém, de acordo com a nossa experiência, os cortes de tecidos se tornam quebradiços e danificados durante o seccionamento.

3. Todos os instrumentos e superfícies que tiveram um contato com o tecido deverão ser descontaminados como descrito na Tabela 3.
4. Os resíduos de tecidos, fragmentos de cortes e solução de formaldeído contaminado deverão ser descartados como lixo hospitalar descartável para eventual incineração.

Tabela 5. Preparação do tecido

1. Os técnicos de histologia deverão usar luvas, aventais, jalecos e proteção facial.
2. A fixação adequada de pequenas amostras de tecidos (por exemplo, biópsias) de um paciente com suspeita de doença priônica deverá passar por uma pós-fixação em ácido fórmico absoluto a 96% durante 30 minutos, seguido de 48m horas em formalina fresca a 10%.
3. O dejetto líquido deverá ser coletado em um garrafão para lixo de 4 litros contendo 600 ml de hidróxido de sódio a 6 N.
4. As luvas, moldes imersos e todos os materiais de manipulação deverão ser descartados como lixo de perigo biológico.
5. As fitas de tecido deverão ser processadas manualmente para prevenir a contaminação dos processadores de tecido.
6. Os tecidos que deverão ser imersos em um molde descartável. Caso seja utilizado, as pinças deverão ser descontaminados.
7. Ao preparar as secções, recomenda-se o uso de luvas. Os cortes não usados deverão ser coletados e desprezados em um container para lixo de perigo biológico. A faca deverá ser

lavada com uma solução de NaOH a 1-2N e deverá ser descartada imediatamente em um recipiente para “objetos correntes biológicos”. As lâminas deverão ser etiquetadas com os dizeres “Precauções contra CDJ”. O bloco seccionado deverá ser fixado com parafina.

8. Coloração de rotina:

- a. As lâminas deverão ser processadas manualmente.
- b. Os reagentes deverão ser preparados em cálices de 100 ml descartáveis.
- c. Após a colocação da lamínula, as lâminas deverão ser descontaminadas ao mergulhá-las em uma solução de NaOH a 2 N durante 1 hora.
- d. As lâminas deverão ser etiquetadas como “CDJ – Infeciosos”.

9. Outras sugestões:

- a. Os cálices descartáveis ou as estantes para lâminas poderão ser usados para os reagentes.
- b. As lâminas para a imunocitoquímica poderão ser processadas em placas de Petri descartáveis.
- c. O equipamento deverá ser descontaminado como descrito acima.

Referências:

1. Prusiner S.B. 1997. Prion diseases and the BSE crisis. *Science* **278**:245-251.
2. Prusiner S.B., Baron H., Carlson G., Cohen F.E. DeArmond S.J., Gabizon R., Gambetti P., Hope J., Kitamoto T., Kretzschmar H.A., Laplanche J.-L., Tateishi J., Telling G., Weissmann C., Will R., In press. “Prions”. In: *Virus Taxonomy. 7th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press.
3. Pan K. -M., Baldwin M., Nguyen J., Gasset M., Serban A., Groth D., Mehlhorn I., Huang Z., Fletterick R.J., Cohen F.E., Prusiner S.B.

1993. Conversion of α -helices into β -sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**:10962-10966.
4. Wickner R.B. 1997. A new prion controls fungal cell fusion incompatibility [Commentary]. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**:10012-10014.
5. Gajdusek, D.C. 1977. Unconventional viruses and the origin and disappearance of kuru. *Science* **197**:943-960.
6. Telling G.C., Scott M., Mastrianni J., Gabizon R., Torchia M., Cohen F.E., DeArmond S.J., Prusiner S.B. 1995. Prion propagation in mice expressing human and chimerical PrP transgenes implicates the interaction of cellular PrP with another protein. *Cell* **83**:79-90.
7. Prusiner S.B. 1997 (1)
8. Prusiner S.B. 1997 (1)
9. Will R.G., Ironside J.W., Zeidler M., Cousens S. N., Estibeiro K., Alperovitch A., Poser S., Pocchiari M., Hofman A., Smith P.G. 1996. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* **347**:921-925.
10. Foster J.D., McKelvey W.A.C., Mylne M.J.A., Williams A., Hunter N., Hope J., Fraser H. 1992. Studies on maternal transmission of scrapie in sheep by embryo transfer. *Vet Rec* **130**:341-343.
11. Dickinson A.G., Stamp J.T., Renwick C.C. 1974. Maternal and lateral transmission of scrapie in sheep. *J Comp Pathol* **84**:19-25.
12. Prusiner S.B. 1997 (1)
13. Gajdusek D.C. 1991. The transmissible amyloidoses: genetical control of spontaneous generation of infectious amyloid proteins by nucleation of configurational change in host precursors: kuru-CJD-GSS-scrapie-BSE. *Eur J Epidemiol* **7**:567-577.
14. Marsh R.F., 1992. "Transmissible mink encephalopathy." In: *Prion Diseases of Humans and Animals*. Prusiner S.B., Collinge J., Powell J., Anderton B., Eds. Ellis Horwood, London, pp. 300-307.
15. Collinge J., Palmer M.S., 1997. "Human prion diseases." In: *Prion Diseases*. Collinge J., Palmer M.S., Eds. Oxford University Press, Oxford, U.K., pp. 18-56.
16. Ridley R.M., Baker H.F. 1993. Occupational risk of Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* **341**:641-642.
17. Gajdusek D.C. 1977 (5)
18. Public Health Service Interagency Coordinating Committee. 1997. Report on Human Growth Hormone and Creutzfeldt-Jakob Disease. **14**:1-11.
19. CDC. 1997. Creutzfeldt-Jakob disease associated with cadaveric dura mater grafts — Japan, January 1979-May 1996. *MMWR* **46**:1066-1069.

20. Telling G.C.; et al. 1995. (6)
21. Brown P., Gibbs C.J., Jr., Rodgers-Johnson P., Asher D.M., Sulima M.P., Bacote A., Goldfarb L.G., Gajdusek D.C. 1994. Human spongiform encephalopathy: the National Institutes of Health series of 300 cases of experimentally transmitted disease. *Ann Neurol* **35**:513-529.
22. Telling G.C., Parchi P., DeArmond S.J., Cortelli P., Montagna P., Gabizon R., Mastrianni J., Lugaresi E., Gambetti P., Prusiner S.B. 1996. Evidence for the conformation of the pathologic isoform of the prion protein enciphering and propagating prion diversity. *Science* **274**:2079-2082.
23. Brown P., Preece M.A., Will R.G. 1992. "Friendly fire" in medicine: hormones, homographs, and Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* **340**:24-27.
24. Ironside J.W., Bell J.E. 1996. The 'high-risk' neuropathological autopsy in AIDS and Creutzfeldt-Jacob disease: principles and practice. *Neuropathol Appl Neurobiol* **22**:388-393.
25. Ridley R.M., Baker H.F. 1993. (16)
26. Eklund C.M., Kennedy R.C., Hadlow W.J. 1967. Pathogenesis of scrapie virus infection in the mouse. *J Infect Dis* **117**:15-22.
27. Prusiner S.B., Groth D.F., Cochran S.P., Masiarz F.R., Mckinley M.P., Martinez H.M. 1980. Molecular properties, partial purification, and assay by incubation period measurements of the hamster scrapie agent. *Biochemistry* **19**:4883-4891.
28. Prusiner S.B., Hadlow W.J., Eklund C.M., Race R.E., Cochran S.P. 1978. Sedimentation characteristics of the scrapie agent from murine spleen and brain. *Biochemistry* **17**:4987-4891.
29. Kimberlin R.H, 1976. *Scrapie in the Mouse*. Meadowfield Press, Durham, England.
30. Bellinger-Kawahara C.G., Kempner E., Groth D.F., Gabizon R., Prusiner S.B. 1988. Scrapie prion liposomes and rods exhibit target sizes of 55,000 Da. *Virology* **164**:537-541.
31. Gabizon R., Prusiner S.B. 1990. Prion liposomes. *Biochem J* **266**:1-14.
32. Safar J., Ceroni M., Piccardo P., Liberski P.P., Miyazaki M., Gajdusek D.C., Gibbs C.J., Jr. 1990. Subcellular distribution and physicochemical properties of scrapie associated precursor protein and relationship with scrapie agent. *Neurology* **40**:503-508.
33. Bellinger-Kawahara C., Diener T.O., Mckinley M.P., Groth D.F., Smith D.R., Prusiner S.B. 1987. Purified scrapie prions resist inactivation by procedures that hydrolyze, modify, or shear nucleic acids. *Virolgy* **160**:271-274.

34. Alper T., Cramp W.A., Haig D.A., Clarke M.C. 1967. Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid? *Nature* **214**:764-766.
35. Bellinger-Kawahara C., Cleaver J.E., Diener T.O., Prusiner S.B. 1987. Purified scrapie prions resist inactivation by UV irradiation. *J Virol* **61**:159-166.
36. Mckinley M.P., Masiarz F.R., Isaacs S.T., Hearst J.E., Prusiner S.B. 1983. Resistance of the scrapie agent to inactivation by psoralens. *Photochem Photobiol* **37**:539-545.
37. Prusiner S.B. 1982. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* **216**:136-144.
38. Brown P., Wolff A., Gajdusek D.C. 1990. A simple and effective method for inactivating virus infectivity in formalin-fixed samples from patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* **41**:887-890.
39. Prusiner S.B., Mckinley M.P., Groth D.F., Bowman K.A., Mock N.I., Cochran S.P., Masiarz F.R. 1981. Scrapie agent contains a hydrophobic protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **78**:6675-6679.
40. Mckinley M.P., Bolton D.C., Prusiner S.B. 1983. A protease-resistant protein is a structural component of the scrapie prion. *Cell* **35**:57-62.
41. Prusiner S.B., Groth D.F., Mckinley M.P., Cochran S.P., Bowman K.A., Kasper K.C. 1981. Thiocyanate and hydroxyl ions inactivate the scrapie agent. *Proc Natl Acad Sci USA* **78**:4606-4610.
42. Prusiner S.B., Mckinley M.P., Bolton D.C., Bowman K.A., Groth D.F., Cochran S.P., Hennessey E.M., Braunfeld M.B., Baringer J.R., Chatigny M.A., 1984. "Prions: methods for assay, purification and characterization." In: *Methods in Virology*. Maramorosch K., Koprowski H., Eds. Academic Press, New York, pp. 293-345.
43. Prusiner S.B., Groth D., Serban A., Stahl N., Gabizon R. 1993. Attempts to restore scrapie prion infectivity after exposure to protein denaturants. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**:2793-2797.
44. Taylor D.M., Woodgate S.L., Atkinson M.J. 1995. Inactivation of the bovine spongiform encephalopathy agent by rendering procedures. *Vet Rec* **137**:605-610.
45. Taylor D.M., Woodgate S.L., Fleetwood A.J., Cawthorne R.J.G. 1997. Effect of rendering procedures on the scrapie agent. *Vet Rec* **141**:643-649.
46. Prusiner, S.B., et al. 1984. (42)
47. Prusiner, S.B., et al. 1993. (43)
48. Taylor D.M., Woodgate S.L., Atkinson M.J. 1995. (44)
49. Taylor, D.M. et al. 1997. (45)
50. Brown P., Wolff A., Gajdusek D.C. 1990. (38)
51. Brown P., Wolff A., Gajdusek D.C. 1990. (38)

• Seção VII-E: Agentes Rickettsiais

Agente: *Coxiella burnetii*

Dos agentes rickettsiais, a *Coxiella burnetii* provavelmente é o agente que apresenta o maior risco de uma infecção laboratorial. O organismo é altamente contagioso e incrivelmente resistente à secagem e as condições ambientais¹. A dose infecciosa dos organismos da Fase I virulenta em laboratórios animais tem sido calculada como sendo tão pequena quanto um único microorganismo. A dose humana infecciosa estimada ID₂₅₋₅₀ (inalação) para a febre Q é de 10 organismos². O resumo de Pike indica que a febre Q é a segunda infecção associada a laboratório mais comumente relatada, com surtos envolvendo 15 ou mais pessoas registradas em várias instituições^{3, 4}. Vários mamíferos domésticos e selvagens são os hospedeiros naturais da febre Q e podem servir como fontes potenciais de infecção para as pessoas que trabalham em um laboratório e para os tratadores de animais de laboratórios. A exposição a ovelhas naturalmente infectadas e freqüentemente assintomáticas e seus filhotes são parte de um risco documentado ao pessoal^{5, 6}. Embora rara, a *C. burnetii* é conhecida por causar infecções crônicas como a endocardite ou a hepatite granulomatosa.

Riscos em Laboratório: A necessidade do uso de ovos embrionários ou de técnicas de cultura celular para a reprodução da *C. burnetii* leva a extensivos procedimentos de purificação. A exposição aos aerossóis contagiosos e inoculação parenteral são as fontes mais prováveis de contágio para as pessoas que trabalham em laboratórios e as que tratam de animais⁷. Os agentes podem ser encontrados em artrópodes infectados, no sangue, urina, fezes, leite e tecidos de hospedeiros animais ou humanos infectados. As placentas de ovelhas infectadas podem conter até 10⁹ organismos por grama de tecido⁸, enquanto que o leite pode conter 10⁵ organismos por grama.

Precauções Recomendadas: As práticas e as instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicados para procedimentos

laboratoriais não reprodutivos, incluindo os exames sorológicos e a coloração de impressão dos esfregaços. As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 3 são indicadas para atividades envolvendo a inoculação, incubação e a coleta de ovos embrionados ou de culturas de células, a necropsia de animais infectados e a manipulação de tecidos infectados. Uma vez que cobaias e outros roedores podem conter o agente nas fezes ou urina⁹, os roedores experimentalmente infectados deverão ser mantidos sob um Nível de Biossegurança Animal 3. O isolamento clonal específico de cepas não virulentas (Fase II) pode ser considerado para condições de contenção inferiores¹⁰.

Spinelli¹¹ e Bernard¹² descreveram as precauções recomendadas para as instalações, quando ovelhas são utilizadas como animais experimentais. Uma nova Fase I de investigação, a vacina contra a febre Q (IND), já se encontra disponível para os indivíduos incluídos no Special Immunizations Program (USAMRIID), em Fort Detrick, Maryland. O uso da vacina deve se limitar aos indivíduos que estão expostos a altos riscos e que não tenham demonstrado sensibilidade ao antígeno da febre Q. Os indivíduos que possuem uma doença cardiovalvular não deverão trabalhar com a *C. burnetii*.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deve ser obtida através do CDC. No caso de uma licença para exportação, esta deverá ser conseguida através do Department of Commerce. O registro do laboratório junto ao CDC é necessário para o envio ou recebimento do agente. Já a licença para importação ou transporte doméstico deste agente poderá ser obtida através do USDA/APHIS/VS.

Agente: *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia typhi* (*R. mooseri*), *Orientia* (*Rickettsia*) *tsutsugamushi* e os agentes do Grupo da Febre Maculosa de doença humana; *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia akari*, *Rickettsia australis*, *Rickettsia siberica* e *Rickettsia japonicum*.

Pike relatou 57 casos de tifo (tipo não especificado) associado a laboratório, 56 casos de tifo epidêmico com três mortes e alguns

casos de tifo murino¹³. Mais recentemente, três casos de tifo murino foram relatados em um laboratório de pesquisa¹⁴. Dois destes três casos estavam associados ao manuseio de materiais infecciosos em bancadas abertas e o terceiro caso foi provocado por uma inoculação parenteral acidental. Esses três casos representaram uma incidência de 20% das pessoas que trabalham com materiais infecciosos.

A febre maculosa das Montanhas Rochosas é um risco documentado para as equipes laboratoriais. Pike relatou 63 casos adquiridos em laboratório, dos quais 11 foram fatais¹⁵. Oster, por sua vez, registrou 9 casos que ocorreram por um período de 6 anos em um laboratório, que acreditava serem resultantes de uma exposição aos aerossóis infecciosos¹⁶.

Riscos em Laboratório: A inoculação parenteral acidental e a exposição aos aerossóis contagiosos são as fontes mais prováveis de infecções associadas a laboratório¹⁷. A transmissão bem sucedida através de aerossóis contaminados por *R. rickettsii* foi documentada experimentalmente em primatas não-humanos¹⁸. Cinco casos de varíola por riquetsia registrados por Pike estavam associados a exposição às picadas de ácaros infectados¹⁹.

Mamíferos naturalmente ou experimentalmente infectados, seus ectoparasitas e seus tecidos infectados são considerados riscos potenciais de infecção humana. Os organismos são relativamente instáveis sob condições ambientais normais.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para procedimentos laboratoriais não reprodutivos, incluindo procedimentos sorológicos e de anticorpo fluorescente e ainda a coloração de impressão dos esfregaços. As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 3 são indicadas para todas as outras manipulações de materiais sabiamente ou potencialmente infecciosos, incluindo a necropsia de animais experimentalmente infectados e trituração de seus tecidos, a inoculação, incubação e coleta de ovos embrionados e culturas de células. As práticas e instalações do Nível de

Biossegurança Animal 2 são indicadas para o alojamento de mamíferos, com exceção dos artrópodes, experimentalmente infectados. Já as práticas e instalações do Nível 3 são indicadas para estudos animais com artrópodes naturalmente ou experimentalmente infectados por agentes rickettsiais da doença humana.

Devido ao valor comprovado da terapia com antibióticos nos estágios iniciais da infecção, é essencial que os laboratórios que trabalham com a riquetsia possuam um sistema eficaz de relato de doenças febris na equipe laboratorial, uma avaliação médica de casos potenciais e, quando indicado, a instituição de uma terapia antibiótica adequada. As vacinas, atualmente, não estão a disposição para uso em homens (veja a seção seguinte sobre Vigilância).

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deve ser obtida através do CDC. No caso de uma licença para exportação, esta deverá ser conseguida através do Department of Commerce. O registro do laboratório junto ao CDC é necessário para o envio ou recebimento do agente.

Vigilância da Equipe Laboratorial em relação às Infecções Rickettsiais Adquiridas em Laboratórios.

Sob circunstâncias naturais, a gravidade da doença causada por agentes rickettsiais varia consideravelmente. Em laboratório, inoculações muito grandes são possíveis, o que poderia produzir respostas raras, mas muito sérias. A vigilância da equipe em relação às infecções por rickettsias adquiridas a laboratório pode reduzir de forma dramática o risco de sérias conseqüências da doença.

A experiência mostra que as infecções quando adequadamente tratadas com quimioterapia anti-rickettsial específica no primeiro dia da doença, geralmente não provocam sérios problemas no indivíduo. A demora em adotar esta quimioterapia, porém, pode resultar em uma doença debilitante ou muito aguda variando com períodos crescentes de convalescença

no caso do tifo e em morte no caso de tifo rural em infecções por *R. rickettsii*. A chave para a redução da gravidade da doença provocada por infecções associadas a laboratório é um sistema confiável de vigilância que inclui: 1. Disponibilidade total de um médico experiente; 2. Doutrinação de toda a equipe sobre os riscos potenciais do trabalho com agentes rickettsiais e as vantagens de uma terapia precoce, 3. Um sistema de relatórios para todas as exposições conhecidas e para todos os acidentes ocorridos, 4. Relatórios de todas as doenças febris, especialmente as associadas a dor de cabeça, mal-estar e prostração quando não existir nenhuma outra causa e 5. Uma atmosfera de não punição que possa motivar o relato de qualquer doença febril.

Os agentes rickettsiais podem ser manipulados em um laboratório com um perigo real mínimo quando um sistema adequado de vigilância for complementado por uma equipe que tenha conhecimento sobre os riscos de infecções por riquétsias e usos de medidas seguras recomendadas pelo Resumo das Características dos Agentes.

Referências

1. Wedum, A.G. and Kruse, R.H. 1969. *Assessment of risk of human infection in the microbiology laboratory*. Misc Pub 30, Industrial Health and Safety Directorate, Fort Detrick, Frederick, Md.
2. Wedum, A.G., Barkley, W.E., and Hellman, A. 1972. Handling of infectious agents. *J. Am Vet Med Assoc* **161**:1557-1567.
3. Oliphant, J.W., et al. 1949. Q fever in laundry workers, presumably transmitted from contaminated clothing. *Am J Hyg* **49**(1):76-82.
4. Pike, R.M. 1976. Laboratory associated infections: Summary and analysis of 3.921 cases. *HLth Lab Sci* **13**:105-114.
5. Centers for Disease Control. 1979. Q fever at a university research center – California. *MMWR* **28**.
6. Spinelli, J.S., et al. 1981. Q fever crisis in San Francisco: Controlling a sheep zoonosis in a lab animal facility. *Lab Anim* **10**(3):24-27.
7. Oliphant, J.W., et al. 1949. (3).
8. Welsh, H.H. et al. 1951. Q fever in California IV. Occurrence of *Coxiella burnetii* in the placenta of naturally infected sheep. *Public Health Rep* **66**:1473-1477.

9. Pike, R.M., 1976. (4).
10. Hackstadt, T., 1996. Biosafety concerns and *Coxiella burnetii* (Letter). Trends Microbiol. **4**:431-432.
11. Spinelli, J.S. et al. 1981. Q fever in San Francisco: Controlling a sheep zoonosis in a lab animal facility. Lab Anim **10**(3):24-27.
12. Bernard, K.W., et al. 1982. Q fever control measures: Recommendations for research of facilities using sheep. Inf Control **3**:461-465.
13. Pike, R.M. 1976 (4).
14. Centers for Disease Control. 1978. Laboratory-acquired endemic typhus. MMWR **27**(26):215-216.
15. Pike, R.M. 1976 (4).
16. Oster, C.N. et al. 1977. Laboratory-acquired Rocky Mountain spotted fever. The hazard of aerosol transmission. N Engl J Med **297**:859-862.
17. Hattwick, M.A.W., O'Brien, R.J., and Hanson, B.F. 1976. Rocky Mountain Spotted Fever; epidemiology of an increasing problem. Ann Intern Med **84**: 732-739.
18. Satow, S., Carlisle, H.N. 1966. Aerosol infection of monkeys with *Rickettsia rickettsii*. Bact Ver **30**:636-645.
19. Pike, R.M. 1976. (4)

• Seção VII-F: Agentes Virais (não incluindo o arbovírus)

Agentes: *Hantavírus*

O trabalho com o vírus de Hantaan (febre hemorrágica com síndrome renal) e outros hantavírus (Puumala, Seul e Sin Nombre sendo ou não registrados no *International Catalogue of Arboviruses and Certain Other Viruses* – 1985, como o vírus El Moro Canyon) em ratos, ratazana e outros roedores de laboratório, deverá ser conduzido com especial cuidado devido ao risco extremo de contágio por aerossóis, especialmente da urina de roedores infectados.

A Síndrome Pulmonar por Hantavírus (HPS) é uma nova doença grave e freqüentemente fatal, causada pelo vírus Sin Nombre e/ou um vírus relacionado¹. A maioria dos casos de patologias humanas resultou de exposições a roedores selvagens naturalmente infectados. Os vetores artrópodes não são conhecidos como transmissores do hantavírus. Nenhuma transmissão de um indivíduo para outro foi provocada por um vírus associado a essa doença.

Riscos em Laboratório: A transmissão laboratorial do hantavírus de roedores para os homens através do aerossol é bem documentada^{2, 3, 4, 5}. As exposições às excreções de roedores, material fresco para necropsia e roupas que envolvem os animais de laboratório são supostamente associadas ao risco. Outras vias potenciais de infecção incluem a ingestão, o contato de materiais contagiosos com membranas mucosas ou pele rachada e, em particular, mordidas de animais.

Quatro trabalhadores de laboratório foram infectados enquanto trabalhavam com o vírus Hantaan adaptado a uma cultura de células. Embora os procedimentos associados às infecções ainda não estejam bem explicados, esses quatro indivíduos trabalharam repetidas vezes com culturas de hantavírus e realizaram a centrifugação do vírus concentrado⁶. O RNA viral foi detectado em amostras de necropsias e no sangue e plasma de um paciente

coletados no início da doença⁷. As implicações destas descobertas para a infectividade do sangue ou dos tecidos são desconhecidas.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para o manuseio laboratorial de soros de pessoas potencialmente infectadas com os agentes da HPS. O uso de uma cabine de segurança biológica certificada é recomendado para todas as manipulações com líquidos humanos corporais quando existe um potencial para a formação de borrifos ou aerossóis.

Amostras de tecidos potencialmente infectados deverão ser manipuladas em instalações do NB-2 seguindo as práticas e procedimentos do NB-3. A reprodução do vírus em culturas de células deverá ser realizada em uma instalação do NB-3, seguida das práticas e procedimentos do NB-3. O crescimento em grande escala do vírus, incluindo a preparação e manuseio dos concentrados virais, deverá ser feito em instalações de contenção do NB-4.

Espécies de roedores experimentalmente infectados conhecidos por **não** apresentarem o vírus nas fezes poderão ser alojados em instalações do NBA-2, usando práticas e procedimentos do NBA-2. As cabines de segurança e outros dispositivos de contenção física primária deverão ser utilizados onde procedimentos com um alto potencial para formação de aerossóis estiverem sendo conduzidos. O soro ou amostras de tecidos de roedores potencialmente infectados deverá ser manipulado em NB – 2, usando práticas e procedimentos de um NB-3. Todo o trabalho envolvendo a inoculação do vírus contendo amostras do *P. maniculatus* ou outras espécies permissivas deverá ser conduzido em NBA-4.

Transferência do Agente: A licença para importação destes agentes deve ser conseguida através do CDC. A licença para exportação deverá ser conseguida junto ao Department of Commerce e é necessário o registro do laboratório junto ao CDC antes do envio ou recebimento destes agentes.

Agente: *Hendra e Vírus Semelhantes a Hendra (inclusive o vírus anteriormente conhecido como Morbilivirus Equino)*

Surtos de um paramixovírus anteriormente desconhecido, que foi primeiramente chamado de morbilivírus eqüino e posteriormente denominado de “vírus Hendra”, ocorreram em cavalos na Austrália em 1994 e 1995^{8, 9, 10,11,12}. Três pessoas que possuíam um contato próximo com cavalos enfermos desenvolveram a encefalite ou a doença respiratória e duas faleceram. Nenhum surto associado à doença humana foi reconhecido, mas dois indivíduos que trabalhavam em chiqueiro de porcos lembraram de uma doença que tiveram semelhante à gripe, na mesma época em que ocorreram os surtos. Além disto, todos os dois indivíduos possuíam titulações neutralizadoras de anticorpos ao vírus de Menangle. De 1998 a 1999, um surto da doença provocado por um vírus semelhante, mas distinto do Hendra aconteceu na Cingapura e Malásia¹³. Nestes dois países, a doença humana - caracterizada por febre, dor de cabeça grave, mialgia e sinais de encefalite – acometeu indivíduos que tiveram um contato próximo com porcos (isto é, fazendeiros e trabalhadores de abatedouros). Poucos pacientes desenvolveram uma doença respiratória. Metade das pessoas infectadas por esse vírus faleceram. O(s) hospedeiro(s) natural(is) da Hendra e de vírus semelhantes a Hendra não foram identificados. Porém, na Austrália os morcegos eram animais suspeitos de carregarem o vírus Hendra. Estudos epidemiológicos e laboratoriais estão em andamento.

Nenhuma infecção adquirida em laboratório é conhecida por ter sido resultante da exposição ao Hendra ou ao vírus semelhante a Hendra. Porém, deve-se observar que nos surtos da Austrália e da Malásia/Cingapura, o vírus foi reconhecido como um significativo patógeno veterinário. Estudos laboratoriais foram limitados aos laboratórios de doenças infecciosas humanas e/ou veterinárias de alta contenção. Os cientistas e veterinários da saúde pública, por sua vez, têm acompanhado de perto todos estes estudos.

Riscos em Laboratório: O modo exato de transmissão ainda não foi estabelecido. Todos os casos até hoje estavam associados

ao contato próximo com cavalos, e com o sangue ou líquidos corporais de cavalos (Austrália) ou de porcos (Malásia/Cingapura). O vírus Hendra e o semelhante a ele foram encontrados nos tecidos de animais contaminados durante os surtos descritos acima. Em um recente surto na Malásia e em Cingapura, o antígeno viral foi descoberto no sistema nervoso central, tecidos renais e pulmonares de casos humanos fatais¹⁴.

Precauções Recomendadas: Devido aos riscos desconhecidos para os trabalhadores do laboratório e ao impacto potencial sobre criações de animais nativos, o vírus deverá ser pesquisado ou diagnosticado no laboratório. Os fiscais da saúde e os gerentes dos laboratórios deverão avaliar a necessidade de se realizar um trabalho com esse vírus e a capacidade das dependências antes de iniciarem qualquer trabalho com o Hendra, com o vírus semelhante ao Hendra ou com vírus suspeitos relacionados. Especialistas em doenças da saúde pública e veterinária deverão desenvolver planejamentos como estudos laboratoriais e transporte de amostras e de substâncias isoladas para o laboratório. Até que mais informações sejam conseguidas, o manuseio de amostras clínicas humanas ou tentativas de isolamento deste vírus deverá ser realizado em dependências de um NB-3 e por pessoas experientes. O NB-4 (laboratório escafandro ou cabines de segurança Classe III) deverá ser utilizado em qualquer trabalho envolvendo animais contaminados ou envolvendo grandes quantidades de vírus¹⁵.

Transferência do agente: A licença para importação deste agente deve ser obtida através do CDC. No caso de uma licença para exportação, esta deverá ser conseguida através do Department of Commerce. O registro do laboratório junto ao CDC é necessário para o envio ou recebimento do agente.

Agente: Vírus da Hepatite A, Vírus da Hepatite E

As infecções com os vírus da hepatite A e E adquiridas em laboratório não parecem ser importantes riscos ocupacionais para as equipes laboratoriais. Porém, a doença é um risco documentado para as pessoas que manuseiam animais e para outros que trabalham com chimpanzés e outros primatas não-humanos

experimentalmente ou naturalmente contaminado¹⁶. O vírus da hepatite E parece ser um risco menor para as pessoas que trabalham com ele do que o grande risco envolvendo os que manuseiam o vírus da hepatite A, exceto durante a gravidez quando a infecção pode resultar em uma doença fatal ou grave. Os trabalhadores que manipulam outros primatas recentemente capturados e susceptíveis (macacos coruja, sagüis) podem também estar correndo um sério risco.

Riscos em Laboratório: Os agentes podem ser encontrados nas fezes, saliva e sangue de humanos e primatas não-humanos contaminados. A ingestão de fezes, água de vaso sanitário e de outros materiais contaminados é o risco primário para a equipe laboratorial. A importância da exposição aos aerossóis não foi demonstrada. Cepas atenuadas ou não virulentas dos vírus da hepatite A resultantes de passagens em série em cultura celular foram descritas^{17, 18}.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de segurança e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicados para atividades com fezes humanas ou de primatas não-humanos conhecida ou potencialmente contaminada. Já as práticas e instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para atividades que usem primatas não-humanos naturalmente ou experimentalmente contaminados. Os tratadores de animais deverão usar luvas e tomar outras precauções adequadas para evitar possíveis exposições fecal-oral. Uma vacina inativada licenciada contra a hepatite A está disponível na Europa. Nos Estados Unidos encontramos somente uma vacina de pesquisa que é a recomendada para os trabalhadores de laboratório. As vacinas contra a hepatite E não estão disponíveis para o uso em humanos.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: *Vírus da Hepatite B, Vírus da Hepatite C (anteriormente conhecido como Vírus não-A e vírus não-B) e Vírus da Hepatite D*

A hepatite B tem sido uma das infecções associadas a laboratório¹⁹ mais freqüentemente encontrada e os trabalhadores

de laboratório são reconhecidos como o grupo de maior risco de contaminação por este vírus²⁰. Os indivíduos contaminados pelo vírus da hepatite B correm o risco de contraírem o vírus da hepatite D (delta), que é incompleto e requer a presença do vírus da hepatite B para se reproduzir.

A infecção por hepatite C pode acontecer em um laboratório. A prevalência do anticorpo da hepatite C é levemente maior em trabalhadores da área da saúde pública do que na população em geral. Evidências epidemiológicas indicam que a hepatite C é disseminada predominantemente pela via parenteral^{21, 22,23}.

Riscos em Laboratório: O vírus da hepatite B pode ser encontrado no sangue e produtos sanguíneos de origem humana, na urina, sêmen, líquido cerebroespinal e saliva. A inoculação parenteral, exposição das membranas mucosas e da pele lesada aos perdigotos são os riscos primários laboratoriais. O vírus pode ser estável no sangue ou nos componentes do sangue seco. Cepas atenuadas ou não virulentas não foram identificadas.

O vírus da Hepatite C tem sido detectado primariamente em sangue e soro, menos freqüentemente na saliva e raramente em urina ou semen. E aparece ser relativamente instável, quando estocado em temperatura ambiente, e em congelamentos e descongelamentos repetidos.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades utilizando líquidos corporais e tecidos conhecidamente ou potencialmente contaminados. Precauções pessoais e contenção primária adicional, como as descritas para o Nível de Biossegurança 3, podem ser indicadas para atividades com potencial para a formação de perdigotos ou aerossóis e para as atividades envolvendo quantidades ou concentrações de produção de materiais infecciosos. As práticas, equipamento de contenção e instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicadas para atividades que utilizem chimpanzés ou outros primatas não-humanos contaminados naturalmente ou experimentalmente. Deve-se usar luvas quando trabalhos com

animais contaminados estiverem sendo realizados ou quando houver a possibilidade de contato da pele com materiais contaminados. As vacinas recombinantes licenciadas contra a hepatite B estão disponíveis e são altamente recomendadas e oferecidas aos trabalhadores e laboratórios²⁴. Já as vacinas contra a hepatite C e D ainda não estão disponíveis para uso humano.

Além destas precauções recomendadas, as pessoas que trabalham com o HBV, HVC ou outros patógenos do sangue deverão consultar o ASHA Bloodborne Pathogen Standard²⁵. Questões relacionadas à interpretação destes padrões deverão ser direcionadas aos escritórios federais, regionais e estaduais da OSHA.

Transferência do Agente: A licença para importação destes agentes deverá ser obtida através do CDC.

Agentes: Herpesvirus simiae (Cercopithecine herpesvirus [CHV-1], B-virus)

O CHV-1 é um alfa herpesvírus que ocorre naturalmente contaminando símios livres ou em cativeiro incluindo a *Macaca mulatta*, *M. fascicularis* e outros membros do gênero. Em símios este está associado a lesões orais vesiculares agudas, assim como infecções latentes e freqüentemente recrudescentes²⁶. A infecção humana tem sido documentada em pelo menos 50 casos, geralmente com um resultado fatal ou com sérias seqüelas de encefalites^{27, 28, 29, 30, 31, 32,33}. Vinte e nove casos fatais de infecções humanas (com um índice de fatalidade de 58%) com o CHV-1 foram relatados^{34, 35, 36,37}.

Embora o CHV-1 apresente um risco potencial aos trabalhadores de laboratórios que manipulam esse agente, as infecções humanas com o CHV-1 adquiridas em laboratório, com raras exceções, se limitaram aos trabalhadores que tiveram um contato direto com os símios. As culturas celulares primárias de símios, incluindo as células dos rins do macaco reso comercialmente preparadas, ocasionalmente podem ser

assintomaticamente contaminadas com o CHV-1 e estavam comprometidas em um caso humano³⁸.

O treinamento específico periódico sobre a avaliação do risco, a compreensão dos modos de transmissão e exposição ao CHV-1 e o uso adequado de equipamentos de proteção pessoal são itens altamente recomendados para as pessoas que trabalham com ou que possuam um contato direto com símios, seus tecidos e com um meio ambiente potencialmente contaminado por eles (incluindo gaiolas, brinquedos e materiais de dejetos). É necessário um treinamento adequado para primeiros socorros e para o abastecimento, além de um apoio médico emergencial.

Riscos em Laboratório: O alojamento assintomático acontece na maioria das transmissões entre os macacos e os trabalhadores humanos, embora o maior risco de se adquirir o vírus CHV-1 de símios seja através da mordida de um macaco contaminado e que possua lesões ativas. A contaminação da pele rachada ou das membranas mucosas por secreções orais, oculares ou urogenitais de símios contaminados durante suas infecções recrudescentes ou primárias é também perigosa e tem provocado pelo menos um caso de mortalidade ocupacional³⁹. A estabilidade de partículas virais em gaiolas e outras superfícies não é conhecida, mas o risco potencial dever ser reconhecido para cortes ou abrasões provocados por estas superfícies potencialmente contaminadas. Acredita-se que outros alfa herpesvírus não irão persistir no meio ambiente por longo tempo. O trabalho experimental com animais indica que a importância da exposição aos aerossóis do CHV-1 é possivelmente mínima. Cepas atenuadas ou não virulentas ainda não foram identificadas.

O agente também pode ser encontrado em vísceras torácicas e abdominais e nos tecidos nervosos de símios naturalmente contaminados. Esses tecidos e as culturas preparadas a partir deles, são riscos potenciais⁴⁰.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades

envolvendo o uso ou manipulação de tecidos líquidos corporais e materiais para cultura de tecidos de símios. As práticas e precauções individuais adicionais, como as detalhadas para o Nível de Biossegurança 3, são indicadas para atividades envolvendo o uso ou a manipulação de qualquer material conhecido por conter ou por suspeitamente conter o CHV-1, incluindo a reprodução *in vitro* do vírus para diagnóstico. Seria prudente limitar as manipulações de culturas positivas contendo altas titulações de vírus para instalações do Nível de Biossegurança 4 (CSB de Classe III ou laboratório escafandro - veja Seção III), dependendo da decisão do diretor do laboratório.

As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 4 são recomendadas para as atividades envolvendo a reprodução e a manipulação de quantidades e concentrações de produção de CHV-1.

Todas as colônias de símios, mesmo as que acreditamos não possuírem o anticorpo do CHV-1, devem ser vistas como naturalmente contaminadas. Os animais com lesões orais sugestivas de uma infecção pelo vírus B ativo deverão ser identificados e manipulados com extremo cuidado. Os estudos com animais experimentalmente contaminados por CHV-1 deverão ser conduzidos em um ANB-3.

Existem normas para o trabalho seguro com símios e estas deverão ser consultadas^{41, 42}. O uso de luvas, máscaras e jalecos ou macacões de laboratórios é recomendado para todas as pessoas enquanto estiverem trabalhando com primatas não-humano – especialmente símios e outras espécies do Velho Mundo – e para todas as pessoas que entrarem nas salas de animais onde os primatas não-humanos são alojados. Para minimizar o potencial da exposição da membrana mucosa⁴³, alguma forma de barreira deverá ser utilizada para prevenir a contaminação dos olhos, boca e narinas por borrifos e perdigotos. O uso de diferentes tipos de equipamento de proteção individual (óculos de proteção, óculos com escudos sólidos ou escudos faciais usados juntamente com máscaras e respiradores) deve ser obrigatório para a avaliação do risco em laboratório. As especificações do equipamento deverão ser

balanceadas com o trabalho realizado, de maneira que as barreiras selecionadas não aumentem o perigo apresentado pelo local de trabalho obscurecendo a visão e contribuindo para o aumento de mordidas, picadas por agulhas ou arranhões de animais.

As drogas antivirais representam grandes promessas em relação à terapia de coelhos contaminados com *H. simiae* e a limitada experiência clínica^{44, 45} sugere que esta pode ser estendida ao homem^{46, 47}. Devido à gravidade da infecção com este vírus, pessoas com experiência médica deverão estar constantemente presentes e disponíveis para que pudessem gerenciar os incidentes envolvendo as exposições ao agente ou as infecções suspeitas. A transmissão de homens para homens foi documentada em um único caso, mostrando que se devem tomar cuidado com líquidos vesiculares, secreções orais e secreções conjuntivais de pessoas contaminadas⁴⁸. As vacinas não estão disponíveis para o uso em humanos.

Transferência do Agente: A licença para a importação deste agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: Herpesvírus Humano

Os herpesvírus são patógenos humanos ubíquos e são comumente encontrados em uma variedade de materiais clínicos submetidos ao isolamento do vírus. Embora poucos vírus sejam agentes comprovadamente causadores de infecções associadas a laboratórios, eles são patógenos primários e oportunistas, especialmente em hospedeiros imunocomprometidos. Os vírus herpes simples 1 e 2, e o vírus da varicela apresentam algum risco pelo contato direto e/ou aerossóis. Já os citomegalovírus e o vírus Epstein-Barr apresentam riscos de infecção relativamente baixos para as equipes de laboratórios. O risco de uma infecção laboratorial tendo os herpesvírus 6 e 7 como agentes etiológicos ainda é desconhecido. Embora esse grupo diversificado de agentes virais nativos não atenda aos critérios para que possam ser incluídos no resumo das características dos agentes (isto é, risco comprovado ou alto risco potencial para infecções associadas a laboratório e

para graves seqüelas provocadas por uma infecção), a frequência de sua presença em materiais clínicos e o uso comum deste grupo em pesquisas garante sua inclusão nesta publicação.

Riscos em Laboratório: Os materiais clínicos e as substâncias isoladas dos herpesvírus apresentam um risco de infecção após a ingestão, inoculação parenteral acidental, exposição das membranas mucosas dos olhos, nariz ou boca aos perdigotos ou inalação de materiais concentrados nebulizados. As amostras clínicas contendo o *Herpesvirus simiae* (vírus B) mais virulento podem ser inadvertidamente submetidas a diagnóstico de uma suspeita infecção por herpes simples. O vírus também foi encontrado em culturas de células renais primárias do macaco reso. O citomegalovírus pode ser um risco especial durante a gravidez devido à infecção potencial do feto.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de contenção e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para atividades que utilizem materiais clínicos sabidamente ou potencialmente infecciosos ou culturas de agentes virais nativos que estejam associadas ou sejam identificadas como patógeno primário de doença humana. Embora existam poucas evidências de que os aerossóis infecciosos sejam uma fonte significativa de infecções associadas a laboratório, é mais prudente evitar a formação de aerossóis durante a manipulação de materiais clínicos ou de produtos isolados, ou durante a necropsia de animais. Os dispositivos de contenção primária (cabines de segurança biológica) constituem a barreira básica de proteção dos trabalhadores para evitar a exposição de aerossóis infecciosos.

Transferência do Agente: A licença para importação destes agentes deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: Influenza

As infecções adquiridas em laboratórios e que possuem o vírus da influenza como agente causador não são normalmente documentadas na literatura. Entretanto deve-se considerar dados

informais e relatórios publicados que indicam que quando novas cepas que apresentam um desvio ou uma flutuação antigênica foram introduzidas em um laboratório para o diagnóstico ou pesquisa acabaram por causar infecções deste tipo⁴⁹.

As infecções adquiridas em laboratórios animais, por sua vez, não foram relatadas, mas há uma grande possibilidade de transmissão através de doninhas infectadas para o ser humano e vice e versa.

Riscos em Laboratório: O agente pode ser encontrado em tecidos ou secreções respiratórias de humanos ou de grande parte de animais contaminados e na cloaca de muitas espécies de aves contaminadas. O vírus pode ser disseminado em múltiplos órgãos de algumas espécies animais infectadas.

O risco laboratorial primário é a inalação do vírus através de formação de aerossóis de materiais de animais contaminados ou pela aspiração, suspensão ou mistura de amostras contaminadas pelo vírus. A manipulação genética tem um potencial de alterar o alcance, a patogenicidade e a composição dos vírus da influenza. Existe um potencial desconhecido na introdução de vírus humanos transmissíveis com uma nova composição antigênica.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para o recebimento e inoculação rotineira de amostras laboratoriais para diagnósticos. O material para autópsia deverá ser manipulado em uma cabine de segurança biológica usando os procedimentos do Nível de Biossegurança 2.

Atividades Utilizando Cepas de Vírus Não Contemporâneas: Os requisitos para a Biossegurança no caso de uma infecção adquirida em laboratório e transmissão subsequente, devem estar de acordo com as informações disponíveis sobre a patogenicidade e virulência das cepas que estão sendo usadas e o potencial de danos para o ser humano ou para a sociedade. As atividades de produção e pesquisa utilizando cepas contemporâneas podem ser realizadas com segurança usando as práticas de contenção do Nível

de Biossegurança 2. A susceptibilidade à infecção com cepas humanas não contemporâneas mais velhas, recombinantes, ou com substâncias isoladas de animais garante o uso de procedimentos de contenção do Nível 2. Mas não há evidências para infecções adquiridas em laboratório com referência as cepas A/PR/8/34 e A/WS/33, ou com suas variantes neurotrópicas mais comumente usadas.

Transferência de Agente: A licença para importação deste agente deverá ser feita junto ao CDC. Já a licença para importação ou transporte doméstico deverá ser obtida junto ao USDA/APHIS/VS.

Agente: Vírus da Coriomeningite Linfocítica

As infecções com o vírus LCM adquiridas em laboratórios são bem documentadas onde ocorram infecções em roedores de laboratório – especialmente camundongos, hamsters e cobaias^{50, 51, 52}. Os camundongos desprotegidos podem oferecer riscos especiais por alojarem infecções crônicas silenciosas. As culturas celulares, que inadvertidamente se tornaram contaminadas, representam uma fonte potencial de infecção em de disseminação do agente. As infecções naturais são encontradas em primatas não-humanos, incluindo chimpanzés e macacos sagüis (o vírus *Callitrichid* é um vírus coriomeningite linfocítica) e pode ser fatal para os sagüis. Os suínos e cães são vetores menos importantes.

Riscos em Laboratório: Esse agente pode ser encontrado no sangue, líquido cerebroespinal, urina, secreções da nasofaringe, fezes e tecidos de hospedeiros animais contaminados e possivelmente do homem. A inoculação parenteral, inalação, contaminação das membranas mucosas ou de peles rachadas por tecidos ou líquidos contaminados de animais infectados são os riscos mais comuns. A transmissão por aerossóis também é bem documentada⁵³. O vírus pode oferecer um risco especial durante a gravidez devido à infecção potencial do feto.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para as atividades que

utilizam líquidos corporais sabidamente ou potencialmente infecciosos e passagem de cultura celular de cepas de células cerebrais de camundongo adaptadas para laboratório. As práticas e instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são adequadas para estudos em camundongos adultos com cepas de passagem cerebrais de rato. Porém, a contenção e precauções individuais adicionais, como as descritas para o Nível de Biossegurança 3, são indicadas para atividades que possuam um alto potencial para a formação de aerossóis ou atividades que envolvam quantidades ou concentrações de produção de materiais infecciosos. Estas precauções também são recomendadas para a manipulação de tumores contaminados infectáveis, isolamento de campo e materiais clínicos de casos humanos. As práticas e instalações do Nível de Biossegurança Animal 3 são recomendadas para o trabalho com hamsters contaminados. As vacinas não estão disponíveis para uso em humanos⁵⁴.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deve ser obtida junto ao CDC.

Agente: Poliovírus

As infecções com o poliovírus adquiridas em laboratórios são raras e se limitam às pessoas que trabalham diretamente com este vírus em laboratório e que não são vacinadas⁵⁵. Existem no mínimo 12 casos documentados de infecções por poliovírus associados a laboratório, incluindo duas mortes entre 1941 e 1976⁵⁶. Porém, uma vez que ~1% das infecções com o poliovírus resultou em patologia, sem uma confirmação laboratorial é impossível estimar precisamente os números das infecções adquiridas em laboratório. Com vacinas eficazes, instalações laboratoriais eficazes, tecnologia e procedimentos são bem possível que estas infecções já sejam raras em laboratórios. Mas, se os trabalhadores de um laboratório se contaminarem, esses se tornarão uma fonte de vírus para a população não vacinada⁵⁷. As infecções em animais, associadas a laboratório, entretanto, não tem sido relatadas⁵⁸, mas os primatas não-humanos experimentalmente ou naturalmente contaminados poderiam ser uma fonte de infecção se expostos às pessoas não

imunizadas. Os ratos transgênicos apresentam o receptor humano para o poliovírus e podem também ser fontes potenciais de infecção humana.

Riscos em Laboratório: Esse agente está presente nas fezes e em secreções de garganta de pessoas infectadas. A ingestão ou a inoculação parenteral de tecidos ou líquidos infecciosos por trabalhadores não imunizados é considerada como risco primário de infecção em laboratórios. As exposições laboratoriais oferecem um risco insignificante para as pessoas adequadamente imunizadas.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades que utilizam líquidos sabidamente ou potencialmente infecciosos e materiais clínicos contendo ou suspeitos de conter cepas do tipo selvagens. Todos os trabalhadores de laboratórios que trabalhem diretamente com o agente deverão possuir um atestado de vacinação ou provas sorológicas da imunidade a todos os três tipos de poliovírus⁵⁹. As práticas e instalações do Nível de Biossegurança Animal 2 são indicados para estudos de vírus virulentos em animais. Á menos que existam fortes razões científicas para o trabalho com poliovírus virulentos (que foram erradicados dos Estados Unidos), os laboratórios deverão usar cepas de vacina oral Sabin de poliovírus atenuado. Essas não oferecem risco algum à equipe imunizada dos laboratórios.

A Organização Mundial de Saúde (WHO) tem publicado guias documentadas⁶⁰ relacionados ao trabalho com este poliovírus selvagem. A partir de 1999, os laboratórios que manipulam o poliovírus deverão estabelecer um NB-2 (específico para pólio) para todos os trabalhadores que manipulam ou que forem manipular o poliovírus selvagem. As NB-2 para pólio seguem os requisitos do NB-2 tradicional quanto às instalações, práticas e procedimentos com os seguintes acréscimos: 1) todos os estoques de poliovírus e materiais potencialmente infecciosos serão descartados quando não houver mais a necessidade de retê-los para a realização de pesquisa ou diagnósticos; 2) todas as pessoas que entrarem no laboratório deverão estar completamente imunizadas contra o vírus da pólio; 3) o acesso ao laboratório deverá ser restrito; 4) todos os poliovírus

selvagens retidos no laboratório deverão ser relacionados e armazenados em uma área separada e segura com acesso limitado; 5) somente os vírus que forem prontamente identificáveis por métodos moleculares serão usados se as cepas de vírus selvagens ou estoques de trabalho forem necessários; e 6) o descarte de poliovírus selvagens, materiais infecciosos e materiais potencialmente infecciosos deverá ser feito utilizando a esterilização e/ou a incineração.

Todos os laboratórios que desejarem guardar materiais contaminados por poliovírus selvagem ou potencialmente infeccioso deverão começar a implementação dos procedimentos de contenção do Nível de Biossegurança 3 para pólio e fornecer a documentação necessária para implementação até o segundo ano. No caso de laboratórios que desejarem ser qualificados como uma instalação de NB-3/pólio e quiserem reter materiais contaminados por poliovírus deverão, então, ser relacionados na Agency/Institutional e no National Inventories. Já os que não desejarem a conversão para uma contenção de NB específica para a pólio deverão destruir todos os materiais contendo o poliovírus selvagem ou potencialmente infecciosos através da incineração ou uso da autoclave. Uma outra alternativa seria o contato com um depósito designado pela Organização de Saúde Pública específico para contenção de agentes de um NB-3/pólio, e que serão responsáveis pelo transporte e armazenamento dos materiais selecionados.

Quando a imunização pela OPV (vacina oral de poliovírus vivos) terminar, todo o trabalho com o poliovírus selvagem ficará restrito a laboratórios de contenção máxima (NB-4). Essas deverão ser em laboratórios cabines ou laboratórios de roupa de proteção (Seção III).

Transferência do Agente: A licença para a importação deste agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: Poxvírus

Casos esporádicos de infecções por poxvírus (catapora, vacínia, yabapox, tanabox) foram relatados⁶¹. Evidências

epidemiológicas sugerem que a transmissão do vírus do macaco para homens ou de roedores para homens possa ter ocorrido na natureza, mas não nas dependências de um laboratório. Animais de laboratórios naturalmente ou experimentalmente contaminados são fontes potenciais de infecção para pessoas que trabalham em um laboratório e que não são vacinadas. Vírus da vacínia recombinantes reproduzidos geneticamente oferecem um risco potencial ainda maior para a equipe laboratorial devido ao contato direto ou contato com materiais clínicos de voluntários ou animais contaminados.

Riscos em Laboratório: Esses agentes podem ser encontrados em líquidos de lesões ou em escaras, secreções respiratórias ou tecidos de hospedeiros contaminados. A ingestão, inoculação parenteral e a exposição de membranas mucosas ou da pele rachada aos perdigotos ou aerossóis de líquidos ou tecidos infecciosos são os riscos primários para trabalhadores de laboratórios e tratadores de animais. Alguns poxvírus são estáveis em temperatura ambiente quando secos e podem ser transmitidos através dos fômites.

Precauções Recomendadas: A posse e uso do vírus da varíola ficam restritos ao Collaborating Center for Smallpox and Other Poxvirus Infections da Organização Mundial de Saúde localizado nos Centros de Controle e Prevenção de Doenças em Atlanta, Geórgia. As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são recomendadas para todas as atividades envolvendo o uso ou a manipulação de poxvírus, com exceção do vírus da varíola, que apresentam um grande risco de infecção aos homens. Todas as pessoas que trabalham dentro de um laboratório ou que forem entrar nas áreas de laboratórios ou áreas dos animais onde atividades com os vírus vaccínia, vírus da varíola bovina e de macacos estiverem sendo conduzidas deverão possuir um atestado de vacinação. Esta imunização deverá ter sido realizada dentro de um período de dez anos. As atividades com os vírus relacionados acima em quantidades maiores que as apresentadas nas culturas para diagnóstico, poderão também ser conduzidas em um Nível de Biossegurança 2, mas por pessoas imunizadas – já que todas as

manipulações de materiais viáveis deverão ser realizadas em cabines de segurança biológica Classe I ou II. Indivíduos imunodeprimidos correm um risco de adquirirem uma patologia ainda mais grave quando infectado por um poxvírus⁶⁴.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida junto ao CDC. No caso de uma licença para exportação, esta deverá ser obtida através do Department of Commerce. O registro dos laboratórios junto ao CDC deverá ser obtido antes do envio ou recebimento destes agentes.

Agente: Vírus da Raiva

As infecções provocadas por este agente e adquiridas em laboratório são extremamente raras. Somente duas foram documentadas. Todas as duas resultaram de uma suposta exposição a neovas infecciosa de altas titulações, sendo uma formada em um local de produção da vacina⁶⁵ e a outra em um local de pesquisa⁶⁶. Os animais naturalmente ou experimentalmente contaminados, seus tecidos e excreções constituem uma fonte potencial de exposição para o pessoal do laboratório e tratadores de animais.

Riscos em Laboratório: Este agente pode estar presente em todos os tecidos de animais contaminados. As maiores titulações são encontradas em tecidos, glândulas salivares e saliva do Sistema Nervoso Central. A inoculação acidental, cortes ou farpas de equipamento laboratorial contaminado, mordidas de animais infectados e exposição de membranas mucosas ou pele rachada a líquidos ou tecidos contaminados, são as fontes mais prováveis de riscos para a equipe laboratorial e tratadores de animais. Já os aerossóis contaminados ainda não foram demonstrados como sendo um perigo comprovado ao pessoal que trabalha com materiais clínicos e que conduzem exames de diagnósticos. Cepas fixas ou atenuadas deste vírus são supostamente menos perigosas, mas os únicos dois casos comprovados de raiva adquiridos em laboratórios resultaram de exposição de um Padrão Viral Desafiador (CVS) fixo e de uma cepa atenuada derivada de uma cepa SAD (Street Alabama Dufferin), respectivamente^{67, 68}.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades que utilizam materiais sabidamente ou potencialmente infecciosos. A imunização é recomendada para todos os indivíduos antes que se inicie o trabalho com o vírus da raiva ou com animais infectados, ou atividades que envolvam o diagnóstico, produção ou pesquisa do vírus. A imunização também é recomendada para todos os indivíduos que forem entrar na mesma sala onde o vírus da raiva ou de animais contaminados estiver sendo usado. Embora não seja sempre possível abrir o crânio ou retirar o cérebro de um animal infectado dentro de uma cabine de segurança biológica, é essencial o uso de luvas pesadas de proteção para prevenir cortes ou farpas de instrumentos cortantes ou de fragmentos de ossos e também o uso de um escudo facial para proteção das membranas mucosas dos olhos, nariz e boca quanto à exposição destas aos perdigotos infecciosos ou fragmentos de tecidos. Se a serra de Stryker for usada para abrir o crânio, evite o contato do cérebro com a lâmina da serra. A contenção primária e as precauções individuais adicionais, como as descritas para o Nível de Biossegurança 3, poderão ser indicadas para atividades com um alto potencial de formação de aerossóis ou perdigotos e para as atividades que envolvam quantidades ou concentrações de materiais infecciosos em grande escala.

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: Retrovírus, incluindo o Vírus da Imunodeficiência Humana e o Vírus da Imunodeficiência Símia(HIV e SIV)

Os dados sobre a transmissão da HIV ocupacional em trabalhadores de um laboratório são coletados através de dois sistemas de vigilância nacional apoiados pelos CDC: vigilância quanto a: 1) AIDS e 2) pessoas infectadas pelo HIV que não adquiriram a infecção através de exposições ocupacionais. Para propósitos de vigilância, os trabalhadores de laboratórios são definidos como as pessoas, incluindo estudantes e estagiários, que trabalham ou já trabalharam em um laboratório para diagnóstico

do HIV ou laboratório clínico a partir de 1987. Os casos reportados nestes dois sistemas são classificados como uma transmissão ocupacional possível ou documentada. As que são classificadas como transmissão ocupacional documentada possuem evidências de uma soroconversão do HIV (um teste HIV negativo no momento da exposição que se alterou e se tornou positivo) seguido de uma discreta exposição ocupacional percutânea ou mucocutânea ao sangue, líquidos ou outras amostras clínicas ou laboratoriais. Até junho de 1998, o CDC havia registrado 16 trabalhadores de laboratórios (todos clínicos) nos Estados Unidos com transmissão ocupacional documentada⁶⁹.

Em 1992, dois trabalhadores de diferentes laboratórios desenvolveram o Vírus da Imunodeficiência de Símios (SIV) após terem se exposto. Um caso estava associado a uma picada de agulha que aconteceu enquanto o trabalhador estava manipulando uma agulha contaminada com sangue após uma hemorragia em um macaco infectado por SIV⁷⁰. Já o outro envolveu um trabalhador que manipulava amostras de sangue de um macaco infectado pelo SIV sem usar luvas. Embora ele não se lembrasse deste incidente específico, este indivíduo apresentou dermatites nos antebraços e mão enquanto trabalhava com amostras de sangue infectado⁷¹. O primeiro trabalhador apresentou uma soroconversão e, portanto não apresentou evidência alguma de infecção pelo SIV. O segundo era soropositivo durante pelo menos nove anos sem evidência alguma da doença ou de deficiência imunológica.

Publicações recentes^{72, 73} identificaram a prevalência (4/231, 1.8%) da infecção por vírus espumosos de símios (SFV) entre humanos ocupacionalmente expostos a primatas não-humanos. O diagnóstico de infecções por SFV inclui a soropositividade, detecção de DNA proviral e isolamento do vírus espumoso. O SFV se originou do macaco-verde africano (uma pessoa) e de babuínos (três pessoas). Essas infecções ainda não provocaram doenças ou transmissão sexual, e podem representar infecções endpoints benignas.

Riscos em Laboratório: O HIV tem sido isolado do sangue, sêmen, saliva, lágrimas, urina, líquido cerebroespinal e tecido de

peessoas infectadas e de primatas não-humanos experimentalmente infectados⁷⁴. O CDC recomenda que o cuidado com o sangue e líquidos corporais seja usado consistentemente quando amostras de sangue contaminadas estejam sendo manipuladas^{75, 76}. Esta abordagem, chamada de “precauções universais”, inclui a necessidade de identificar as amostras clínicas obtidas de pacientes soropositivos ou de se realizar um teste HIV da amostra.

Embora o risco de um HIV adquirido ocupacionalmente ser primariamente através da exposição ao sangue contaminado, deve-se usar luvas quando outros líquidos corporais como fezes, saliva, urina, lágrimas, suor, vômito e leite do seio humano estiverem sendo manipulados. Este procedimento também reduzirá o potencial de exposição a outros microorganismos que possam causar outros tipos de infecções.

No laboratório, deve-se supor que o vírus esteja presente em todas as amostras sanguíneas e clínicas contaminadas por sangue, em qualquer tecido ou órgão (que não seja a pele intacta) humano (vivo ou morto) não fixado, em culturas de HIV, em todos os materiais derivados de culturas de HIV e em/sobre equipamentos e dispositivos que tenham um contato direto com qualquer um destes materiais.

Já o SIV tem sido isolado no sangue, líquido cerebroespinal e em uma variedade de tecidos de primatas não-humanos infectados. Existem dados limitados sobre a concentração do vírus no sêmen, saliva, líquido cerebroespinal, urina, leite materno humano e no líquido amniótico. No laboratório, deve-se supor que o vírus esteja presente em todas as culturas com SIV, em animais experimentalmente infectados ou inoculados com SIV, em todos os materiais derivados de culturas de HIV ou de SIV e em/sobre todos os equipamentos de dispositivos que tenham um contato direto com qualquer um destes materiais⁷⁷.

No laboratório, a pele (especialmente quando arranhões, cortes, abrasões, dermatites ou outras lesões estiverem presentes) e as membranas mucosas dos olhos, nariz e boca deverão ser consideradas como vias de entradas potenciais destes retrovírus.

Não se sabe se a infecção pode ocorrer via trato respiratório. A necessidade do uso de objetos cortantes no laboratório deverá ser avaliada. Agulhas, instrumentos afiados, vidros quebrados e outros objetos afiados deverão ser cuidadosamente manipulados e adequadamente descartados. Deve-se tomar cuidado para prevenir a formação de borrifos ou vazamento do líquido de cultura de células contaminadas e de outros materiais contendo o vírus ou potencialmente contaminados⁷⁸.

Precauções Recomendadas:

Além das seguintes precauções recomendadas, as pessoas que trabalham com o HIV, SIV ou outros patógenos presentes no sangue deverão consultar o OSSHA Bloodborne Pathogen Standard⁷⁹. As questões relacionadas à interpretação deste Padrão deverão ser dirigidas aos escritórios Federais, regionais ou estaduais da OSHA.

1. O padrão do NB-2 e práticas especiais, equipamento de contenção e instalações são indicadas para as atividades que envolvam **todas** as amostras clínicas contaminadas com sangue, líquido corporal e tecidos de **todos** os homens ou de animais laboratoriais inoculados ou infectados com SIV ou HIV.
2. As atividades como a produção de quantidades em grande escala para laboratórios de pesquisas de HIV ou SIV, manipulação de preparações concentradas de vírus e condução de procedimentos que possam formar perdigotos ou aerossóis, deverão ser realizadas em um local de NB-2, mas usando práticas e equipamentos de contenção adicionais recomendadas para o Nível de Biossegurança 3.
3. As atividades que envolvem volumes em escala industrial ou preparação de HIV ou SIV concentrado deverão ser conduzidos em um local de NB-3, usando práticas e equipamento de contenção 3.
4. Primatas não-humanos ou outros animais infectados com HIV ou SIV deverão ser alojados em instalações de NB-2 usando práticas especiais e equipamento de contenção de NBA-2.

Comentários Adicionais:

1. Não existem evidências que as roupas usadas em laboratório representam um risco para a transmissão do retrovírus; porém, as roupas contaminadas pelo HIV ou o SIV deverão ser descontaminadas antes de serem encaminhadas para a lavanderia ou descartadas. A equipe do laboratório deverá retirar a roupa usada neste local antes de se dirigirem às áreas não pertencentes ao laboratório.
2. As superfícies de trabalho deverão ser descontaminadas com um germicida químico apropriado depois do procedimento ser concluído, quando as superfícies estiverem excessivamente contaminadas e no final de cada dia de trabalho. Muitos desinfetantes químicos vendidos comercialmente^{80, 81, 82, 83,84} poderão ser utilizados para a descontaminação das superfícies do laboratório e de alguns instrumentos, para limpeza local de roupas contaminadas usadas em laboratório e para vazamento de materiais infecciosos. A descontaminação imediata de vazamentos ocorridos deverá ser uma prática padrão.
3. O soro humano de qualquer fonte usado como um controle ou reagente em um teste deverá ser manipulado em um NB-2.
4. Recomenda-se que todas as instituições estabeleçam normas por escrito em relação ao gerenciamento das exposições em laboratório do HIV e SIV juntamente com as leis federais, estaduais e locais aplicáveis. Tais normas deverão considerar como confidenciais questões como o consentimento para realização de teste, administração de terapia de drogas profiláticas adequadas⁸⁵, aconselhamento e outros itens relacionados. Se um trabalhador do laboratório expuser a membrana mucosa ou parenteral ao sangue, líquido corporal ou material de cultura viral, o material utilizado deverá ser identificado e, se possível, testado para verificação da presença do vírus. Se o material fonte for HIV positivo para o antígeno, vírus ou anticorpo, ou não possuir quantidade suficiente para realização do teste, o trabalhador deverá ser aconselhado

sobre o risco de infecção e deverá ser avaliado clinicamente e sorologicamente para evidência de uma infecção por HIV. A profilaxia pós-exposição deverá ser oferecida de acordo com as últimas normas. O trabalhador deve ser advertido a relatar e procurar atendimento médico caso haja a ocorrência de um quadro agudo de febre, com 12 semanas após a exposição⁸⁶. Uma vez que a doença possui características singulares, se o indivíduo apresentar sintomas como febre, erupções ou linfadenopatias, estes poderão ser indicativos de uma infecção recente ao HIV. Se no início (no momento da exposição) o teste for negativo, o trabalhador deverá refazer o teste 6 semanas depois da exposição e a partir daí periodicamente (isto é, na 12ª semana e no 6º, 9º e 12º mês após a exposição). Durante este acompanhamento, os trabalhadores expostos deverão ser aconselhados a prevenirem a transmissão do HIV^{87, 88, 89, 90, 91}.

5. Outros agentes patogênicos oportunistas e primários poderão estar presentes nos líquidos corporais e tecidos de pessoas infectadas com o HIV. Os trabalhadores de laboratórios deverão seguir as práticas de biossegurança aceitas para assegurar uma proteção máxima contra a exposição inadvertida aos agentes que podem também estar presentes em amostras clínicas ou em amostras obtidas de primatas não-humanos^{92, 93, 94}.

A pesquisa envolvendo outros retrovírus humanos (isto é, vírus linfotrópico-T tipo I e II) e de símios está sendo desenvolvida em muitos laboratórios. Uma vigilância recente para essas infecções revelou a exposição e infecção ocupacional pelo vírus espumoso do símio entre zeladores de animais de locais de pesquisa laboratoriais^{95, 96}. As precauções destacadas acima deverão ser suficientes enquanto o trabalho com esses agentes estiver sendo conduzido.

Os laboratórios que trabalham com vetores do retrovírus, especialmente os que possuírem genomas moleculares infecciosos de longa duração (HIV-1), deverão ser manipulados em NB-2 sob a

prática de NB-2/3. Isto inclui os clones infecciosos derivados de vírus não-humanos, mas que possuem uma esfera de hospedeiro xemotrópio (especialmente para células humanas).

Transferência do Agente: A licença para importação deste agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (por agentes da Creutzfeldt-Jakob, kuru e outros agentes)

As infecções por encefalopatias espongiformes transmissíveis e adquiridas em laboratório (doenças priônica) ainda não foram documentadas. Porém, existe uma evidência de que a doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD) tenha sido iatrogenicamente transmitida aos pacientes através de transplantes de córnea, transplante da dura-máter e extração do hormônio do crescimento das glândulas pituitárias humanas e através da exposição aos eletrodos eletroencefalográficos contaminados⁹⁷. A infecção é sempre fatal. Não se conhece um reservatório não-humano para a CDJ ou para a kuru. Os primatas não-humanos e outros animais de laboratórios foram contaminados através da inoculação, mas não existem evidências de uma transmissão secundária. A “scrapie” de ovelhas e cabras, a encefalopatia espongiforme bovina e a encefalopatia de visões são encefalopatias espongiformes transmissíveis de animais que são semelhantes às doenças humanas transmissíveis. Entretanto, não existem evidências de que as doenças animais possam ser transmitidas ao homem. (Veja também a Seção VII-D, Prions).

Riscos em Laboratório: Altas titulações de um agente transmissível foram encontradas no cérebro e medula espinhal de pessoas com kuru. Em pessoas com a doença de Creutzfeldt-Jakob e as variantes da Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Schenker, encontrou-se um agente transmissível semelhante no cérebro, baço, fígado, nódulos linfáticos, pulmões, medula espinhal, rins, córnea e lentes e no líquido espinhal e sangue. A inoculação parenteral acidental, especialmente de tecidos nervosos, incluindo amostras de tecidos não fixados, é extremamente perigosa. Embora

os tecidos não - nervosos sejam bem menos infecciosos, todos os tecidos de homens e de animais infectados com esses agentes deverão ser considerados potencialmente perigosos. O risco de uma infecção através de aerossóis, perdigotos e de exposições da pele intacta, das membranas mucosas e gástricas não é conhecido; mas não há evidência de contaminações por transmissão através de aerossóis ou contato. Esses agentes são caracterizados pela extrema resistência aos procedimentos de inativação convencionais incluindo a radiação, a ebulição, o calor seco e as substâncias químicas (formalina, betapropiolactona, álcool). Porém, eles foram inativados através do uso de NaOH a 1 N, ao hipocloreto de sódio (concentração sem cloro ³ 2%) e da autoclave a vapor durante quatro horas e meia em uma temperatura de 132° C.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades utilizando tecidos e líquidos sabiamente ou potencialmente infecciosos de homens naturalmente infectados e de animais experimentalmente infectados. Deve-se tomar um extremo cuidado para evitar a auto-inoculação acidental ou outras inoculações parenterais traumáticas de tecidos e líquidos infecciosos⁹⁸. Embora não haja evidências que sugiram a transmissão via aerossóis na doença natural, é mais prudente evitar a formação de aerossóis ou perdigotos durante a manipulação de tecidos e líquidos e durante a necropsia de animais experimentais. Recomenda-se muito o uso de luvas para as atividades que proporcionem o contato da pele com tecidos e líquidos infectados. Os tecidos fixados em formaldeído e imersos em parafina, especialmente os tecidos do cérebro, permanecem infecciosos. Recomenda-se, então, que os tecidos de casos suspeitos de encefalopatia fixados em formalina, sejam imersos em ácido fórmico a 96% durante trinta minutos antes do processamento histopatológico⁹⁹. As vacinas não estão disponíveis para uso em humanos¹⁰⁰.

Transferência do Agente: A licença para importação destes agentes deverá ser obtida através do CDC. A licença para importação ou transporte doméstico do vírus da encefalopatia espongiforme bovina poderá ser obtido através do USDA/APHIS/VS.

Agente: Vírus da Estomatite Vesicular (VSV)

Um número de infecções por cepas *nativas do VSV adquiridas* em laboratório foi relatado¹⁰¹. As atividades laboratoriais com essas cepas apresentam dois diferentes níveis de risco ao pessoal do laboratório e estão relacionadas, pelo menos em parte, à história das passagens das cepas utilizadas. As atividades que usam criações, seus tecidos infectados e substâncias virulentas isoladas destas fontes são um perigo demonstrado aos funcionários do laboratório e aos tratadores de animais^{102, 103}. Os índices de soroconversão e doença clínica em pessoas que trabalham com estes materiais são altos¹⁰⁴. Riscos semelhantes podem estar associados às cepas exóticas como a Piry¹⁰⁵.

Em contraste, informações não oficiais indicam que as atividades com cepas menos virulentas adaptadas a laboratório (por exemplo, Indiana, San Juan e Glasgow) são raramente associadas com a soroconversão ou com a doença. Essas cepas são comumente utilizadas por biólogos moleculares, frequentemente em grandes volumes e altas concentrações, sob condições de contenção mínima ou nenhuma contenção primária. Algumas cepas do VSV são consideradas organismos restritos pelos regulamentos da USDA (9CFR 122.2). Ratos infectados experimentalmente não serviram como uma fonte documentada de infecção humana.

Riscos em Laboratório: O agente pode ser encontrado no líquido vesicular, tecidos de animais infectados e no sangue e secreções de garganta de homens infectados. A exposição aos aerossóis ou perdigotos contaminados, ao contato direto da pele e da membrana mucosa com os tecidos e líquidos infectados e a auto-inoculação acidental, são os perigos primários associados com a substância virulenta isolada. A inoculação parenteral acidental e a exposição aos aerossóis infectados representam os riscos potenciais ao pessoal que trabalha com cepas menos virulentas adaptadas aos laboratórios.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do nível de biossegurança 3 são indicadas para atividades que envolvam o

uso ou a manipulação de tecidos infectados e substâncias virulentas isoladas de animais de criação infectados naturalmente ou experimentalmente. As luvas e a proteção respiratória são recomendadas para a necropsia e manuseio de animais infectados. As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicadas para atividades que utilizam cepas adaptadas em laboratórios de baixa virulência. As vacinas não estão disponíveis para uso em humanos.

Transferência do Agente: A licença para exportação deste agente deverá ser obtida no Department of Commerce. Já a licença para importação ou transporte doméstico para este agente deverá ser obtido no USDA/APHIS/VS.

Referências:

1. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory management of agents associated with hantavirus pulmonary syndrome: Interim biosafety guidelines, MMWR 1994; 43(RR-7).
2. Tsai TF. Hemorrhagic fever with renal syndrome: mode of transmission to humans. Lab Animal Sci 1987; 37:428-30.
3. Umenai T, Lee PW et al. Korean haemorrhagic fever in staff in an animal laboratory. Lancet 1979;1,314-6.
4. Desmyter J, LeDuc JW, Johnson KM, Brasseur F, Deckers C, van Ypersele de Strihou C. Laboratory rat-associated outbreak of haemorrhagic fever with renal syndrome due to Hantaan-like virus in Belgium. Lancet 1983; 1, 445-8.
5. Lloyd G, Bowsen ETW, Jones N. et al. HFRS outbreak associated with laboratory rats in UK. Lancet 1984;1,175-6.
6. Schmaljohn C, unpublished data, 1994.
7. Schmaljohn C, 1994 (15)
8. Selvey LA, Wells RM, McCornck JG, et al. Infection of humans and horses by a newly described morbillivirus. Med J Australia 1995; 162:642-5.
9. Hooper PT, Gould AR, Russel GM, Kattenbelt JA, Mitchell G. The retrospective diagnosis of a second outbreak of equine morbillivirus infection. Australian Vet J 1996; 74:244-5.
10. Rogers RJ, Douglas IC, Belcock FC, et al. Investigation of a second focus of equine morbillivirus infection in coastal Queensland. Australian Vet J 1996, 74:243-4.

11. Williamson MM, Hooper PT, Selleck PW, et al. Transmission Studies of Hendra virus (equine morbillivirus) in fruit bats, horses and cats. *Australian Vet J* 1998; 76:813-8.
12. Yu M, Hannsson E, Shiell B, Michalski W, Eaton BT, Wang L-F. Sequence analysis of the hendra virus of the subfamily paramyxovirinae. *J Gen Virol* 1998; 79:17775-80.
13. Centres for Disease Control and Prevention. 1999. Outbreak of Hendra-like Virus – Malaysia and Singapore, 1998-1999. *MMWR* 48 (13): 265-69.
14. Centers for Disease Control and Prevention 1999, (13).
15. Della-Porta AJ, and Murray PK. Management of Biosafety. In: *Anthology of Biosafety I; Perspectives on Laboratory Design*. Richmond JY, ed., American Biological Safety Association. Nundelein, IL. 1999.
16. Pike, R.M. 1979. Laboratory-associated infections: Incidence, fatalities, causes and prevention. *Ann Ver Microbiol* 33:41-66
17. Centers for Disease Control And Prevention. 1996. Prevention of Hepatitis A Through Active or Passive Immunization. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR* 45(RR-15):1-130.
18. Boylard, EA, Tablan, Oc.C., Williams, W.W., et al. 1998. Guidelines for infection control in health care personnel. *Asm Jnl Inf Control* 26:2389-354.
19. Pike, R.M. 1979 (1).
20. Skinholj, P. 1974. Occupational risks in Danish clinical chemical laboratories. II Infections. *Scan J Clin Lab Invest* 33:27-29.
21. Houghton, M., et al., 1991. Molecular biology of the hepatitis C viruses: Implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology* 14:381-388.
22. Miyamura, T., et al. 1990. Detection of antibody against antigen expressed by molecularly cloned hepatitis C virus DNA: application to diagnosis and blood screening for post-transfusion hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:983-987.
23. Centers for Disease Control and *Prevention*. 1997. Recommendations for follow-up of health care workers after occupational exposure to hepatitis C virus. *MMWR* 1997; 46:603-3-606.
24. Centers for Disease Control. 1990. Recommendations of the Immunizations Practices Advisory Committee (ACIP) – Inactivated hepatitis B virus vaccine. *MMWR* 39, No. RR-2.
25. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Adminis-

- tration. 1991. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182.
26. Wedum, A.G. and Kruse, R.H. 1969. Assessment of risk of human infection in the microbiology laboratory. Misc Pub 30, Industrial Health and Safety Directorate, Fort Detrick, Frederick, Md.
27. Pike, R.M. 1976. Laboratory-associated infections: Summary and analysis of 3,921 cases. Hlth Lab Sci 13:105-114
28. Pike, R.M. 1979. (1)
29. Centers for Disease Control and Prevention. 1998. Fatal Cercopithecine herpesvirus 1 (B Virus) Infection Following a Mucocutaneous Exposure and Interim Recommendations for Worker Protection. MMWR 47(49); 1073-6,1083
30. Artenstein, A.W., et al. 1991. Human infection with B Virus following a needlestick injury. Ver Infect Dis 13:288-91.
31. Holmes, G.P., et al. 1990. *B virus Herpesvirus simiae*: historical perspective. J. Med.
32. Perkins, F.T., and Hartley, E.G., 1966. Precautions against B virus infection. Brit Med J 1:899-901.
32. Palmer, A.E. 1987. B Virus, Herpesvirus simiae: historical perspective. J. Méd. Primatol 16:99-130.
33. Julia Hilliard, Ph.D. Personal Communication. Jan.20, 1998.
34. Pike, R.M. 1979. (1)
35. Pike, R.M. 1976. (12)
36. Weigler, B.J. 1992. Biology of B Virus in Macaque and Human Hosts: A Review. Clin Infect Dis 14:555-67.
37. Julia Hilliard, Ph.D. Personal Communication (18)
38. Holmes, G.P., et al. 1990. (31)
39. Centers for Disease Control. 1998 (29)
40. Wells, D.L., et al. 1989. Herpesvirus simiae: Contamination of Primary Rhesus Monkey Kidney Cell Cultures. Centers for Disease Control recommendations to Minimize risks To Laboratory Personnel. Diagn Microbiol Infect Dis 12:333-336.
41. Centers for Disease Control and Prevention. 1987. Guidelines for prevention of Herpesvirus simiae (B virus) Infection in monkey handlers. MMWR, 36:680-2, 687-9.
42. Perkins, F.T. and Hartley, E.G., 1966. Precautions against B virus infection. Brit Med J 1:899-901.
43. U.S Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 1996. Eye and face Protection, 29 CFR 1910.133
44. OSHA, 29 CFR 1910. 133 (42)

45. Holmes, G.P., Chapman, L.E., Stewart, J.A., et al. 1995. Guidelines for the prevention and Treatment of B-virus Infections in Exposed persons. Clin Inf Dis 20:421-39.
46. Artenstein, A.W., et al., 1991. Human Infection with B virus following a needlestick injury. Rev Infect Dis 13:288-91.
47. Holmes, G.P., et al. 1990 (31).
48. Holmes, G.P. et al. 1990 (31).
49. Dawdle, W.R. and Hattwick, M.A.W., 1977. Swine influenza virus infections in humans. J Infect Dis 136: Suppl: S386-389.
50. Bowen, G.S. et al. 1975. Laboratory studies of a lymphocytic choriomeningitis virus outbreak in man and laboratory animals. Am J Epidemiol 102:233-40.
51. Jailing, P.B., Peters, C.J. 1992. Lymphocytic choriomeningitis virus: A neglected pathogen of man. Arch Pathol Lab med 116:486-
52. Pike, R.M. 1976. (12).
53. Bowen, G.S., et al. 1975. (12).
54. Jahrling, P.B., Peters, C.J. 1992. (35).Pike, R.M., 1976. (12)
55. Pike, R.M. 1976. (12)
56. World Health Organization, Global Action Plan for Laboratory Containment of Wild Poliovirus, Geneva, February 15, 1999.
57. Mulders, et al. Genetic analysis of wild type poliovirus importation into the Netherlands (1979-1995). J Inf Dis 1997: 176:617-24.
58. Centers for Disease Prevention and Control, Office of Biosafety. 1974. Classification of etiologic *Agents on the Basis of Hazard*, 4th Edition. U.S Department of Health, education and Welfare, Public Health, Education and Welfare, Public Health Service.
59. Centers for Disease Control. 1982. Recommendations of the Advisory committee on Immunization Practices (ACIP). Poliomyelitis prevention; MMWER 29 (3):22-26 and 31-34.
60. World Health Organization. Propose global action plan and timetable for safe handling and maximum containment of wild poliovirus and potentially infectious materials. Global Program for Vaccines and Immunization, Geneva, 1998.
61. Pike, R.M. 1976 (12).
62. Centers for Disease Control. 1980. Smallpox Vaccines. Recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR. 29:417-420.
63. Centers for Disease Control. 1991. Vaccinia (Smallpox) Vaccine, Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) – MMWR 40, N° RR-14.

64. CDC, 1991. (47)
65. Winkler, W.G. 1973. Airborne rabies transmission in a laboratory worker. JAMA 226 (10): 1219-1221.
66. Centers for Disease Control. 1977. Rabies in a laboratory worker, New York. MMWR. 26 (22):183-184.
67. CDC, 1977. (50)
68. Winkler, W.G. 1973. (49).
69. Centers for Disease Control. HIVAIDS Surveillance Report, June 1998:10.
70. Khabbaz, R.F. et al. Simian Immunodeficiency virus needlestick accident in a laboratory worker. Lancet 340:271-273.
71. Centers for Disease Control. 1992. Seroconversion to a simian immunodeficiency virus in two laboratory workers. MMWR 41:678-681.
72. Centers for Disease Control. 1997. Nonhuman primate spumavirus infectious among persons with occupational exposures – United States, 1996. MMWR 46(6): 129-131.
73. Heneine, W., Switzer, W., Sandstrom, P. et al. 1998. Identification of a human population infected with simian foamy virus. Nature Medicine April 4(4):403-407.
74. Schochetman, G. and George, J.R. 1991. AIDAS Testing: Methodology and Management Issues. Springer-Verlag, New York.
75. 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, 37:337-382, 387, 388.
76. Centers for Disease Control. 1987, recommendations for Prevention of HIV transmission in Health-Care Settings. MMWR, 36(25):1-7.
77. Centers for Disease Control. 1988. Guidelines to prevent simian immunodeficiency virus infection in laboratory workers. MMWR 37:693-704.
78. Sotir, M., Switzer, W., Schable, C., Schmitt, J., Vitek, C. Khabbaz, R. 1997. Risk of occupational exposure to potentially infectious non-human primate materials and to simian immunodeficiency virus. J Med Primatol 26: 233-240.
79. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 1991. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed Register 56:64175-64182.
80. Fever, M.S. and Bond, W.W. 1991. Sterilization, Disinfections and Antisepsis in the Hospital. In: Lennette EH, Balows A. Hausler WJ, Shadomy HJ, eds. Manual of Clinical Microbiology, 4th Edition. Wash-

- ington, D.C. American Society for Microbiology: 183-200.
81. Martin L.S., McDouglas, J.S., and Loskoski, S.L. 1985. Disinfections and inactivation of the human T. lymphotropic virus type ill/lymphadenopathy-associated virus. J Infect Dis 152:400-3.
82. Resnik L, et al. 1986. Stability and inactivation of HTLV-III/LAV under clinical and laboratory environments. JAMA 255:1887-91.
83. Rutala, WA. 1990. APIC Guidelines for selection and use of disinfectants. Am J Infection Control. 18:99-117.
84. U.S. Environmental Protection Agency. 1986. Epa Guide for Infectious Waste Management. Washington D.C., U.S. Environmental Protection Agency; publication nº EPA/530-5W-86-014.
85. Centers for Disease Control. 1998. Public Health service Guidelines for the Management of Health Care worker Exposures to HIV and Recommendations for Post-Exposure Prophylaxis. MMWR 1998; 47 (Nº RR-7) 1-34.
86. Centers for Disease Control. 1987. Recommendations for prevention of HIV transmission in health0care settings. MMWR 36(suppl 2): 3S-18S.
87. Centers for Disease Control. 1986. Additional recommendation to reduce sexual and drug abuse-related transmission of human T-lymphotropic virus type ill/lymphadenopathy-associated virus MMWR 35: 152-5.
88. Centers for Disease Control. 1987. (60).
89. Centers for Disease Control 1987. Public Health service Guidelines for counseling and antibody testing to prevent HIV infections and AIDS. MMWR 36:509-15.
90. Centers for Disease Control and Prevention, 1996. (69)
91. McGray, E., Cooperative Needlestick Studt Group. 1986. Occupational risk of the acquired immunodeficiency syndrome among health-care workers. N England J Med 314:1127-32.
92. Centers for Disease Control. 1985. Revision of the case definition of acquired immunodeficiency syndrome for national reporting – united States. MMWRE 34:375-5.
93. Centers for Disease Control. 1986. Diagnosis and management of mycobacterial infection and disease in persons with T-lymphotropic vírus type ill/lymphadenopathy-associated virus infection. MMWR 35:448-52.
94. Centers for Disease Control. 1987. Revision of the Centers for Disease Control surveillance case definition for acquired immunodeficiency syndrome. MMWR 36(suppl 1): 1S-15S.

95. Heneine, W., Switzer, W., Sandstrom, P., et al. 1998. (57)
96. Centers for Disease Control. 1997. (56).
97. Jarvis, W.R., 1982. Precautions for Creutzfeldt-Jakob Disease Infect Control 3:238-239.
98. Gajdusek, D.C. et al. 1977. Precautions in the medical care and handling materials from patient with transmissible virus dementia (Creutzfeldt-Jakob Disease) N Engl J Med 297:1253-12258.
99. Brown, P., Wolff, A., and Gaudsek, D.C 1990. A simple and effective method for inactivating virus infectivity in formalin-fixed tissue samples from patients with Creutzfeldt-Jakob disease Neurology 40:887-890.
100. Centers for Disease Control 1991. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) – MMWR 40 N° RR-12.
101. Subcommittee on arbovirus Laboratory Safety for arboviruses and Certain Other Viruses of Vertebrates. 1980. Am J Trop Med Hyg 29 (6): 1350-1381.
102. Hanson, P.R., et al., 1950. Human infections with the virus of vesicular stomatitis. J Lab Clin Med 36:754-758.
103. Patterson, W.C., Mott, L.O., and Jenney, E.W. 1958. A study of vesicular stomatitis in man. J Am Vet Med assoc 133(1):57-62.
104. Patterson, W.C., Mott, L.O., and Jenney, E.W., 1958. (87)
105. Subcommittee on Arbovirus Laboratory Safety for Arboviruses and the Certain Other Viruses of Vertebrates. 1980. (85).

• Seção VII-G: Arbovírus e Vírus Zoonóticos Relacionados

Arbovírus Designados para o Nível de Biossegurança 2

O American Committee on Arthropod-Borne Viruses (ACAV) registou 537 casos de arbovírus até dezembro de 1997. Em 1979, o subcomitê da ACAV sobre a Segurança quanto ao Arbovírus em Laboratório (SALS – Subcommittee on Arbovírus Laboratory Safety) classificaram e registraram 424 vírus no *Catalogue of Arboviruses and Certain Other Viruses of Vertebrates*¹ (Catálogo de Arbovírus e Alguns Outros Vírus de Vertebrados) em um dos quatro grupos de práticas, equipamento de segurança e instalações recomendadas. Essas recomendações estão descritas nesta publicação como Níveis de Biossegurança 1-4². A SALS tem atualizado periodicamente a publicação de 1980, fornecendo uma lista suplementar para os arbovírus registrados desde 1979.

As classificações da SALS se baseiam nas avaliações do risco derivadas de informações fornecidas por uma pesquisa mundial de 585 laboratórios que trabalham com o arbovírus. A SALS recomenda que o trabalho com grande parte destes agentes seja conduzido em um nível semelhante ao Nível de Biossegurança 2 (Tabela 2). A SALS também reconhece cinco cepas de vacinas comumente usadas, nas quais a atenuação foi firmemente estabelecida. Esses vírus podem ser manipulados com segurança em um Nível de Biossegurança 2, uma vez que as pessoas que trabalham com essas cepas de vacinas são imunizadas (Tabela 2). A SALS classificou todos os vírus registrados, com os quais a experiência laboratorial é insuficiente como um Nível de Biossegurança 3 (Tabela 3) e reavalia a classificação assim que recebe novas informações.

Os vírus classificados como um NB-2, estão relacionados por ordem alfabética na Tabela 1 e incluem os seguintes agentes que são relatados como causadores de infecções adquiridas em laboratório^{3, 4, 5}.

Vírus	Casos
Estomatite Vesicular**	46
Febre do carrapato do Colorado	16
Dengue*	11
Pichinde	17

Relação de Agentes — Arbovírus e Vírus Zoonóticos Relacionados

Encefalomielite eqüina ocidental**	7 (2 mortes)
Rio Bravo	7
Kunjin	6
Catu	5
Caraparu	5
Rio Ross	5
Bunyamwera	4
Encefalomielite eqüina do leste** - *	4
Zika	4
Apeu	2
Marituba	2
Tacaribe	2
Murutucu	1
O'nyong nyong	1
Modoc	1
Oriboca	1
Ossa	1
Keystone	1
Bebaru	1
Bluetongue *-**	1

* Licença de exportação obtida através do Department of Commerce.

** A licença para importação ou transporte doméstico para este agente pode ser obtido através do USDA/APHIS/VS.

Os resultados de uma pesquisa realizada pela SALS indicam, claramente, que a fonte suspeita das infecções adquiridas em laboratório relacionadas acima não foi a exposição aos aerossóis infecciosos. A recomendação de que o trabalho com os 342 vírus relacionados acima na Tabela 1 seja conduzido em um Nível de Biossegurança 2, baseou-se na existência de uma experiência laboratorial durante toda a história para a avaliação dos riscos do trabalho com este grupo de vírus de riscos. Isto indica que (a) nenhuma infecção aberta e associada ao laboratório foi relatada; (b) as infecções foram provocadas por exposições diferentes das exposições aos aerossóis; ou (c) se a doença provocada pela exposição aos aerossóis foi documentada, ela é rara.

Riscos em Laboratório: Os agentes relacionados neste grupo podem ser encontrados no sangue, líquido cerebroespinhal, tecidos do sistema nervoso central e outros tecidos e em artrópodes infectados, dependendo do agente e do estágio da infecção. Os riscos primários em laboratórios são impostos pela inoculação parenteral acidental, contato do vírus com pele rachada ou membranas mucosas e mordidas de roedores e artrópodes de laboratório. Porém, os aerossóis infecciosos podem também ser uma fonte potencial de infecção.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de segurança e instalações do Nível de Biossegurança 2 são indicados para as atividades com materiais clínicos potencialmente infecciosos, ovos embrionados e roedores. A infecção de galinhas recém-nascidas pelos vírus da encefalomielite eqüina ocidental e do leste é especialmente perigosa e deverá ser manipulada por pessoas imunizadas em condições de um Nível de Biossegurança 3. As vacinas investigacionais (IND) contra a encefalomielite eqüina do leste e a ocidental estão a disposição através do Centro de Prevenção e Controle da Doença (telefone 404-639-3356) e através do Instituto de Pesquisa Médica de Doenças Infecciosas do Exército (USDAMRIID) em Fort Detrick, Maryland (telefone 301-619-2833). O uso destas vacinas é recomendado para as pessoas que trabalham diretamente e regularmente com esses dois agentes no laboratório.

Antes de 1988, foram relatados 12 casos de dengue adquiridos em laboratórios. Porém, de 1988 até 1991, somente quatro casos foram documentados. Em todos os quatro casos, não se usou uma roupa de segurança apropriada (jaleco de manga comprida amarrado atrás, luvas, máscaras e óculos de proteção) e em três casos a contenção para aerossóis potenciais em uma cabine de biossegurança de fluxo laminar foi ignorada. Esses sprays ou líquidos infectados possivelmente contaminaram a pele desprotegida ou rachada. Um fator adicional nestes casos foi o trabalho com quantidades de vírus altamente concentradas. A manipulação segura do vírus da dengue em laboratório (particularmente em preparações concentradas) requer uma obediência severa às recomendações do Nível de Biossegurança 2.

Grandes quantidades e/ou altas concentrações de qualquer vírus possui um potencial para superar os mecanismos imunes naturais e a imunidade induzida pela vacina. Quando um vírus do Nível de Biossegurança 2 é produzido em grandes quantidades ou em altas concentrações, os diretores dos laboratórios deverão garantir que a roupa de proteção adequada seja usada, como descrita no parágrafo acima, e que as manipulações sejam realizadas em cabines de biossegurança de fluxo laminar (Veja também a Seção V, Avaliação do Risco).

Transferência do Agente: A licença para importação destes agentes deverá ser conseguida através do CDC. O registro do laboratório junto ao CDC é necessário antes do envio ou recebimento destes agentes.

Tabela 1. Arbovírus e Arenavírus designados para o Nível d

Abras	Bagaza	Bouiboui
Abu Hammad	Bahig	Bujaru
Acado	Bakau	Bunyamwera
Acara	Baku	Bunyp Creek
Aguacate	Bandia	Burg El Arab
Alfuy	Bangoran	Bushbush
Almpiwar	Bangui	Bussuquara
Amapari	Banzi	Buttonwillow
Ananindeua	Barur	Bwamba
Anhangá	Batai	Cacao
Anhembi	Batama	Cache Valley
Anófilo A	Bauline	Caimito
Anófilo B	Bebaru	California enc.
Apeu	Belmont	Calovo
Apoi	Benevides	Candiru
Aride	Benfica	Cape Wrath
Arkonam	Bertioga	Capim
Aroa	Bimiti	Caraparu
Aruac	Birao	Catu
Arumowot	Bluetongue*	Chaco
Aura	Boracéia	Chagres
Avalon	Botambi	Chandipuras
Babahoyo	Boteke	Changuinola

Relação de Agentes — Arbovírus e Vírus Zoonóticos Relacionados

Chardleville	Gomoka	Kannamangalam
Chenuda	Gossas	Kao Shuan
Chilibre	Grand Arbaud	Karimabad
Chobar gorge	Great Island	Karshi
Clo Mor	Guajara	Kasba
Corriparta	Guama	Kemerovo
Cotia	Guaratuba	Kern Canyn
Cowbone Ridge	Guaroa	Ketapang
Csiro Village	Gumbo Limbo	Keterah
Cuiabá	Hart Park	Keuraliba
D'Aguilar	Highlands J	Keystone
Dengue-1	Huacho	Kismayo
Dengue-2	Hughes	Klamath
Dengue-3	Icoaraci	Kokobera
Dengue-4	Ieri	Kolongo
Dera Ghazi Khan	Ilesha	Koongol
do Leste **	Ilha Carey	Kowanyama
Doença Hem. Ep	Ilheus	Kunjin
Edge Hill	Ingwavuma	Kununurra
Encef. Eqüina	Inkoo	Kwatta
Encef. Eqüina	Ippy	La Crosse
Ocid. ** °	Irituia	La Joya
Erve	Isfahan	Landjia
Eubenangee	Itaporanga	Langat
Eyach	Itaqui	Lanjan
Feb. do carrapato	Jamestown Canyon	Las Maloyas
do Colorado	Japanaut	Latino
Febre do Mosquito-	Johnson Atoll	Le Bombo
Pólvora (Naples)	Joinjakaka	Le Dantec
Febre do Mosquito-	Juan Diaz	Lednice
Pólvora (Sicilian)	Jugra	Lipovnik
Febre Hem de	Jurona	Lokern
Símios	Jutiapa	Lone Star
Flanders	Kadam	Lukuni
Floresta Barmah	Kaeng Khoi	M'poko
Forte Morgan	Kaikalur	Madrid
Frijoles	Kaisodi	Maguari
Gamboa	Kamese	Main Drain
Gan Gan	Kammavanpettai	Malakal

Relação de Agentes — Arbovírus e Vírus Zoonóticos Relacionados

Manawa	Ntaya	Sakhalin
Manitoba	Nugget	Salehabad
Manzanilla	Nyamanini	San Angelo
Mapputta	Nyando	Sandjimba
Maprik	O'nyong-nyong	Sango
Marco	Okhotskiy	Sathuperi
Marituba	Okola	Sawgrass
Marrakai	Olifantsvlei	Sebokele
Mataría	Oriboca	Seletar
Matruh	Ossa	Serra do Navio
Matucare	Pacora	Shark River
Melao	Pacui	Sharmonda
Mermet	Palyam	Shuni
Minatitlan	Paraná	Silverwater
Minnal	Pata	Simbu
Mirim	Pathum Thani	Sindbis
Mitchell River	Patois	Sixgun City
Modoc	Pichinde	Snowshoew hare
Mono Lake	Pixuna	Sokuluk
Mont. Myotis leuk	Pongola	Soldado
Morcego Dakar	Ponteves	Sororoca
Morcego Entebe	Precarious Point	Stratford
Morcego Lagos	Pretoria	Sunday Canyon
Morcego Mount	Prospect Hill	Tacaiuma
Elgon	Puchong	Tacaribe
Morcego Phnom-Penh	Punta Salinas	Taggert
	Punta Toro	Tahyna
Moriche	Qalyub	Tamiami
Mosqueiro	Quaranfil	Tanga
Mossuril	Rede Mahogany	Tanjong Rabok
Murutucu	Restan	Tataguine
Mykines	Rio Bravo	Tehran
Navarro	Rio Grande	Tembre
Ncgaigan	Ross River	Tembusu
Nepuyo	Royal Farm	Tensaw
Nique	Sabo	Tete
Nkolbisson	Saboya	Tettnang
Nola	Saint Floris	Thimiri

Relação de Agentes — Arbovírus e Vírus Zoonóticos Relacionados

Thottapalayan	Umatilla	Warrego
Tibrogargan	Umbre	Whataroa
Timbo	Upolu	Witwatersand
Timboteua	Urucuri	Wongal
Toscana	Usutu	Wongorr
Toure	Uukuniemi	Wyeomyia
Tribec	Vellore	Yaquina Head
Triniti	Venkatapuram	Yata
Trivittatus	Vinces	Yogue
Tsuruse	Virgin River	Zaliv Terpeniya
Turlock	VS-Indiana	Zegla
Tyndholmur	VS-New Jersey	Zika
Tyuleny	Wad Medani	Zirqa
Uganda S	Wallal	
Uma	Wanowrie	

* A licença para a exportação deste agente deve ser obtida através do Department of Commerce.

** A vacina já se encontra disponível e é recomendada para todas as pessoas que trabalham com o agente.

° a licença para importação ou para o transporte doméstico para este agente poderá ser obtido junto ao USDA/APHIS/VS.

Transferência do Agente: A licença para importação destes agentes deve ser obtida através do CDC. O registro do laboratório junto ao CDC é necessário para o envio ou recebimento destes agentes.

Tabela 2. Cepas vacinais de vírus do NB-3/4 que podem ser manipulados em um Nível de Biossegurança 2.

<u>Vírus</u>	<u>Cepa da Vacina</u>
Chikungunya*	131/25
Junin*	Cândida N° 1
Febre do Vale Rift*	20 MP-12
Encefalomielite Equina Venezuelana*	TC-83
Febre amarela*	17-D

* A licença para exportação deve ser obtida através do Department of Commerce.

Arbovírus e Arenavírus Designados para o Nível de Biossegurança 3.

A SALS recomenda que o trabalho com os 184 arbovírus incluídos nas listas por ordem alfabética das Tabelas 3 e 4 seja conduzido pelas práticas, equipamento de segurança e instalações semelhantes as do Nível de Biossegurança 3. Essas recomendações baseiam-se nos seguintes critérios: para a Tabela 3, a SALS considerou a experiência inadequada laboratorial para a avaliação de risco, sem levar em consideração as informações disponíveis sobre a gravidade da doença. Para os agentes relacionados na Tabela 4, a SALS registrou as infecções adquiridas em laboratórios abertos e que eram transmitidas através de aerossóis e na ausência de vacinas. A SALS considerou que a doença natural em homens é potencialmente grave, ameaça à vida ou causa seqüelas. Os arbovírus também foram classificados no NB-3 se causassem doenças em animais domésticos em países fora dos Estados Unidos.

As infecções associadas ao laboratório ou ao laboratório animal com os seguintes agentes de NB-3 foram relatados^{6, 7,8}:

Vírus	Casos (SALS)
Encefalomielite Eqüina Venezuelana* °	150 (1 morte)
Febre do Vale Rift *°	47 (1 morte)
Chikungunya *	39
Febre Amarela*	38 (8 mortes)
Encefalite Japonesa*	22
Encefalite Ovina°	22
Nilo Oeste	18
Coriomeningite Linfocítica*	15
Orungo	13
Piry°	13
Wesselsbron°	13
Mucambo	10
Bhanja	6
Hantaan*	6
Mayaro	5

Relação de Agentes — Arbovírus e Vírus Zoonóticos Relacionados

Spondweni	4
Encefalite do Vale Murray	3
Semliki Forest	3 (1 morte)
Powassan	2
Dugbe	2
Issyk-kul	1
Koutango	1

° A licença para a exportação destes agentes deve ser obtida no Department of Commerce.

A licença para a importação ou transporte doméstico do agente deverá ser conseguida junto ao USDA/APHIS/VS.

Grandes quantidades e altas concentrações do Vírus da Floresta de Semliki são comumente usadas ou manipuladas por biólogos moleculares sob condições de uma contenção moderada ou baixa. Embora os anticorpos tenham sido demonstrados em indivíduos que trabalhavam com esse vírus, a primeira infecção aberta (e fatal) adquirida em laboratório foi relatada em 1979. Uma vez que o resultado desta infecção pode ter sido influenciada por uma via de exposição incomum ou por uma alta dose, um hospedeiro comprometido ou uma cepa de vírus mutante, este caso e seu resultado não são exemplos típicos. Mais recentemente, o SFV foi associado ao surto de doença febris entre soldados europeus cuja base militar era em Bangui⁹. A via de exposição não foi determinada na infecção laboratorial fatal; uma vez que os mosquitos foram os prováveis vetores destas infecções naturais. A SALS continua a classificar este vírus (SFV) como um vírus do NB-3, com advertência de que a maioria das atividades com esse vírus pode ser conduzida com segurança em um Nível de Biossegurança 2.

Alguns vírus (por exemplo, a meningoencefalite turca de Israel, Akabane) estão relacionados em um NB-3, não por serem uma ameaça à saúde humana, mas por serem doenças exóticas de aves ou criações domésticas.

Riscos em Laboratório: Os agentes relacionados neste grupo podem ser encontrados no sangue, líquido cerebrospinal, urina

e exudatos dependendo do agente específico e estágio da doença. Os riscos laboratoriais primários são a exposição aos aerossóis de soluções infecciosas e roupas de cama de animais, inoculação parenteral acidental e o contato com a pele rachada. Alguns destes agentes (por exemplo, o VEE) podem ser relativamente estáveis no sangue seco ou em exudatos. Para os vírus de um NB-3/4, as cepas atenuadas existem e podem ser manipuladas em um NB-2, como relacionado na Tabela 2.

Precauções Recomendadas: As práticas, equipamento de segurança e instalações do Nível de Biossegurança 3 são indicadas para as atividades que usam materiais clínicos potencialmente infecciosos e culturas de tecido, animais e artrópodes infectados.

Um vírus vivo atenuado licenciado se encontra a disposição para a imunização contra a febre amarela. Recomenda-se o uso desta vacina para as pessoas que trabalham com este agente ou com animais infectados e a pessoas autorizadas a entrarem na sala onde os agentes ou os animais infectados estejam presentes. Realmente, para esta vacina, a infectividade dos aerossóis e alto índice de fatalidade do vírus da febre amarela fazem com que ele seja classificado como um vírus do NB-4. Para a encefalomyelite equina venezuelana, a vacina investigacional TC-83 proporciona uma excelente proteção contra muitas cepas epizooticas. Esta proteção pode se estender a outras cepas de VEE do complexo, incluindo os vírus Everglades, Mucambo, Tonate e Cabassou. A vacina TC-38 deverá ser usada como parte de um programa de segurança e pode ser particularmente importante para a proteção das pessoas que trabalham com animais infectados e vírus concentrados. A administração da vacina e o uso deste complemento inativado (C-84) deverão ser determinados por peritos com experiência no uso destas vacinas dentro das restrições compatíveis com as drogas de pesquisas. De forma semelhante, a vacina IND inativada está a disposição para o vírus da febre do Vale Rift. Uma vacina de vírus Junin atenuado (Cândida nº 1) também está disponível. Essas vacinas de IND podem ser obtidas através do U.S Army Medical Research and Material Command, após consulta ao USAMRIID (telefone 301-619-2833).

A SALS tem diminuído a classificação do risco biológico do vírus Junin para o nível de Biossegurança 3, já que todas as pessoas do grupo de risco são imunizadas e o laboratório se encontra equipado com filtros HEPA de exaustão. A SALS também diminuiu a classificação do vírus da encefalite transmitida pelo carrapato da Europa Central (CETBE) para o Nível de Biossegurança 3, já que todas as pessoas do grupo de risco são imunizadas. Uma vacina IND inativada para o CTEBE se encontra disponível através da USAMRIID e é recomendada para todos os funcionários de laboratórios e tratadores de animais que trabalham com o agente ou os animais infectados e também para todas as pessoas que entrarem nos laboratórios ou nas salas de animais quando o agente estiver sendo usado.

Contenção acentuada do Nível de Biossegurança 3: Podem ocorrer situações onde são necessárias intensificações das práticas e equipamentos do nível de Biossegurança 3. Um exemplo desta situação seria um laboratório de NB-3 realizar testes de diagnósticos em amostras de pacientes com febre hemorrágica quando se suspeita de uma febre amarela ou dengue. Quando a origem das amostras é a África, o Oriente Médio ou a América do Sul, o potencial está presente em amostras que contenham agentes etiológicos como o arnavírus, filovírus ou outros vírus que são geralmente manipulados em laboratórios de NB-4. As intensificações aos laboratórios de NB-3 podem incluir uma ou mais destas três categorias a seguir: a) aumentada proteção respiratória individual contra os aerossóis; b) filtração pelo HEPA do ar liberado do laboratório; c) descontaminação de efluentes líquidos de laboratórios. Um treinamento apropriado para as pessoas que tratam os animais deverá ser considerado.

Biocontenção de Agentes Infecciosos Desconhecidos: As decisões em relação à classificação do perigo biológico para materiais que contenham um vírus infeccioso deverão se basear em todas as informações disponíveis em relação ao agente. Os vírus isolados de pacientes humanos infectados deverão ser manipulados em um nível de biossegurança 3 com precauções intensificadas, como detalhado no resumo as características do

agente Hantavírus, ou de preferência em um NB-4, a menos que se tenha certeza que o agente não é infeccioso através de aerossóis. Todas as amostras desconhecidas deverão ser manipuladas em um NB-3, a menos que haja evidências de uma transmissão através de aerossóis (que iria requer uma contenção do NB-4). A SALS continuará a avaliar a infectividade e os dados sobre virulência para todos os vírus registrados no *Catalogue of Arboviruses and Certain Other Viruses of Vertebrates* e para vírus recentemente desenvolvidos antes do registro.

Transferência do Agente: A licença para a importação destes agentes deverá ser conseguida junto ao CDC.

Tabela 3. Arbovírus e alguns outros vírus designados para o Nível de Biossegurança 3 (baseado em experiência insuficiente)

Adelaide River	Cacipacore	Iaco
Água Preta	Calchaqui	Ibaraki
Alenquer	Cananéia	Ife
Almeirim	Canindé	Iguape
Altamira	Chim	Inhangapi
Andasibe	Coastal Plains	Inini
Antequera	Connecticut	Issyk-Kul
Araguari	Corfou	Itaituba
Aransas Bay	Dabakala	Itimirim
Arbia	Douglas	Itupiranga
Arboledas	Enseada	Jacareacanga
Babanki	Estero Real	Jamanxi
Batken	Fomede	Jarí
Belém	Forecariah	Kedougou
Berrimah	Fort Sherman	Khasan
Bimbo	Gabek Forest	Kindia
Bobaya	Gadgets Gully	Kyzylagach
Bobia	Garba	Lake Clarendon
Bozo	Gordil	Llano Seco
Buenaventura	Gray Lodge	Macaui
Cabassou ^{1, 2}	Gurupi	Mapuera

Relação de Agentes — Arbovírus e Vírus Zoonóticos Relacionados

Mboke	Palma	Sendlec
Meaban	Para	Sepik
Moji Dos Compos	Paramushir	Shokwe
Monte Dourado	Paroo River	Slovakia
Munguba	Perinet	Somone
Naranjal	Petevo	Sripur
Nariva	Picola	Tai
Nasoule	Playas	Tamdy
Ndelle	Pueblo Viejo	Telok Forest
New Minto	Purus	Termeil
Ngari	Radi	Thiafora
Ngoupe	Razdan	Tilligerry
Nodamura	Resistencia	Tinaroo
Northway	Rochambeau	Tlacotalpan
Odrenisrou	Salanga	Tonate ^{1,2}
Omo	San Juan	Utinga
Oriximina	Santa Rosa	Xiburema
Ouango	Santarém	Yacaaba
Oubangui	Saraca	Yaounde
Oubi	Saumarez Reef	Yoka
Ourem	Sena Madureira	Yug Bogdanovac
Palestina		

¹ A SALS recomenda que o trabalho com este agente deverá ser feito somente em instalações de NB-3 que proporcionem a filtração HEPA de todo o ar liberado antes de ser jogado para o laboratório.

² A vacina TC-83 está disponível e é recomendada para todas as pessoas que trabalham com o agente.

Tabela 4. Arbovírus e alguns outros vírus designados para o Nível de Biossegurança 3

Aino	Central Eur. TBE ^{b,d}	Chikungunya ^{c,d}
Akabane ^c	(Kumlinge. Hypr,	Cocal
Banna ^{a,f}	Hanzalova,	Dhori
Bhanja	Absettarov)	Dobrava-Belgrade

Relação de Agentes — Arbovírus e Vírus Zoonóticos Relacionados

Doença Ovina de Nairobi ^{a°}	Junin ^{c,d,h}	Orungo
Dugbe	Kairi	Peaton
Enc. De Vale Murray	Kimberley	Piry ^o
Encef. Japonesa ^h	Koutango	Puumala
Encefalite Eqüina	Kumlinge (Europa Central, TBE)	Rocio
Venezuelana ^{c,d,h°}	Louping III ^{a,c,h}	Sagiyama
Estomatite Vesicular (Alagoas) ^{h°}	Mayaro	Sal Vieja
Everglades ^{c,d}	Menin. Tur. De Israel.	San Perlita
Febre Amarela ^{c,d}	Mopeia ^e	Seuol
Febre do Rift Valley ^{a,c,d,h°}	Middelburg	Sin Nombre
Flexal	Mobala	Spondweni
Germiston ^c	Mucambo ^{c,d}	Thogoto
Getah	Ndumu	Turuna
Haantan ^h	Negishi	Wesselsbron ^{a,c°}
	Oropouche ^c	West Nile
		Zinga ^g

- a A importação, posse ou uso deste agente fica restrito ao regulamento ou norma administrativa do USDA. Veja o Apêndice D.
- b O vírus da Encefalite do carrapato da Europa Central (CETBE) não é um nome registrado no *The International Catalogue of Arboviruses – 1985*. Até a questão do registro do nome ter sido resolvida taxonomicamente, a CETBE se refere ao seguinte grupo de flavivírus associado ao carrapato muito próximo, mas não idêntico da Tchecoslováquia, Finlândia e Rússia como: Absettarov, Hanzalova, Hypr e Kumlinge. Esses quatro vírus são antigenicamente homogêneos e são diferenciados do vírus da Encefalite Primavera-Verão da Rússia (RSSE)^{10, 11, 12}. Embora haja uma vacina que confira imunidade ao grupo do CETBE de vírus geneticamente homogêneos (> 98%), a eficácia desta vacina contra as infecções causadas pelo vírus da CETBE ainda não foi estabelecida. Desta forma, a SALS reclassificou o grupo de vírus CETBE como do Nível de Biossegurança 3, quando as pessoas estão imunizadas com a vacina contra a CETBE. O RSSE continua classificado como um vírus pertencente ao Nível de Biossegurança 4.

- c. A SALS também recomenda que o trabalho com estes agentes seja conduzido somente em instalações do nível de Biossegurança 3, que proporcione uma filtração HEPA de todo o ar liberado antes de ser jogado para dentro do laboratório.
- d. A vacina está disponível e é recomendada para todas as pessoas que trabalham com este agente.
- e. Este vírus, atualmente está sendo registrado no *Catalogue of Arboviruses*.
- f. Os cientistas da República da China verbalmente relataram o vírus Banna como sendo associado a casos graves de encefalites. As traduções dos originais do chinês para o Inglês não se encontravam a disposição para esta revisão.
- g. O vírus Zinga é agora reconhecido como idêntico ao Vírus da Febre do Rift Vale.
- h. A licença para exportação deste vírus deve ser obtida junto ao Department of Commerce.
- i. Uma licença de importação ou transporte doméstico deste agente pode ser obtido através do USDA/APHIS/VS.

Arbovírus, Arenavírus e Filovírus Designados ao Nível de Biossegurança 4.

A SALS recomenda que o trabalho com os 11 arbovírus, arenavírus ou filovírus¹³ incluídos na Tabela 5 seja conduzido pela prática, equipamento de segurança e instalações semelhantes as do Nível de Biossegurança 4. Essas recomendações são baseadas em casos documentados de infecções freqüentemente fatais ocorridas naturalmente em homens e nas infecções transmitidas por aerossóis em laboratórios. A SALS também recomenda que alguns agentes com uma relação próxima com os agentes do Nível de Biossegurança 4 (por exemplo, o vírus da Encefalite Primavera-Verão da Rússia) também sejam provisoriamente manipulados neste nível até que experiências laboratoriais suficientes indiquem a posição do mesmo neste nível ou a reclassificação deste para um

nível menor. Como observado abaixo, com a imunização, a SALS recomenda uma diminuição do nível de classificação do Vírus Junin e do complexo de vírus da Encefalite do Carrapato da Europa Central (Absettarov, Hanzalova, Hypr e Kumlinge) ao Nível de Biossegurança 3. As infecções associadas a laboratório ou ao laboratório animal provocadas pelos seguintes agentes foram relacionadas^{14, 15, 16, 17, 18, 19, 20:}

<u>Vírus</u>	<u>Casos (SALS)</u>
Junin*	21 (1 morte)
Marburg*	25 (5 mortes)
Enc. Primavera-Verão	8
Enc. Hemorrágica Criméia-Congo	8 (1 morte)
Febre hemorrágica Omsk	5
Lassa*	2 (1 morte)
Machupo*	1 (1 morte)
Ebola*	1
Sabia*	3 (1 morte)

* A licença para exportação deste agente deverá ser obtida junto ao Department of Commerce.

Os roedores são reservatórios naturais do vírus da Lassa (*Mastomys* spp.), do Junin, do vírus Machupo (*Calomys* spp.), Guaranito (*Zygodontomys* spp.) e talvez de outros membros deste grupo. Os primatas não-humanos estavam associados aos surtos iniciais da Doença da Floresta de Kyasanur (*Presbytis* spp.) e o vírus da doença de Marburg (*Cercopithecus* spp.). Mais recentemente, os filovírus relacionados com o Ebola foram associados com o *Macaca* spp. e chimpanzés (*Pan troglodytes*). Os artrópodes são os vetores naturais do complexo de agentes da encefalite do carrapato. O trabalho com ou a exposição aos roedores, aos primatas não-humanos ou aos vetores naturalmente ou experimentalmente infectados com esses agentes representa uma fonte potencial de infecção humana.

Riscos em Laboratório: Os agentes infecciosos podem ser encontrados no sangue, urina e secreções de garganta, sêmen e

tecidos de hospedeiros humanos ou animais, artrópodes, roedores e primatas não-humanos. A exposição respiratória aos aerossóis infecciosos, a exposição da membrana mucosa aos perdigotos infecciosos e a inoculação parenteral acidental são os perigos primários para o laboratório e para as pessoas que cuidam de animais^{21, 22}.

Precauções Recomendadas: As práticas e instalações do Nível de Biossegurança 4 são indicadas para todas as atividades que utilizem materiais sabiamente ou potencialmente infecciosos de origem humana, animal ou artrópode. As amostras clínicas de pessoas com suspeita de terem sido contaminadas pelos agentes relacionados acima deverão ser submetidas a um exame laboratorial do Nível de Biossegurança 4 de máxima contenção^{23, 24}.

Transferência do Agente: A licença para a importação destes agentes deverá ser obtida no CDC. Já a licença para exportação deverá ser conseguida no Department of Commerce. O registro do laboratório é necessário junto ao CDC antes do envio ou recebimento destes agentes.

Tabela 5. Arbovírus, Arenavírus e Filovírus designados para o Nível de Biossegurança 4

Encefalite do carrapato da Europa Central
Febre hemorrágica Criméia-Congo
Ebola
Guaranito
Junin
Doença da Floresta de Kyasanur
Lassa
Machupo
Febre hemorrágica de Omsk
Encefalite Primavera-Verão da Rússia
Sabia

Referências:

1. International Catalog of Arboviruses including Certain Other viruses of Vertebrates. 1985. The Subcommittee on Information Exchange of the American Committee on Arthropod-borne Viruses. Third edition. N. Karabatsos, Editor. American Society for Tropical Medicine and hygiene. San Antonio, TX
2. Subcommittee on Arbovirus Laboratory Safety for Arboviruses and Certain Other Viruses of vertebrates. 1980. *Am J Trop Med Hyg* 29 (6):1359-1381.
3. Hanson, R.P., et al. 1967. Arbovírus infections of laboratory workers. *Science* 158: 1283-1286.
4. Pike, R.M. 1976. Laboratory-associated infections: Summary and analysis of 3.921 cases. *Htlh Lab Sci* 13: 105-114.
5. Subcommittee on Arbovirus Laboratory Safety for Arboviruses and Certain Other Viruses of Vertebrates. 1980. (2)
6. Hanson, R.P., et al. 1967. (3)
7. Pike, R.M. 1976 (4)
8. Subcommittee on Arbovirus Laboratory Safety for Arbovirus and Certain Other Viruses of Vertebrates. 1980. (4).
9. Mathiot, C.C. et al. 1990. An Outbreak of Human Semliki Forest Virus Infections in Central African Republic. *Am J Trop Med Hyg* 42: 386-393.
10. Heinz, FX, Kunz, C: Molecular epidemiology of tick-borne encephalitis virus: peptide mapping of large non-structural proteins of European isolates and comparison with other flaviviruses. *J. Gen. Virol.*, 62: 271, 1982.
11. Calisher, CH: Antigenic classification and taxonomy of flaviviruses (Family Flaviviridae) emphasizing a universal system for the taxonomy of viruses causing tick-borne encephalitis. *Acta virol.* 32: 469, 1998.
12. Wallner, G. Mandi, CW, Ecker, M, Holzman, H, Stiasny, K, Kunz, C, and Heinz, FX: Characterization and Complete genome sequences of high- and – low-virulence variants of tick-borne encephalitis vírus. *J. Gen. Virol.* 77 1035, 1996.
13. Killey, M.P. et al. 1982. Filoviridae: a taxonomic home for Marburg and Ebola viruses? *Intervirology* 18: 24-32.
14. Edmond, R.T.D., et al. 1977. A case of Ebola virus infection. *Br Méd J* 2: 541-544.
15. Hanson, R.P., et al. 1967. (3).
16. Hennessen, W. 1971. Epidemiology of “Marburg Vírus” disease. In:

- Martini, G.A., Siebert, R. eds., Marburg Vírus Disease. New York: S^pringer-Verlag 161-165.
17. Leifer, E., Gocke, D.J., and Bourne, H. 1970. Lassa Fever, a new virus disease of man from West Africa. II. Report of a laboratory-acquired infection treated with plasma from a person recently recovered from the disease. *Am J Trop Hyg* 19: 677-9.
 18. Pike, R.M. 1976 (4).
 19. Subcommittee on arbovirus Laboratory Safety for Arboviruses and Certain Other Viruses of Vertebrates. 1980. (2).
 20. Weissenbacher, M.C., et al. 1978. Inapparent infections with Junin vírus among laboratory workers. *J Infect Dis* 137: 309-313.
 21. Leifer, E., Gocke, D.J., and Bourne, H. 1970 (24).
 22. Weissenbacher, M.C., et al. (27).
 23. Centers for Disease Control, Office of Biosafety. 1974. Classification of Etiologic Agents on the Basis of Hazard, 4th Edition. U.S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service.
 24. Oliphant, J.W., et al. 12949. Q fever in Laundry workers, presumably transmitted from contaminated clothing. *Am J Hyg* 49 (1):76-82.

APÊNDICE A

Contenção Primária: Cabines de Segurança Biológica

As cabines de segurança biológica (CSB) estão entre os mais comuns e eficazes dispositivos de contenção primária utilizados em laboratórios que trabalham com agentes infecciosos¹. Os três tipos gerais de cabines (Classe I, II e III) possuem características e aplicações que serão descritas neste apêndice.

As CSB de Classe I e II adequadamente mantidas, quando usadas em conjunto com boas técnicas de microbiologia, proporcionam um sistema de contenção eficaz para uma manipulação segura de microorganismos de risco moderado ou alto (agentes do Nível de Biossegurança 2 e 3). Tanto as Cabines de Classe I como as de Classe II possuem uma velocidade de fluxo de ar (75-100 pés lineares por minuto) que proporcionam níveis de contenção comparáveis para a proteção dos funcionários de laboratório e do meio ambiente das áreas adjacentes contra aerossóis infecciosos gerados dentro das cabines. As cabines de segurança biológica de Classe II também protegem o próprio material e a pesquisa através de uma filtração altamente eficiente (filtração HEPA) do fluxo de ar sobre toda a superfície de trabalho (fluxo laminar vertical). Já as Cabines de Classe III oferecem uma proteção máxima para os trabalhadores do laboratório, para a comunidade e para o meio ambiente porque todos os materiais perigosos estão contidos em uma cabine ventilada e totalmente fechada.

CLASSE I

(Observação: as cabines de Classe I, atualmente, estão sendo fabricadas em número limitado; muitas podem ser substituídas por cabines de Classe II).

As Cabines de Segurança Biológica de Classe I (Fig. 1) é uma cabine ventilada de pressão negativa operada por uma abertura frontal e uma mínima velocidade de face para abertura de trabalho de 75 pés lineares por minuto (lfpm). Todo o ar da cabine é liberado através de um filtro HEPA para dentro ou para fora do laboratório. A cabine de Classe I é projetada para a pesquisa geral de agentes

microbiológicos de risco moderado e baixo e é útil para a contenção de processadores, liquidificadores e de outros equipamentos. Essas cabines não são apropriadas para a manipulação de materiais de pesquisa que sejam vulneráveis a contaminação pelo ar, uma vez que o fluxo interno do ar não filtrado do laboratório pode carregar microorganismos contaminantes para dentro da cabine.

A cabine de Classe I pode também ser usada, com um painel frontal fechado e sem as luvas de borracha, que aumentará a velocidade do fluxo interno para aproximadamente 150 lfpm. Se essas cabines equipadas estiverem ligadas através de dutos externos de exaustão, elas poderão ser usadas para materiais tóxicos ou com baixos níveis radioativos usados como auxiliares da pesquisa microbiológica. Além disto, as ervas de braços longos de borracha podem ser anexadas ao painel frontal com um dispositivo de liberação da pressão do ar para proteção adicional. Nesta configuração, é necessário instalar uma entrada de ar adaptada e ajustada com um filtro HEPA na cabine.

CLASSE II

A Cabine de Segurança Biológica de Classe II (Fig. 2) é projetada com um fluxo de ar interior com uma velocidade (75-100 lfpm), para proteger os funcionários um fluxo de ar laminar vertical filtrado pelo sistema HEPA para proteção do produto e com ar de saída, exaustão, filtrado pelo sistema HEPA para proteção do meio ambiente. Os padrões do projeto, construção e atuação das cabines de Classe II, assim como as listas de produtos que atendam a estes padrões foram desenvolvidas pela National Sanitation Foundation International² em Ann Arbor, no Michigan. A utilização deste padrão e desta lista deverá ser o primeiro passo na seleção e aquisição de uma cabine de Classe II.

As cabines de Classe II são classificadas em dois tipos (A e B) baseadas na construção, velocidades e padrões do fluxo de ar e nos sistemas de exaustão. Basicamente, as cabines do Tipo A são adequadas para pesquisas microbiológicas na ausência de substâncias químicas voláteis ou tóxicas e de radionuclídeos, uma

vez que o ar é recirculado dentro da cabine. As cabines do Tipo A podem ter exaustão dentro do laboratório ou para fora através de uma conexão metálica que se prende ao sistema de exaustores do edifício.

As cabines do Tipo B são sub-divididas em Tipos B1, B2 e B3. Uma comparação entre as características do projeto e as aplicações está representadas nas Figuras 2b, 2c e 2d respectivamente. As cabines do Tipo B possuem dutos rígidos conectados ao sistema de exaustão do prédio e contém um sistema de ar de pressão negativa. Essas características, mais uma velocidade plena de 100 lfpm, permitem o trabalho a ser feito com substâncias químicas tóxicas ou radionuclídeos.

É essencial que as cabines de proteção biológica I e II sejam testadas e certificadas *in situ* no momento da instalação dentro do laboratório, todas as vezes que a CSB for removida ou uma vez ao ano. A verificação local pode atestar a performance da cabine individual ou modelo, mas não poderá excluir os testes críticos antes do uso em laboratório.

Como em qualquer equipamento do laboratório, as pessoas deverão ser treinadas para o uso adequado das cabines de segurança biológica. De particular interesse são as atividades que possam romper o fluxo direcionado para o interior. Fatores como a inserção e retirada repetida dos braços dos trabalhadores para dentro e para fora das cabines, abertura e fechamento de portas do laboratório ou do cubículo de isolamento, a colocação ou a operação imprópria dos materiais ou dos equipamentos dentro da câmara de trabalho ou uma caminhada vigorosa próxima a CSB enquanto esta estiver sendo utilizada causam a liberação destas partículas aerolizadas de dentro da cabine. As cabines de Classe I e II deverão estar localizadas longe do fluxo de pessoas e da portas. O fluxo de ar gerado por ventiladores, ventilação proveniente de venezianas, metálicas em portas ou paredes outros dispositivos para movimentação do ar podem interromper o padrão de fluxo de ar na frente da cabine. A obediência severa a estas regras para uso de CSB e a colocação adequada das mesmas em um laboratório

são tão importantes na manutenção da capacidade de contenção máxima do equipamento quanto o próprio funcionamento do equipamento.

CLASSE III

A Cabine de Segurança Biológica de Classe III (Fig. 3) é uma cabine totalmente fechada e ventilada, a prova de escape de ar e oferece o mais alto grau de proteção ao pessoal e ao meio ambiente contra aerossóis infecciosos, assim como a proteção de materiais de pesquisa de contaminantes microbiológicos. As cabines de Classe III são mais adequadas para o trabalho com agentes perigosos que requerem uma contenção de um Nível de Biossegurança 3 ou 4.

Todas as operações na área e trabalho da cabine deverão ser realizadas através de braços com luvas de borracha ou por meio de macacão. A cabine de Classe III é operada com pressão negativa. O suprimento de ar é filtrado através do sistema HEPA e o ar liberado da cabine é filtrado através de dois filtros HEPA em série, ou a filtração HEPA é seguida de uma incineração, antes de ser descartado para fora do local.

Todos os equipamentos necessários para uma atividade em um laboratório, como as incubadoras, geladeiras e centrífugas deverão ser uma parte integral do sistema de cabine. A cabine de Classe III deverá ser conectada a uma autoclave de duas portas e/ou um tanque de imersão química usado para esterilizar ou desinfetar todos os materiais que saírem da cabine, e permitir que os estoques entrem na cabine. Várias cabines de Classe II são, portanto, tipicamente instaladas como um sistema interconectado.

MACACÃO INDIVIDUAL DE PRESSÃO POSITIVA

A proteção individual equivalente à fornecida por cabines de Classe III, também pode ser obtida através do uso de uma vestimenta de peça única e ventilada. O trabalhador deverá usá-la quando estiver trabalhando com agentes do Nível de Biossegurança 3 ou 4

Apêndice A

em uma área de risco correspondente e usando CSB de Classe I ou II. A roupa individual é mantida sob uma pressão positiva com um sistema de suporte de vida para prevenir o vazamento dentro desta vestimenta. Neste sistema de contenção, o trabalhador deverá estar isolado dos materiais de trabalho.

A área escafandro deverá ser essencialmente equivalente a uma cabine grande de Classe III. A entrada nesta área deverá ser feita através da câmara de compressão adaptada com portas herméticas. Um chuveiro químico deverá ser instalado como um tanque de imersão para descontaminação das superfícies da roupa e dos trabalhadores que entram e saem da área. O ar liberado da área escafandro deverá ser filtrado através de dois filtros HEPA instalados em séries. Toda a área deverá estar sob pressão negativa.

Assim como nas CSB III, as luvas das roupas individuais são o componente mais vulnerável do sistema, pois estão sujeitas a perfurações por objetos cortantes e mordidas de animais.

Outros dispositivos: As bancadas de fluxo laminar de ar horizontal de “clean benches” são usados em instalações clínicas, farmacêuticas e laboratoriais estritamente para garantir a proteção do produto. Este equipamento nunca deverá ser usado para a manipulação de materiais tóxicos, infecciosos, radioativos ou sensibilizadores, uma vez que o trabalhador respira o ar liberado da “bancada limpa”. As bancadas de fluxo laminar vertical podem ser úteis para algumas manipulações de materiais limpos (por exemplo, placa de agar), mas não deverão ser usados quando o trabalho com materiais infecciosos estiver sendo conduzido.

Referências:

1. U.S Department of Health and Human Services. Primary Containment of Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets. (Washington: GPO, 1995)
2. National Sanitation Foundation Standard 49. 1983. Class II (laminar Flow) Biohazard Cabinetry. Ann Arbor, Michigan.

Tabela 1. Comparação das Cabines de Segurança Biológica.

Tipo	Velocidade frontal	Padrão de fluxo do ar	Radionuclídeos/ Substâncias Químicas	Níveis de Biossegurança	Proteção do Produto
Classe I* com a frente aberta	75	Frontal; atrás e acima através do filtro HEPA.	Não	2, 3	Não
Classe II Tipo A	75	70% de ar recirculado através do HEPA; exaustão através do HEPA.	Não	2, 3	Sim
Tipo B1	100	30% de ar recirculado através do HEPA; exaustão de ar via HEPA e dutos.	Sim (Níveis baixo/ volatilidade)	2, 3	Sim
Tipo B2	100	Nenhuma recirculação do ar; total exaustão via HEPA e dutos	Sim	2, 3	Sim
Tipo B3	100	Idêntica às Cabines IIA, mas o sistema de ventilação plena sob pressão negativa para sala e exaustão através de dutos.	Sim	2, 3	Sim
Classe III	NA	Entradas e saída do ar através do filtro HEPA 2	Sim	3, 4	Sim

* os compartimentos para as luvas poderão ser acrescentados e aumentarão a velocidade frontal para 150 lfpm; as luvas podem ser adicionadas com a liberação da pressão da entrada de ar que permitirá o trabalho com radionuclídeos/químicos.

Figura 1

Cabine de Segurança Biológica Classe I. A. abertura frontal, B. vidraça corrediça. C. filtro HEPA para exaustão, D. espaço de exaustão.

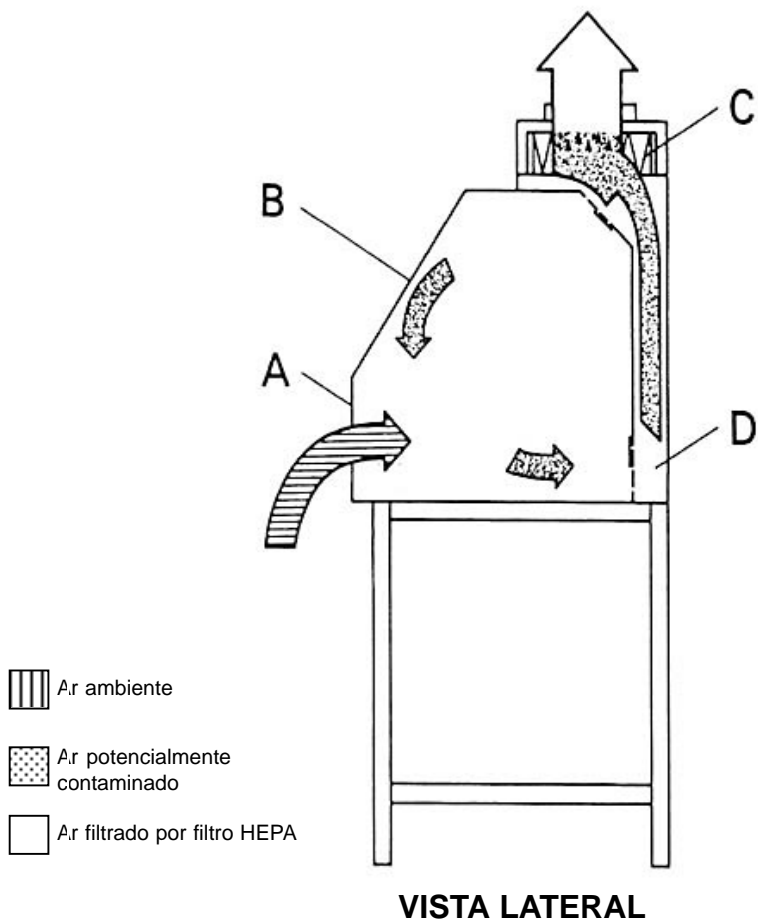
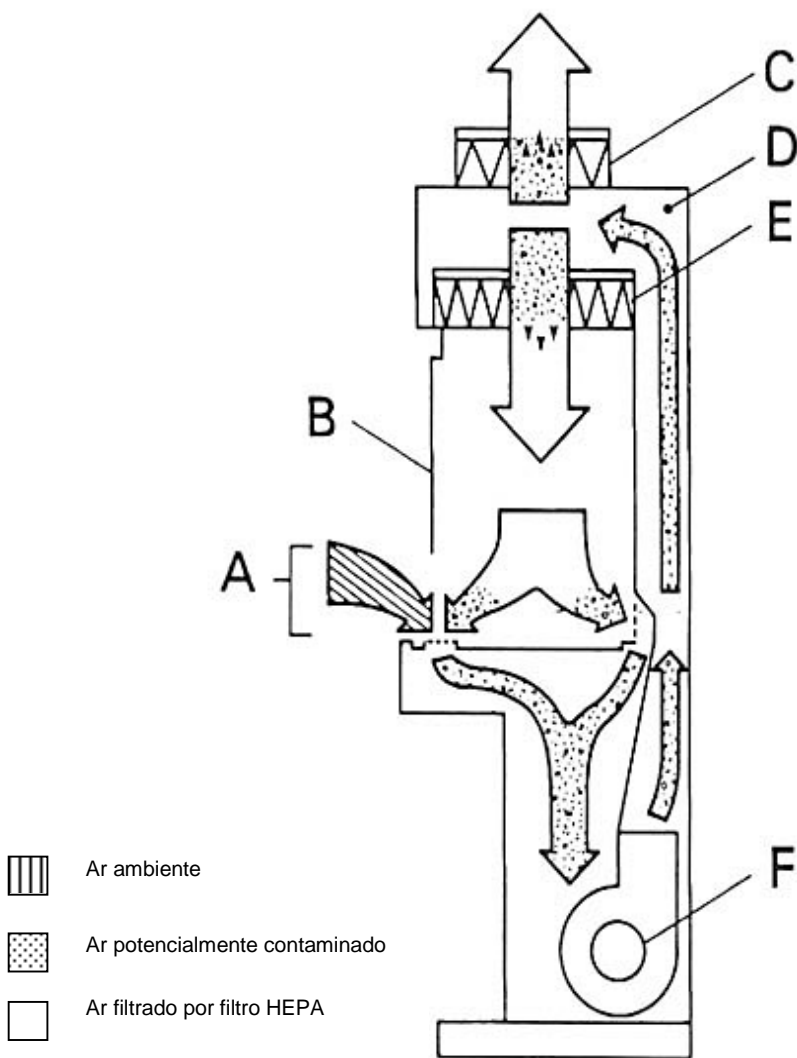


Figura 2a

Cabine de segurança Biológica Classe 2, Tipo A. A. abertura frontal, B. vidraça corrediça, C. filtro HEPA para exaustão, D. espaço posterior, E. filtro HEPA para o suprimento de ar, F. ventilador.



VISTA LATERAL

Figura 2b

Cabine de segurança biológica Classe II, Tipo B1 (desenho clássico). A. abertura frontal, B. vidraça corrediça, C. filtro HEPA para exaustão, D. filtro HEPA para o suprimento de ar, E. espaço de exaustão com pressão negativa,, F. ventilador, G. filtro HEPA adicional para o suprimento de ar. Observação: O exaustor da cabine necessita ser conectado ao sistema de exaustores do edifício.

Conexão necessária de sistema de exaustores do edifício

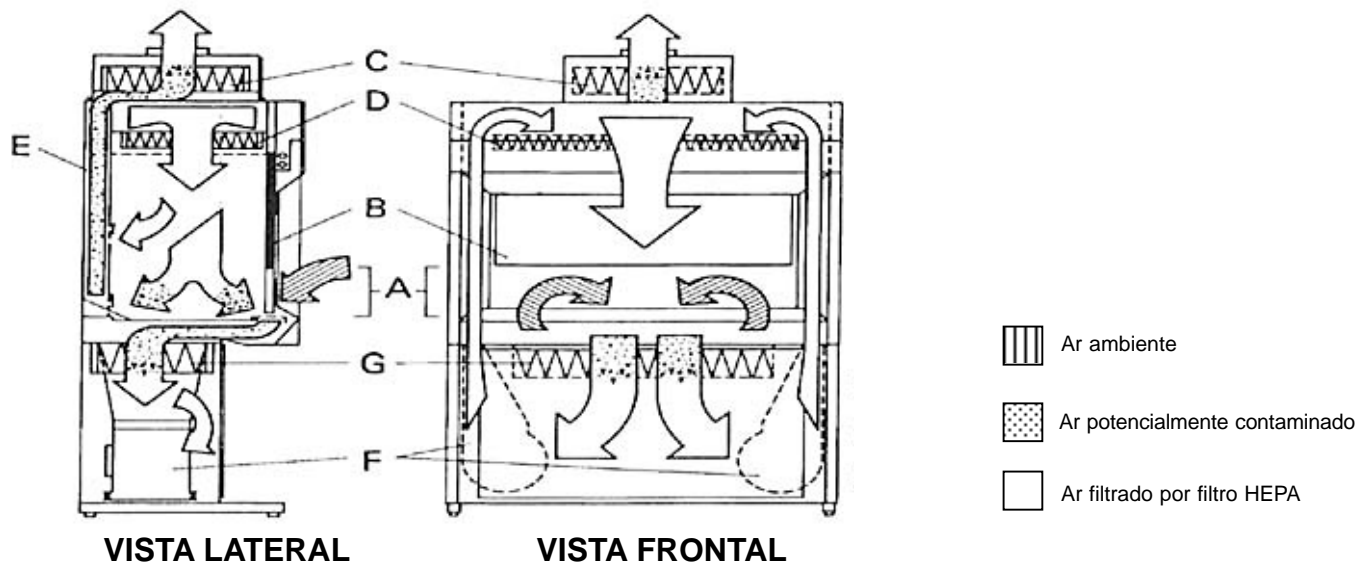


Figura 2c

Cabine de Segurança Biológica Classe II, Tipo B2. A. abertura frontal, B. vidraça corrediça, C. filtro HEPA para exaustão, D. filtro HEPA para suprimento de ar, E. espaço de exaustão com pressão negativa, F. tela do filtro. Observação: O filtro de carbono do sistema de exaustores do edifício não está mostrado nesta figura. O ar de exaustão na cabine deverá ser conectado ao sistema de exaustores do edifício.

Conexão necessária de sistema de exaustores do edifício

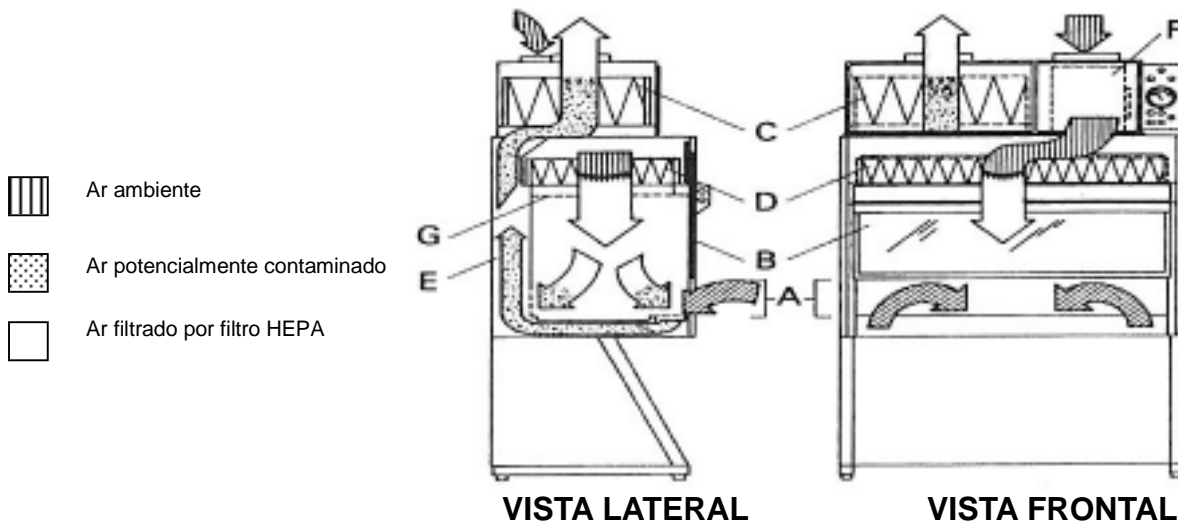


Figura 2d

Cabine de Segurança biológica Classe II. Tipo B3 (modelo de mesa). A. abertura frontal, B. vidraça corrediça, C. filtro HEPA de exaustão, D. filtro HEPA para suprimento de ar, E. espaço de pressão positiva, F. espaço de pressão negativa. Observação: Os exaustores da cabine deverão ser conectados aos sistemas dos exaustores do edifício.

Conexão necessária de sistema de exaustores do edifício

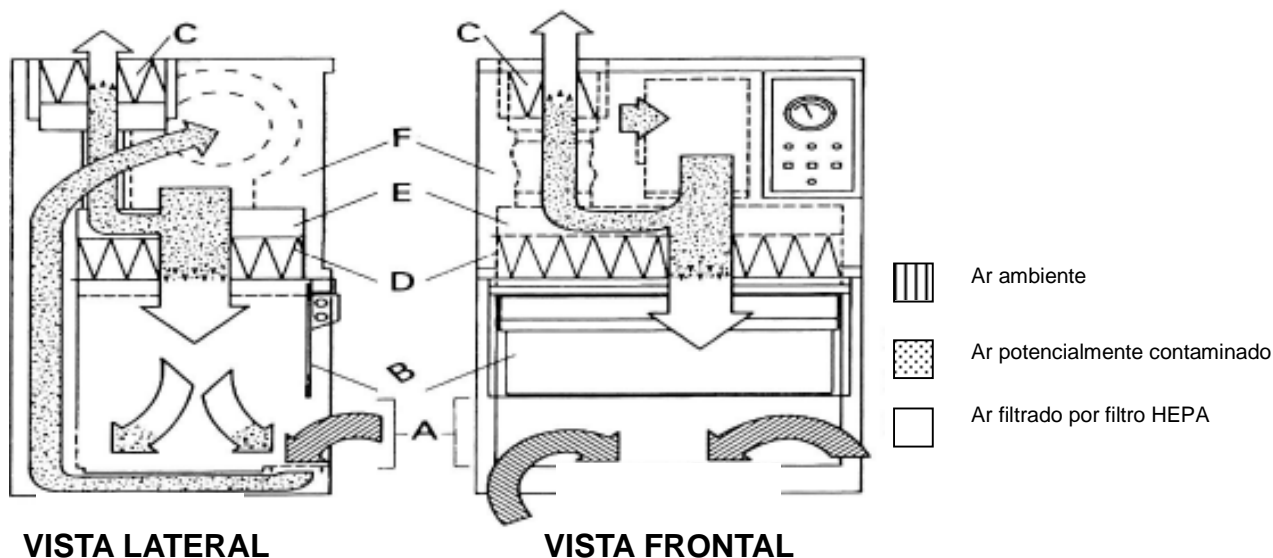
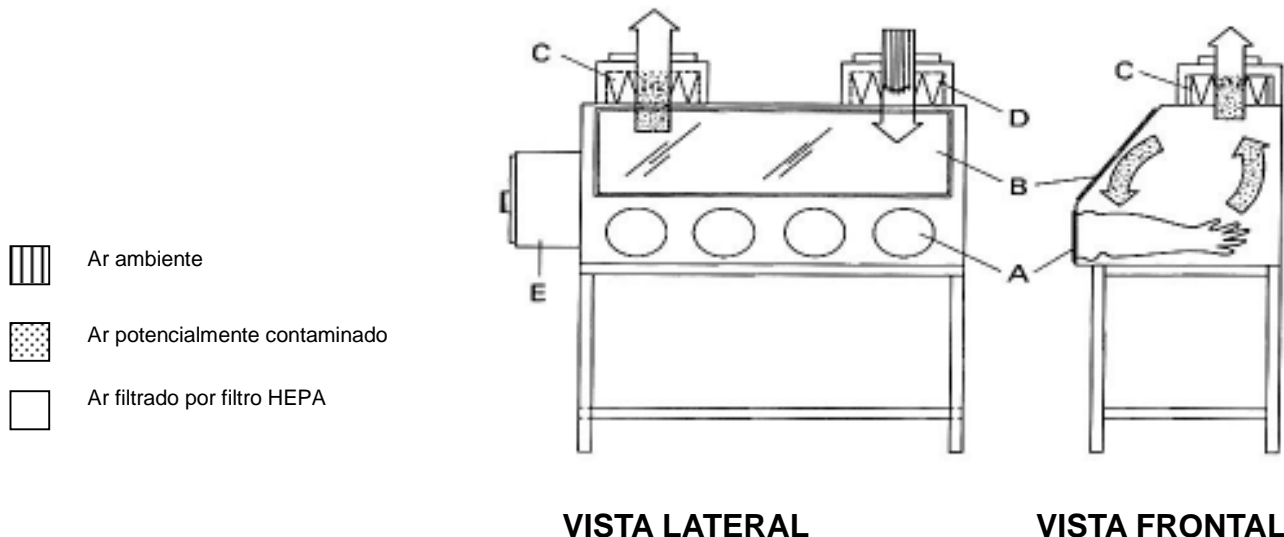


Figura 3

Cabine de Segurança Biológica de Classe III. A.compartimento para fixação de luvas longas de borracha à cabine, B. vidraça corrediça, C. filtro HEPA para exaustão, D. filtro HEPA para o suprimento de ar, E. autoclave dupla saída na extremidade ou caixa de passagem da cabine. Observação: Um tanque de imersão química pode ser instalado e deverá ser colocado abaixo da superfície de trabalho da CSB com o acesso por cima. O sistema de exaustores da cabine necessita ser conectada a um sistema de exaustores independente.

Conexão necessária de sistema de exaustores do edifício



APÊNDICE B

Imunoprofilaxia

Um nível adicional de proteção para pessoas do grupo de risco pode ser conseguido através de imunizações profiláticas adequadas. É essencial uma norma organizacional por escrito que defina as pessoas do grupo de risco, especifiquem os riscos e os benefícios das vacinas específicas e que faça distinção entre as vacinas solicitadas e as recomendadas. Ao desenvolver essas normas organizacionais, essas recomendações e requisitos deverão ser especificamente concentrados em doenças infecciosas que serão ou provavelmente serão encontradas em um local em particular.

As vacinas licenciadas nas quais os benefícios (níveis de anticorpo considerados como protetores) excedem os riscos (por exemplo, as reações locais ou sistêmicas) deverão ser requisitadas para todas as pessoas claramente identificadas. Exemplos destas preparações incluem as vacinas contra a hepatite B, febre amarela, anti-rábica e contra a pólio. As recomendações para aplicação de vacinas menos eficazes, como as associadas aos altos índices de reações locais ou sistêmicas, as que produzem reações muito graves com o uso repetido e as vacinas não licenciadas dadas sob os protocolos de uma nova droga de pesquisa (IND), deverão ser cuidadosamente consideradas. Os produtos com essas características (por exemplo, as vacinas contra a cólera, o antraz e a tularemia) podem ser recomendados, mas não poderão ser requisitados para o trabalho. Um registro completo das vacinas recebidas baseando-se nos requisitos ou recomendações ocupacionais deverá ser mantido em cada ficha médica do trabalhador.

As recomendações para o uso e vacina adaptadas da lista mencionada no Public Health Service Advisory Committee on Immunization Practices, estão incluídas no resumo das características dos agentes na Seção VII e estão elaboradas nas referências abaixo^{1, 2}. O leitor deverá consultar as recomendações atuais da ACIP publicadas no *CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*. Deve-se dar uma atenção particular para os indivíduos que estão ou que podem se tornar imunodeprimidos, uma vez que

Apêndice B

as recomendações para administração de vacinas podem ser diferentes das recomendações indicadas para um adulto imunologicamente competente.

Referências:

1. Centers for Disease Control and Prevention. General Recommendations on Immunization Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), January 28, 1994. / Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) 43(RR01); 1-38.
2. Centers for Disease Control and Prevention. 1997. Immunization of Health-Care Workers: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) 46 (RR-18); 1-42.

APÊNDICE C

Transporte e Transferência de Agentes Biológicos

Os agentes biológicos incluem os agentes infecciosos de homens, plantas e animais, assim como as toxinas que podem ser produzidas por micróbios e por material genético potencialmente perigoso por si só ou quando introduzido em um vetor adequado. Agentes etiológicos e substâncias infecciosas são termos intimamente relacionados e são encontrados nas normas de transporte e de transferência. Os agentes biológicos podem existir em culturas purificadas e concentradas, mas também podem ser encontrados em uma variedade de materiais como fluídos corpóreos, tecidos, amostras de solo e etc. Agentes biológicos e materiais suspeitos de contê-los, ou que sabidamente os contêm, são reconhecidos pelos governos federais e estaduais como materiais perigosos e o transporte e a transferência destes materiais deverão estar sujeitos ao controle normativo.

O termo *transporte* se refere ao acondicionamento e envio destes materiais pelo ar, terra ou mar, geralmente feito por uma empresa comercial. Já o termo *transferência* se refere ao processo de mudança de local destes materiais.

Transporte

Os regulamentos sobre o transporte de agentes biológicos são definidos de forma a assegurar proteção ao público e aos trabalhadores da rede de transporte à exposição a qualquer agente que possa estar presente na embalagem. A proteção é obtida através de: (a) requisitos para um rigoroso acondicionamento que suporte manipulações bruscas e a contenção de todo o material líquido dentro da embalagem sem que ocorra vazamento para o lado de fora, (b) rotulagem adequada das embalagens com o símbolo de risco biológico e outros rótulos que alertem os trabalhadores da rede de transporte sobre o conteúdo perigoso da embalagem, (c) documentação sobre o conteúdo perigoso da embalagem contendo informações necessárias para o caso de uma situação de emergência e, (d) treinamento de trabalhadores da rede de transporte para que possam se familiarizar com os

Apêndice C

conteúdos perigosos de forma a serem capazes de responder às situações de emergência.

Regulamentos

Serviço Público de Saúde 42 CRF Parte 72. Transporte Interestadual de Agentes Etiológicos. Este regulamento está sendo revisado para harmonizar-se com outros regulamentos internacionais e dos E.U.A. Uma cópia do regulamento atual poderá ser conseguida através da internet no:

<http://www.cdc.gov/od/ohs>

Departamento de Transporte. 49 CFR Partes 171-178. Regulamentos para transporte de Materiais Perigosos. Este se aplica aos agentes biológicos e as amostras clínicas. Maiores informações poderão ser obtidas através da internet no site:

<http://dot.gov.rules.html>

Serviço Postal dos Estados Unidos. 39 CFR Parte 111. Envio Postal de Agentes Etiológicos. Codificados no Manual de Postagem Doméstica 124.38: Preparações dos Agentes Etiológicos. Uma cópia do Manual de Postagem Doméstica poderá ser obtida através do Setor de Publicação do Governo através do telefone 1-202-512-1800 ou através do site na internet:

<http://www.access.gpo.gov>

Administração da Segurança e da Saúde Ocupacional (OSHA). 29 CFR Parte 1910.1030 Exposição Ocupacional aos Patógenos do Sangue. Estabelece os requisitos mínimos para acondicionamento e rotulagem para o transporte de sangue e de fluídos corpóreos dentro do laboratório e fora dele. Maiores informações poderão ser adquiridas no escritório local da OSHA ou no site:

<http://osha.gov>

Regulamentos sobre Produtos Perigosos (DGR). Associação Internacional de Transporte Aéreo (IATA). Esses regulamentos fornecem os requisitos para o acondicionamento e rotulagem de substâncias e materiais infecciosos e de amostras clínicas que

possuam uma baixa probabilidade de conterem substâncias infecciosas. Estes são os regulamentos seguidos pelas empresas aéreas. Eles se baseiam nos regulamentos do Comitê de Peritos em Transporte de Produtos Perigosos, Secretariado das Nações Unidas e as Instruções Técnicas para o Transporte de Produtos Perigosos via aérea que são fornecidas pela Organização Internacional da Associação Civil (ICAO). A cópia do DGR poderá ser obtida através do telefone 1-800-716-6326 ou através do site:

<http://www.iata.org> ou <http://who.org>

Requisitos Gerais de Acondicionamento para Transporte de Agentes Biológicos e de Amostras Clínicas

A Figura 1 mostra o acondicionamento do tipo “triplo” (container primário, embalagem secundária com contenção de água, embalagem externa resistente a impacto) necessário para agente biológico oriundo de doença humana ou de materiais suspeitos de contê-los ou que sabidamente os contém. Esta embalagem requer a colocação de um rótulo externo, com os dizeres “Substância Infecciosa”, mostrado na Figura 2. Esta embalagem deverá atender aos testes de performance enfatizados nos regulamentos do DOT, USPS, PHS e da IATA.

As amostras clínicas com uma baixa probabilidade de conter um agente infeccioso também necessitam de um acondicionamento “triplo”, mas os testes de performance só exigem que a embalagem não apresente vazamentos após o teste de uma queda de quatro pés. O DOT, o PHS e a IATA exigem um rótulo externo identificando a embalagem como “Amostra Clínica”.

Transferência

Os regulamentos para a transferência de agentes biológicos visam assegurar que a mudança de posse dos materiais biológicos esteja dentro dos interesses do público e da nação. Estes regulamentos exigem a documentação dos trabalhadores, instalações e justificativa da necessidade de transferência do agente e subsequente aprovação deste processo por uma autoridade

federal. Os seguintes regulamentos se aplicam nesta categoria:

Importação de Agentes Etiológicos de Doenças Humanas

42 CFR Parte 71 Quarentena Estrangeira. Parte 71.54 Agentes, Hospedeiros e Vetores Etiológicos. Este regulamento exige uma licença para a importação (obtida nos Centros de Prevenção e Controle de Doenças) dos agentes etiológicos de doenças humanas e de quaisquer materiais, incluindo animais e insetos vivos que possam contê-los. Um requerimento e maiores informações sobre as licenças para importação poderão ser obtidos através do telefone 1-888-CDC-FAXX e dando entrada no documento número 101000 ou no site:

<http://www.cdc.gov/od/ohs/biosty/imprtper.html>

Importação de Agentes Etiológicos de Criações, Aves e de Outras Doenças em Animais.

9 CFR Partes 92, 94, 95, 96, 122 e 130. Estes regulamentos exigem que uma licença de importação obtida no Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), Serviço de Inspeção de Saúde de Plantas e Animais (APHIS), Serviços Veterinários para a importação ou transferência doméstica de agentes etiológicos de criações, aves, outros animais e qualquer outro material que possa conter estes agentes etiológicos. Maiores informações poderão ser obtidas através do telefone (301) 734-3277 ou através do site:

<http://aphisweb.aphis.usda.gov/ncie>

Importação de Pestes de Plantas

7 CFR Parte 330. Regulamentos Federais de Pestes de Plantas; Geral; Pestes de Plantas; Solo; Pedras e Produtos de Ardósia; Lixo. Este regulamento exige uma licença para a importação ou a transferência doméstica de pestes botânicas, agente biológicos de plantas ou de qualquer material que possa contê-los. Maiores informações poderão ser obtidas através do telefone 301-734-3277 ou através do site:

<http://aphis.usda.gov/ppq/ppqpermits.html>

Transferência de Agentes Biológicos Seleccionados de Doenças Humanas

42 CFR Parte 72.6 Exigências Adicionais para Instalações Que Realizam Transferências ou Recebimento de Agentes Seleccionados. Instalações que transferem ou importam agentes seleccionados deverão ser registrados junto ao CDC e cada transferência de um agente seleccionado deverá ser documentada. Maiores informações poderão ser conseguidas através do site:

<http://www.cdc.gov/od/ohs/lrsat>

Exportação de Agentes Etiológicos Humanos, Animais, Plantas e Materiais Relacionados.

Departamento de Comércio. 15 CFR Partes 730 a 7999. Estes regulamentos exigem que os exportadores de uma grande variedade de agentes etiológicos humanos, plantas e doenças animais, incluindo o material genético, e produtos que poderão ser usados na cultura de grandes quantidades de agentes, possuam uma licença para exportação. Maiores informações poderão ser obtidas através do telefone do DOC Bureau of Export Administration: 202-482-4811 ou através do site:

<http://www.bxa.fedworld.gov> ou <http://www.bxa.doc.gov>

As Figuras 1 e 2 ilustram o acondicionamento e rotulação de substâncias e amostras clínicas infecciosas em volumes de menos de 50 ml, de acordo com as provisões do sub-parágrafo 72.3 (a) do regulamento do Interstate Shipment of Etiologic Agents (42 CFR, Parte 72). A revisão depende ainda dos resultados dos requisitos adicionais de rotulação de embalagens, mas até o momento da publicação desta quarta edição do BMBL, essas modificações não haviam sido concluídas.

Para maiores informações sobre qualquer cláusula deste regulamento, entre em contato com:

Centers for Disease Control and Prevention
Attn: External Activities Program
Mail Stop F-05
1600 Clifton Road N.E.

Apêndice C

Atlanta, GA 30333
Telephone: (404) 639-4418
FAX: (404) 639-2294.

Observe que o nome, endereço e número de telefone do remetente deverão ser colocados no lado externo e interno dos containers. Advertimos ao leitor consultar outras cláusulas adicionais do Department of Transportation (49 CFR, Partes 171-180) Hazardous Materials Regulations.

Figura 1. Embalagem e rotulagem de substâncias infecciosas

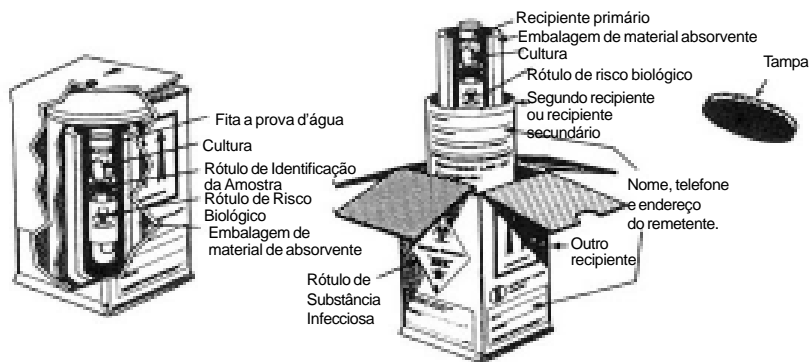
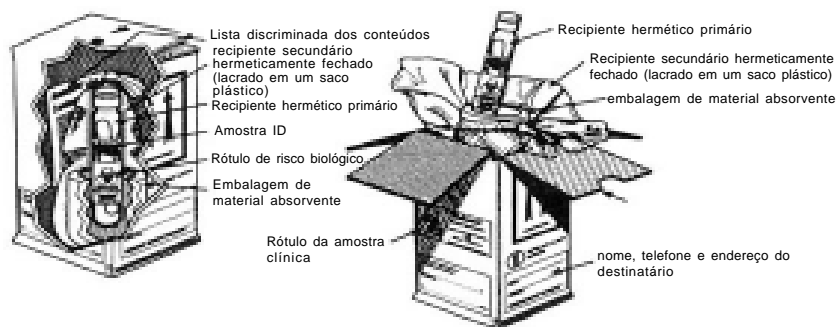


Figura 2. Embalagem e rotulagem de amostras clínicas



APÊNDICE D

Patógenos Animais

Os patógenos que normalmente *não são encontrados* na criação doméstica de aves e de gado *poderão necessitar de um projeto laboratorial especial, operação e características específicas de contenção, que geralmente não estão especificadas* nesta publicação. A importação, posse ou uso dos seguintes agentes é proibida ou restrita por lei ou pelos regulamentos ou normas administrativas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos ou por políticas administrativas:

<i>Doença do Cavalo Africano</i>	<i>Mycoplasma mycoides</i> (mycoides)
Vírus da Febre Suína Africana*	Vírus da doença de ovinos africanos (vírus Ganjam)
Vírus da Akabane	Vírus da <i>Doença de Newcastle*</i> (cepas velogênicas)
Vírus da <i>Influenza Aviária</i>	<i>Peste dos pequenos ruminantes*</i> (praga dos pequenos ruminantes)
Besnoitia besnoiti	Vírus da Febre do Vale Rift*
Vírus da Língua Azul*	Vírus de Rinderspest*
Vírus da Doença de Borna	Varíola de ovinos e caprinos*
Encefalopatia Espongiforme Bovina	Vírus da Doença Vesicular de Suínos*

Apêndice D

Agente da Febre Petequial Infeciosa Bovina	Vírus da Doença de Teschen*
Brucella abortus Brucellosis melitensis*	Theileria annulata Theileria lawrencei
Burckholderia mallei (Pseudomonas mallei – Glanders)	Theileria bovis
Vírus da varíola do camelo	Theileria hirci
Febre Suína clássica	Trypanosoma brucei
Cochliomya hominivorax (larva da Cochliomya hominivorax)	Trypanosoma congolense
Cowdria ruminantium (caudriose)	Trypanosoma equiperdum (dourine)
Encefalopatia Espongiforme Bovina, variante da Doença de Creutzfeldt-Jakob	Trypanosoma evansi
Vírus da Febre Efemeral	Trypanosoma vivax
Vírus da doença da mão-e-boca*	Encefalomielite Eqüina Venezuelana
Histoplasma (Zymonema) farciminosum	Vírus do Exantema Vesicular
Vírus da Encefalite Bovina	Estomatite Vesicular
Vírus da doença da pele granulosa	Doença hemorrágica viral de coelhos
Mycobacterium bovis	Vírus da Doença de Wesselsbron
Mycoplasma agalactiae	

Apêndice D

A importação, a posse, o uso ou o embarque interestadual de patógenos animais, com exceção dos relacionados acima, pode também estar sujeita aos regulamentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos.

A licença para importação através do USDA/APHIS é necessária para a importação de qualquer agente infeccioso animal que estejam na lista de patógenos animais da USDA/APHIS. Esta licença poderá ser requerida para a importação de qualquer outro agente de infecção de aves e gado. Uma licença de importação também é necessária para a importação de qualquer produto derivado de aves ou de gado, tais como sangue, soro ou outros tecidos.

Maiores informações poderão ser obtidas escrevendo para:

U.S Department of Agriculture
Animal and Plant Health Inspection Service
Veterinary ServiceS, National Center for Import and Export
4700 River Road, Unit # 40
Riverdale, Maryland 20737-1231

Telefone: (301) 734-3277
Fax: (301) 734-8226

Internet: [http: /www.aphis.usda.gov/ncei](http://www.aphis.usda.gov/ncei)

APÊNDICE E

FONTES DE INFORMAÇÕES

As fontes de informações, consultas e recomendações sobre o controle de risco biológico, procedimentos de descontaminação e outros aspectos do gerenciamento da segurança de um laboratório incluem:

Centers for Disease Control and Prevention
Attention: External Activities Program
Atlanta, Georgia 30333
Telefone: (404) 639-4418

National Institutes of Health
Attention: Division of Safety
Bethesda, Maryland
Telefone: (301) 496-1357

National Animal Disease Center
U.S Department of Agriculture
Ames, Iowa 50010
Telefone: (515) 862-8258

United States Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration

- Exposição Ocupacional aos Patógenos do Sangue, Regra Final Fed Reg 1991; 56: 64041-64182
http://www.osha-slc.gov/OshStd_data/1910_1030.html.
- Regra Proposta para TB:
http://www.osha-slc.gov/FedReg_osh_data/FED19980205.html.
- Padrões de Segurança e de Saúde. Ocupacional 29 CFR Parte 1910: (http://www.oshda-slc.gov/OshStd_toc/OSHDA_Std_toc_1910.html)

Normas:

Centros de Prevenção e Controle da Doença

- Tuberculose:
1994: <http://www.cdc.gov/nchstp/tb/pubs/250001.pdf>
1997 (Lab): <http://www.cdc.gov/od/ohs/tbdoc2.html>

Apêndice E

- *Imunização para Trabalhadores da Área de Saúde:*
<http://www.cdc.gov/epo/mmwr/preview/rr4618.html>
- *Normas para Controle de Infecções em Trabalhadores da Área de Saúde, 1998:*
http://www.cdc.gov/ncidod/hip/draft_gu/waisgate.txt
- *Profilaxia para o HIV:*
http://www.cdc.gov/epo/mmwr/mmwr_rr.html

Departamento do Exército, DOD. 32 CFR Partes 626, 627 –
Programa de Segurança da Defesa Biológica: (<http://www.gpo.gov>)

Comitê Nacional dos Padrões de Laboratórios Clínicos (NCCLS)

- *Normas aprovadas para a proteção de trabalhadores de laboratórios aos agentes de risco biológico e doenças infecciosas transmitidas pelo sangue, fluídos corpóreos e tecido. Dezembro de 1997, NCCLS Doc. M29-A (ISBN1-56238-339-6. <http://www/exoffice@nccls.org>).*

Institutos Nacionais de Saúde

- *Normas do NIH para Moléculas de DNA Recombinante:*
<http://www.NIH.gov/od/orda/toc.html>
- *Escritório do NIH para Atividades com DNA Recombinante*
<http://www.NIH.gov/od/orda>

APÊNDICE F

Segurança do Laboratório e Resposta de Emergência para Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia

Normas tradicionais de segurança laboratorial enfatizam o uso de boas práticas de trabalho, equipamento de contenção adequado, dependências bem projetadas e controles administrativos que minimizem os riscos de uma infecção acidental ou ferimentos em trabalhadores de laboratório e que evitem a contaminação do meio ambiente.

Embora os laboratórios clínicos e de pesquisas possam conter uma variedade de materiais biológicos, químicos e radioativos perigosos, até o momento, existem poucos relatórios sobre o uso intencional de quaisquer destes materiais para ferir trabalhadores de laboratórios ou outras pessoas^{1, 2, 3, 4, 5, 6}.

Entretanto, há uma crescente preocupação sobre o possível uso de materiais biológicos, químicos e radioativos como agentes para o terrorismo^{7, 8}. Em resposta a essas preocupações, as seguintes normas orientam essas questões de segurança laboratorial (por exemplo, prevenção da entrada de pessoas não autorizadas em áreas laboratoriais e prevenção da remoção não autorizada de agentes biológicos perigosos).

Os seguintes itens são oferecidos como normas para os laboratórios que usam agentes biológicos ou toxinas capazes de causarem doenças sérias ou fatais aos homens e aos animais. A maioria destes laboratórios estaria trabalhando sob condições de Níveis de Biossegurança 3 ou 4 descritas nas Seções II e III. Porém, os laboratórios de pesquisa, de produção e os clínicos que trabalham com patógenos recentemente identificados, patógenos animais de alto nível, e/ou toxinas não cobertas pelas recomendações dos Níveis de Biossegurança 3 ou 4 deverão também seguir essas normas para minimizar as oportunidades de remoção acidental ou intencional destes agentes de um laboratório.

1. Reconhecer que a segurança do laboratório está relacionada, mas é diferente de um laboratório seguro.

- Envolver profissionais com experiência em segurança e proteção para avaliação e desenvolvimento das recomendações para um dado local ou laboratório.
- Revisar as normas e os procedimentos de segurança regularmente. A administração deverá revisar as normas para garantir que estão adequadas para as condições atuais e consistentes com outras normas e procedimentos amplos do local. Os supervisores do laboratório deverão assegurar que todos os trabalhadores e visitantes de um laboratório entendam os requisitos de segurança e sejam treinados e equipados para seguirem os procedimentos estabelecidos.
- Rever as normas e os procedimentos quando ocorrer um incidente ou quando uma nova ameaça for identificada.

2. Acesso controlado às áreas onde agentes biológicos ou toxinas estejam sendo usadas ou armazenadas.

- As áreas dos laboratórios e de tratamento de animais deverão ser separadas das áreas públicas dos edifícios onde se encontram localizadas.
- As áreas do laboratório ou de cuidados animais deverão ser trancadas todas às vezes.
- Os cartões-chaves ou dispositivos similares deverão ser usados para permitir a entrada às áreas do laboratório e as de cuidado do animal.
- Todas as entradas (incluindo as entradas para visitantes, trabalhadores de manutenção, trabalhadores para realização de reparos e outros que precisarem entrar ocasionalmente) deverão ser registradas por um dispositivo semelhante a um cartão-chave (preferível) ou através de assinatura no livro de entrada.

- Somente os trabalhadores necessários para a realização de um trabalho deverão receber permissão para entrar somente nas áreas e nas horas que um trabalho em particular for realizado.
 - a. O acesso para estudantes, cientistas, etc, deverá ser limitado ao horário em que os funcionários regulares estiverem presentes.
 - b. O acesso para a limpeza, manutenção e consertos rotineiros deverá ser limitado ao horário em que os funcionários estiverem presentes.
- Os freezers, geladeiras, cabines e outros containers onde estoques de agentes biológicos, materiais clínicos ou radioativos deverão ser guardados, deverão ser trancados quando não estiverem à vista dos trabalhadores (por exemplo, quando localizados em áreas de armazenamento não freqüentadas regularmente).

3. Saber quem está nas áreas do laboratório.

- Os supervisores e diretores do local deverão conhecer todos os trabalhadores. Dependendo dos agentes biológicos envolvidos e do tipo de trabalho a ser desenvolvido, deve-se fazer uma revisão da limpeza e da segurança antes que novos funcionários sejam designados para a área de trabalho.
- Todos os trabalhadores (incluindo estudantes, cientistas visitantes e outros trabalhadores temporários) deverão usar crachás de identificação. Estes crachás deverão conter no mínimo uma fotografia, o nome do indivíduo e a data de vencimento deste crachá. O uso de marcadores colorido ou de outros símbolos facilmente identificável sobre os crachás seria úteis para a identificação para indicar a liberação para a entrada em áreas restritas (por exemplo, laboratórios de NB-3 ou 4, áreas de tratamento de animal).
- Os visitantes deverão ser identificados com crachás e deverão ser acompanhados ou autorizados a entrarem usando os mesmos procedimentos como os usados para trabalhadores.

4. Saber quais os materiais que estão sendo trazidos para dentro da área laboratorial.

- Todos os materiais deverão ser verificados (visualmente ou por raios-x) antes de serem trazidos para dentro do laboratório.
- Os pacotes contendo amostras, substâncias bacterianas ou isoladas, ou toxinas deverão ser abertos em uma cabine de segurança ou em outro dispositivo de contenção adequado.

5. Saber quais materiais estão sendo removidos da área laboratorial.

- Os materiais/toxinas biológicas que serão removidos para outros laboratórios deverão ser embalados e rotulados de acordo com todos os regulamentos locais, federais e internacionais aplicáveis⁹.
 - a. As licenças necessárias (por exemplo, PHS, DOT, DOC, USDA) deverão ser obtidas antes que os materiais sejam acondicionados e rotulados.
 - b. Os recipientes (de preferência) ou o local de recebimento dos materiais deverão ser conhecidos pelo remetente, e este remetente deverá fazer um esforço para assegurar que os materiais sejam enviados para um local equipado com recursos para manipular estes materiais com segurança.
- O transporte manual de materiais e toxinas biológicas para outros laboratórios é considerado inadequado. Se os materiais ou toxinas biológicas a serem carregadas manualmente forem transportados por carregadores comuns, todos os regulamentos deverão ser seguidos.
- Materiais contaminados ou possivelmente contaminados deverão ser descontaminados antes de saírem da área do laboratório. Os materiais químicos e radioativos deverão ser

descartados de acordo com os regulamentos locais, federais e estaduais.

6. Tenha um plano de emergência.

- O controle do acesso às áreas do laboratório poderá fazer com que os procedimentos de emergência sejam dificultados. Este fato deverá ser considerado quando os planos de emergência forem desenvolvidos.
 - a. Uma avaliação da área laboratorial pelos funcionários do local, com profissionais de fora, se necessário, para a identificação dos aspectos de segurança e proteção deverão ser conduzidos antes que um plano de emergência seja desenvolvido.
 - b. Os administradores, diretores, principais pesquisadores e trabalhadores do laboratório e os trabalhadores responsáveis pela segurança do local deverão estar envolvidos no planejamento de emergência.
 - c. A polícia, o corpo de bombeiro ou outras pessoas envolvidas em situações de emergência deverão ser informados quanto aos tipos de materiais biológicos em uso nas áreas laboratoriais e deverão dar uma assistência no planejamento dos procedimentos de emergência nas áreas laboratoriais.
 - d. Os planos deverão incluir a provisão de uma notificação imediata dos diretores e trabalhadores do laboratório e pessoas encarregadas pela segurança, ou outros indivíduos quando ocorrer uma emergência, de maneira que possam lidar com as questões de biossegurança caso ocorra.
- O planejamento de emergência laboratorial deverá ser coordenado com planos de expansão. Fatores como ameaças de bombas, problemas climáticos (furacão e inundação), terremotos, falta de energia e outros desastres naturais (ou não naturais) deverão ser considerados quando o plano de emergência estiver sendo desenvolvido.

7. Possua um protocolo para relato de incidentes.

- Os diretores do laboratório, em cooperação com os encarregados pela segurança e proteção do local, deverão ter normas e procedimentos no local para relatar e investigar os incidentes ou possíveis incidentes (por exemplo, visitantes sem documentos, desaparecimento de substâncias químicas, telefonemas incomuns ou ameaçadores).

Referências:

1. Torok T J, et al. A large community outbreak of salmonellosis caused by intentional contamination of restaurant salad bars. JAMA 1997; Vol. 278; 389-395.
2. Kolavic SA, et al. An Outbreak of Shigella dysenteriae Type 2 Among Laboratory Workers due to Intentional Food Contamination. JAMA 1997; Vol 278; 396-398.
3. Report to Congress on abnormal Occurrences with occurred between July and September 1995, 3rd Event: NIH Incident, Federal Register, February 26, 1996, Vol.61, Nº 38, pp. 7123-7124.
4. U.S Nuclear Regulatory Commission, NUREG 1535, Ingestion of Phosphorous-32 at MIT, Cambridge, MA Identified on August 19, 1995.
5. U.S Nuclear Regulatory Commission, Preliminary Notification of Event or Unusual Occurrence PNO-1-98-052, Subject: Intentional Ingestion of Iodine – 125 Tainted Food (Brown University), November 16, 1998.
6. National Institutes of Health (NIH) Issuance of Director's Decision: The NIH Incident, Federal Register, September 24, 1997, 62 (185): 50018-50033.
7. Atlas RM, Biological weapons Pose Challenge for Microbiology Community. ASM News 1998: Vol 64; 383-389.
8. Ruys, Theodorus, New York: Laboratory Design principles. In: Handbook of Facilities Planning. Ruys, T, ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1990; 257-264.
9. U.S Public Health Service. Final Rule: Additional Requirements for Facilities Transferring or Receiving Select Agents. Federal Register, Oct. 24, 1996; 61 FR 29327.

APÊNDICE G

Gerenciamento Integrado de Roedores e de Insetos

O gerenciamento de roedores e de insetos é uma parte importante na administração de um local de pesquisa. Muitos insetos, como mosquitos e baratas, podem ser vetores e espalhar mecanicamente os patógenos de doenças e comprometem o meio ambiente de pesquisa. Mesmo a presença de insetos inócuos contribui para as condições fora dos padrões sanitários.

A abordagem mais comum para o controle de roedores e de insetos tem sido a aplicação de produtos químicos, como uma medida preventiva ou remediadora. Os tratamentos com pesticidas podem ser eficazes e podem ser necessários como uma medida corretiva, mas têm resultados limitados a longo prazo quando usados sozinhos. As aplicações de pesticidas também apresentam potencial de contaminação para o meio ambiente de pesquisa, através da aerolização e volatilização do pesticida.

Para controlar os roedores e os insetos e para minimizar o uso de pesticidas, é necessário empregar um programa de abordagem que integre os serviços de limpeza, de manutenção e de controle de roedores e de insetos. Este método de controle é freqüentemente chamado de gerenciamento integrado de roedores e de insetos (GIRI). O objetivo primário de um programa GIRI é de prevenir os problemas causados pelos roedores e insetos, através do gerenciamento do meio ambiente local de maneira que o torne menos propício para a infestação de roedores e de insetos. Juntamente com as aplicações limitadas de pesticidas, o controle é conseguido através de estratégias de intervenções administrativas e operacionais retroativas para corrigirem condições que propiciem o surgimento de roedores e de insetos.

O GIRI é um serviço baseado em estratégias. A decisão de implementar um programa GIRI deverá se basear não somente no custo dos serviços, mas também na eficácia dos componentes do serviço. O GIRI é específico para cada local e cada programa deverá ser idealizado conforme o meio ambiente onde será aplicado. Os serviços de GIRI em um laboratório serão diferentes daqueles

aplicados em um edifício de escritórios ou em um local de tratamento de animais.

Os programas de gerenciamento integrado de roedores e de insetos (GIRI) são baseados nos vários componentes, que estão inter-relacionados e que contribuem para o “gerenciamento do meio ambiente” de pesquisa para controlar os **roedores e os insetos**. São eles:

- *Projeto do Local:* A inclusão de questões e requisitos para o gerenciamento de roedores e de insetos no planejamento, no projeto e na construção, proporcionam a oportunidade de incorporar características que auxiliam a impedir a presença de roedores e de insetos, a minimizar o seu habitat e a promover condições sanitárias adequadas. Isto poderá ajudar a reduzir a necessidade de futuros serviços corretivos de gerenciamento de roedores e de insetos, que podem ser um obstáculo para as operações de pesquisa.
- *Monitoramento:* Armadilhas, inspeções visuais e entrevistas com os funcionários são usadas para identificação das áreas e condições que possam abrigar roedores e insetos. O monitoramento é a atividade central de um programa de GIRI e é usado no lugar de tratamentos preventivos com pesticidas.
- *Manutenção do Local e do Saneamento Básico:* Muitos dos problemas com roedores e insetos podem ser prevenidos ou corrigidos ao usarmos um saneamento adequado, reduzindo a desordem e o habitat destes. A manutenção de registros das deficiências estruturais e das condições de manutenção do local pode ajudar a detectar problemas e determinar se as ações corretivas foram concluídas de maneira satisfatória.
- *Comunicação:* Um membro da equipe do laboratório pode ser designado para se reunir com os funcionários do gerenciamento de roedores e de insetos, para assisti-los nas resoluções de questões específicas do laboratório, que tenham impacto sobre o gerenciamento de roedores e de insetos. As informações sobre

as atividades de roedores e de insetos, e recomendações sobre as práticas e condições do local que possam impactar o gerenciamento de roedores e de insetos, devem ser retransmitidos verbalmente ou por escrito para aquelas pessoas. O treinamento dos indivíduos em questões relacionadas à identificação, biologia e condições sanitárias pode também promover a compreensão e a cooperação com os objetivos do programa de GIRI.

- *Manutenção de Registros:* Um livro de registro pode ser usado para anotar a atividade dos roedores e dos insetos, e as condições pertinentes ao programa de GIRI. Este livro poderá conter os protocolos e procedimentos para os serviços de GIRI naquela instalação, folhas de dados sobre a segurança dos pesticidas, rótulos dos mesmos, registros de tratamento; planos para o uso, relatórios de pesquisa, etc.
- *Controle de **Roedores e de Insetos** sem o Uso de Pesticidas:* Os métodos de controle como o uso de armadilhas, calafetagem ou vedação, lavagem e congelamento podem ser aplicados de forma segura e eficientemente, quando usados juntamente com condições sanitárias e reparos estruturais adequados.
- *Controle de **Roedores e de Insetos usando Pesticidas:*** As aplicações preventivas dos pesticidas deverão ser desencorajadas, e os tratamentos deverão ficar restritos às áreas de atividade conhecida de roedores e dos insetos. Quando os pesticidas são aplicados, deve-se usar e aplicar produtos menos tóxicos, de melhor eficácia, de maneira segura.
- *Avaliação e Garantia de Qualidade do Programa:* A revisão do programa e a garantia da qualidade deverão proporcionar uma avaliação contínua e objetiva das atividades e da eficácia do GIRI. Isto é feito para assegurar que o programa esteja realmente controlando os roedores e os insetos, e atendendo as necessidades básicas do programa da instalação e de seus ocupantes. Baseado nesta revisão, os protocolos de

gerenciamento de roedores e de insetos podem ser modificados e novos procedimentos podem ser implementados.

- *Perícia Técnica:* Um entomologista qualificado pode fornecer um guia técnico útil no desenvolvimento e implementação de um programa GIRI. As pessoas responsáveis pelo gerenciamento de roedores e de insetos deverão ser licenciadas e certificadas através de uma agência regulamentadora adequada.
- *Segurança:* Ao limitar o espectro dos tratamentos com pesticidas e ao usarmos práticas de controle sem pesticidas, o programa de GIRI poderá conseguir minimizar o potencial de exposição do meio ambiente de pesquisa e da equipe de funcionários ao pesticida.

Antes de iniciar qualquer tipo de programa de controle de roedores e de insetos, o desenvolvimento de uma estrutura operacional para os serviços GIRI poderá ajudar a promover a colaboração entre especialistas no controle e o pessoal do local. Esta estrutura pode também ser usada para incorporar as restrições de instalação física laboratorial e questões operacionais e processuais dentro do programa de GIRI. Um programa eficaz de gerenciamento de roedores e de insetos é uma parte integral da administração das instalações laboratoriais. Ao incluir uma política de GIRI nos procedimentos de operação padrão de instalações laboratoriais, aumentaremos a conscientização do programa.

O treinamento sobre os princípios e práticas do gerenciamento estrutural (indoor) integrado ao gerenciamento de roedores e de insetos e as informações sobre o programa do GIRI estão disponíveis através de muitas fontes. Algumas delas são: os departamentos de entomologia de universidades, escritórios de extensão municipal, Sociedade Entomológica dos EUA, departamentos estaduais de agricultura, associações estaduais de controle de roedores e de insetos, estoques de equipamentos para controle de roedores e de insetos e consultores de gerenciamento de roedores e de insetos ou firmas de gerenciamento de roedores

Apêndice G

e de insetos. Há também cursos por correspondência em várias universidades e cursos curtos e conferências de treinamento sobre o gerenciamento estrutural de roedores e de insetos.

Informação Adicional:

Urban Entomolgy. 1996. Insect and mite Pests in the Human Environment. W.H. Robinson. Chapman and Hall. New York.

Advances in Urban Pest Management. 1986. Gary W. Bennett and John M. Owens, eds. Van Nostrand Reinhold Company. New York.

Common Sense Pest Control. 1991. Least-toxic solutions for four home, garden, pests and community. William Olkowski, Sheila Daar, Helga Olkowski. The Taunton Press., Inc.,

Internet:

- Associação Nacional de Controle de **Roedores e de Insetos:** <http://www.pestworld.org>
- Rede de Biocontrole: <http://www.bioconet.com>

APÊNDICE H

Trabalhos com Células e Tecidos Humanos e de Outros Primatas

O Centers for Disease Control and Prevention e o National Institutes of Health gostariam de expressar agradecimentos a Frank P. Simone, M.S. e Jane Caputo, B.A. da American Type Culture Collection (ATCC), uma organização global de biociência dedicada aos padrões biológicos e à biodiversidade, por suas contribuições na preparação deste Apêndice.

Pelo menos 24 casos documentados de infecção em funcionários de laboratório que manipulam culturas de células primárias (por exemplo, células renais do macaco rhesus) ocorreram nos últimos 30 anos^{1,2}. Embora um número limitado de infecções adquiridas em laboratório tenha sido relatado como resultado da manipulação de células humanas e de outros primatas, há um risco significativamente maior em adquirir uma infecção pelo HIV ou HBV através da exposição ao sangue humano e outros líquidos corporais^{3,4,5}. Por esta razão, a OSHA desenvolveu um padrão para patógenos do sangue.⁶ Os procedimentos foram publicados para reduzir a contaminação de culturas celulares com microorganismos^{7,8} ou com outras células.⁹

Riscos Potenciais em Laboratórios: Os riscos potenciais laboratoriais associados às células e tecidos humanos incluem os patógenos do sangue HBV e HIV, assim como agentes tais como *Mycobacterium tuberculosis* que podem estar presentes nos tecidos pulmonares humanos. Outras células e tecidos de primatas também apresentam riscos aos trabalhadores de laboratórios.¹⁰ Riscos potenciais aos trabalhadores de laboratórios são apresentados por células transformadas por agentes virais, como as SV-40, EBV ou a HBV, assim como as células que carregam material genético viral. As células humanas tumorigênicas também podem oferecer potenciais riscos como resultado de uma auto-inoculação.¹¹

Práticas Recomendadas: Células humanas e de outros primatas deverão ser manipuladas usando as práticas e a contenção do Nível de Biossegurança 2. Todo o trabalho deverá ser realizado em uma cabine de segurança biológica e todo o material deverá

ser descontaminado pela autoclave ou desinfetado antes de ser descartado.^{12,13,14,15}

Todos os funcionários que trabalham com células e tecidos humanos deverão ser registrados no Programa de Patógenos do Sangue, e deverão trabalhar de acordo com as normas e políticas estabelecidas pelo Plano Institucional de Controle da Infecção.¹⁶ Os empregados deverão fornecer uma amostra do soro, permitir a sua imunização contra o vírus da hepatite B e serem avaliados por um profissional da área de saúde depois de qualquer exposição incidental.

Referências:

1. Davidson, W.L. and Hummler, K. 1960. B-virus infection in man. *Annals of the New York Academy of Science* 85 : 9970-979
2. National Research Council, 1989. Safe handling of infectious agents. In: *Biosafety in the laboratory, Prudent Practices for the Handling and Disposal of Infectious Material*, NRC, National Academy Press, Washington, D.C. Pg 13-33.
3. McGarrity, G.J. and C.L. Hoerner. Biological Safety in the Biotechnology Industry. In: *Laboratory Safety: Principles and Practice*. ASM Press, Washington, D.C., 1995.
4. Centers for Disease Control. 1988. Update: Universal Precautions for Prevention of Transmission Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis B Virus and Other Bloodborne Pathogens in Healthcare Settings. *MMWR*, 37: 377-382, 387, 388.
5. Centers for Disease control and Prevention, 1989. Guidelines for Prevention of Transmission of Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis B Virus to Healthcare and Public Safety Workers. *MMWR* 38, N° S-6.
6. U.S Department of Labor, Occupational safety and Health Administration. 1991. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens. 29 CFR Part 1910. 1030:231-243.
7. McGarrity, G.J. and Coriell, L.L. 1971. Procedures to reduce contamination of cells cultures. *In vitro* 6(4): 257-265.
8. McGarrity, G.J. 1976. Spread and control of mycoplasmal infection of cell culture. *In vitro* 12: 643-648.
9. Nelson Rees, W.A., Daniels, D.W., and Flandermeyer, R.R. 1981. Cross-Contamination of Cells in Culture. *Science* 212: 446-452.
10. McGarrity, G.J. and C.L. Hoerner. 1995 (3).
11. Weiss, R.A. 1978. Why cell biologists should be aware of ge-

- netically transmitted viruses. National Cancer Institute Monograph 48: 183-189.
12. Barkley, W.E. 1979. Safety considerations in the cell culture laboratory. *Methods Enzymol.* 58: 6-54.
 13. Grizzle, W.E. and Sarah S. Polt. 1988. Guidelines to avoid personnel contamination by infective agents in research laboratories that use human tissues. *Journal of Tissue Culture Methods.* 11: 191-199.
 14. Caputo, J.L 1988. Biosafety procedures in cell culture. *Journal of Tissue Culture Methods* 11: 233-227.
 15. Caputo J.L. Safety procedures. In: R. Ian Freshney and Mary G. Freshney, Eds, *Culture of Immortalized Cells*, Wiley-Liss, Inc. 1996.
 16. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens (6).

APÊNDICE I

Normas para o Trabalho com Toxinas de Origem Biológica

Em reconhecimento ao crescente número de laboratórios biomédicos e microbiológicos que trabalham com toxinas de origem biológica, apresentamos as seguintes normas para o trabalho com estas toxinas.

O material abaixo foi adaptado do Programa de Segurança da Defesa Biológica, Requisitos de Segurança Técnica (DA Pamphlet 385-69) e do Apêndice A do United States Department of Labor Occupational Safety and Health Association rule "Occupational Exposure to Hazardous Chemicals in Laboratories"².

Os gerentes de laboratórios e os encarregados pela segurança das instalações deverão ser encorajados a utilizar as referências relacionadas abaixo e a consultar peritos neste assunto antes de usar qualquer toxina, para assegurar que as instalações, equipamento de contenção, normas e procedimentos, programas de treinamento de pessoal e protocolos de vigilância médica específicos para a toxina e o para o laboratório são adequados.

Geral

As instalações, equipamento e procedimentos laboratoriais para o trabalho com toxinas de origem biológica deverão refletir o nível intrínseco de perigo imposto por uma toxina em particular, assim como os riscos potenciais inerentes às operações realizadas. Se a toxina e os agentes infecciosos forem usados, os dois deverão ser levados em consideração quando o equipamento de contenção for selecionado e os procedimentos e normas forem escritos. Caso sejam usados animais, as práticas de segurança animal também deverão ser consideradas.

Práticas Padrões

As práticas padrões relacionadas nos NB - 2 e 3 deverão ser revisadas e incorporadas aos protocolos para o trabalho com as toxinas.

Práticas especiais

As práticas especiais relacionadas no NB - 2 e 3 deverão ser revisadas e incorporadas aos protocolos apropriados para o trabalho com as toxinas.

1. Cada laboratório deverá desenvolver um plano de higienização química específico para a (s) toxina(s) usada(s) naquele laboratório. O plano de higienização química deverá:
1) identificar os perigos que serão encontrados no uso normal da toxina, e os perigos que poderão ser encontrados no caso de um vazamento ou outro acidente, e 2) especificar as práticas e normas a serem usadas para minimizar os riscos (por exemplo, equipamento de contenção e proteção individual, gerenciamento de vazamentos, gerenciamento de exposições acidentais e vigilância médica) ³ .
2. O treinamento específico para o uso de toxinas deverá ser exigido e documentado para todos os funcionários de laboratórios que trabalham com as toxinas antes que o trabalho com este elemento seja iniciado e a partir daí, em intervalos de tempo.
3. Um sistema de controle de inventário deverá ser adotado.
4. As toxinas deverão ser guardadas em salas de armazenamento, cabines ou freezers trancadas quando não estiverem sendo usados.
5. O acesso às áreas que contêm toxinas deverá ficar restrito às pessoas que trabalham no local.
6. A preparação de recipientes primários contendo estoques de soluções de toxinas e manipulações de containers primários de formas secas de toxinas deverão ser conduzidas em uma coifa química a vapor, em uma cabine com luvas ("glove box"), em uma cabine de segurança biológica ou em um sistema de contenção equivalente aprovado pelo

responsável pela segurança. A filtração do ar liberado através de filtros HEPA e/ou através de carvão poderá ser necessária, dependendo da toxina.

7. O usuário deverá verificar o fluxo de ar no interior da coifa ou da cabine de segurança biológica antes de iniciar o trabalho.
8. Todo trabalho deverá ser feito dentro de uma área efetiva da coifa ou da cabine de segurança biológica.
9. Quando as toxinas estão sendo usadas, a sala deverá conter um aviso indicando “Toxinas em Uso – Somente Pessoas Autorizadas”. Qualquer solicitação especial para a entrada no recinto deverá ser colocada na entrada da sala. Somente os funcionários cuja presença é necessária deverão ser permitidos enquanto as toxinas estiverem sendo usadas.
10. Todas as operações de alto risco deverão ser conduzidas na presença de duas pessoas experientes. Cada um deverá estar familiarizado com os procedimentos aplicáveis, mantendo o contato visual um com o outro e pronto a prestar socorro no caso de um acidente.
11. Antes que os recipientes sejam removidos da sala, da coifa, cabines ou da cabine com luvas (“glove box”) o exterior do recipiente primário fechado deverá ser descontaminado e colocado em um container secundário limpo. As toxinas deverão ser transportadas somente em containers a prova de vazamentos.
12. As roupas e equipamentos de proteção contaminados ou potencialmente contaminados deverão ser descontaminados utilizando métodos conhecidos pela eficácia contra toxinas antes de serem removidos do laboratório para que possam ser desprezados, limpos ou consertados. Caso a descontaminação não seja possível/prática, os materiais (por exemplo, luvas usadas) deverão ser descartados como lixo tóxico. Os materiais contaminados com agentes infecciosos

e as toxinas deverão também ser autoclavados ou convertidos em não infecciosos de outra maneira antes de deixar o laboratório.

13. O interior da coifa, da cabine com luvas ("glove box") ou da cabine deverá ser descontaminado periodicamente, por exemplo, no final de uma série de experimentos relacionados. Até que seja descontaminada, a coifa, a cabine com luvas ("glove box") ou a cabine deverá conter um aviso indicando que toxinas estão sendo usadas e que o acesso ao equipamento e utensílios ficam restritos aos funcionários autorizados.

Equipamento de Segurança

As normas para o uso de equipamento de segurança relacionados nos Níveis de Biossegurança 2 e 3 (veja Seção III) deverão ser revisadas e incorporadas adequadamente nos protocolos para o trabalho com as toxinas.

1. Quando utilizando coifas a vapor com abertura frontal ou cabine de segurança biológica, roupa de proteção, incluindo as luvas e uma capa descartável que cubra o corpo e tenha manga comprida (jaleco, avental ou traje semelhante) deverá ser usado de maneira que as mãos e os braços estejam completamente cobertos.
2. Uma proteção para os olhos deverá ser utilizada se um sistema de contenção que possua uma abertura na frente for usado.
3. Outro equipamento poderá ser necessário, dependendo das características da toxina e do sistema de contenção. Por exemplo, use uma proteção respiratória adicional se a formação de aerossóis ocorrer e se não for possível o uso de um equipamento de contenção ou de outros controles de engenharia de segurança.

Apêndice I

4. Quando manipular formas secas de toxinas que sejam eletrostáticas:
 - a. Não use luvas (como as de látex) que ajudem a formar eletricidade estática.
 - b. Use uma “glove box” ou uma cabine com luvas ou em uma cabine de segurança biológica de Classe III.
5. Quando manipular toxinas que sejam perigosas para a membrana percutânea (irritantes, provocam necrose no tecido ou que sejam extremamente tóxicas para a exposição dermatológica), selecione luvas que sejam conhecidas por serem impermeáveis à toxina.
6. Considere a toxina e o diluente quando for selecionar luvas e outras roupas de proteção.
7. Se agentes infecciosos e as toxinas forem usadas juntamente com um sistema experimental, considere as duas quando for selecionar os equipamentos e roupas de proteção.

Instalações do Laboratório

As recomendações de instalação do laboratório relacionadas para os Níveis de Biossegurança 2 e 3 (veja a Seção III) e os padrões da OSHA* deverão ser revisados e incorporados de forma apropriada nos protocolos para o trabalho com toxinas.

1. Linhas de Vácuo. Ao usar as linhas de vácuo juntamente com sistemas de contenção de toxinas, estas deverão ser protegidas com um filtro HEPA para prevenir a entrada de toxinas nas linhas. Os ralos das pias deverão ser também protegidos quando os aspiradores de água forem usados.

Referências

1. Department of the Army, DOD, 32 CFR Parts 626, 628 – Biological Defense Safety Program.

Apêndice I

2. United States Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration.. 29 CFR Part 1910 – Occupational Safety and Health Standards.
3. United States Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910. (2).
4. United States Department Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910. (2)

Referências Adicionais

American Industrial Hygiene Association - Biosafety Reference Manual.

Heinsohn P.A.; Jacobs R.R., Concoby B.A. (eds) American Industrial Hygiene Association, Fairfax. 1995

National Research Council. Prudent Practices in the Laboratory: Handling and Disposal of Chemicals. National Academy Press, Washington D. C. 1995

CRC Handbook of Toxicology. Derelanko M.J., Hollinger M.A.; (eds) CRC Press, Boca Raton 1995.

Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. Ellenhorn M.J., Schonwald S., Ordog G., Wasserrberger J., Williams and Wilkins, Baltimore 1997

ÍNDICE REMISSIVO

Índice Remissivo

Agentes bacterianos	100
Agentes parasitários	142
Trematódeo	145, 146
Agentes virais	171, 180, 181, 261
Agulhas e seringas	25, 34, 45
Antraz	100, 236
Arbovírus e Arenavírus	208, 212
Ascaris spp.	147, 148
Avaliação dos riscos	12, 15, 82, 87, 88, 90, 94, 96,99, 206
Bacillus anthracis	100
Bacillus subtilis	12
Besnoitia besnoiti	245
Bioterrorismo	iv
BMBL	242
Bordetella pertussis	101, 128
Botulismo	107,108
Bovino	110, 155
Abortus	103, 246
Canis	103, 128
Melitensis	103, 128, 129, 245
Suis	103
Brucelose	1, 2, 103
CSB	9, 10, 13, 14, 179, 224, 226, 228
Cabines de Segurança Biológica (CSB)	9, 224
Classe I	9, 10, 17, 73, 100, 120, 135, 188, 224, 225, 226, 228, 229, 230
Classe II	10, 17, 27, 37, 39, 42, 48, 57, 77, 224, 225, 227, 229, 233, 233, 234
Classe III .	10, 15, 37, 40, 41, 46, 48, 50, 51, 53, 73, 78, 79, 83, 84, 100, 174, 179, 224, 227, 228, 228, 268
Calomys spp	220
Campylobacter	105, 129, 130
Caudriose	246
Cercopithecus spp.	220
Chimpanzés	152, 153, 155, 174, 176, 183, 220,

Citomegalovírus	180, 181
Clostridium	107, 108
Coccidioides immitis	133
Cólera	1, 126, 136
Conídios	133, 134, 138
Contenção	5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 21, 22, 27, 29, 30, 33, 35, 37, 41, 46, 48, 49, 50, 52, 53, 54, 56, 65, 69, 71, 73, 75, 79, 82, 84, 94, 97, 98, 99, 100, 102, 103, 104, 105, 106, 108, 109, 110, 111, 113, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 125, 126, 127, 143, 144, 148, 166, 172, 173, 176, 181, 182 183, 184, 186, 189, 192, 197, 207, 213, 215, 216, 221, 224, 225, 227, 228, 238, 240, 245, 250, 253, 261, 264, 265, 268, viii
Contenção primária	8, 11, 12, 41, 45, 69, 75, 84, 97, 102, 108, 121, 122, 127, 143, 144, 148, 176, 181, 189, 197, 224
Contenção secundária	8
Coriomeningite linfocítica	183
Coxiella burnetti	14, 165, 169, 170
Cryptococcus neoformans	125, 140
Descontaminação ...	11, 14, 20, 22, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 39, 41, 42, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 70, 73, 75, 78, 79, 87, 100, 108, 154, 158, 193, 215, 228, 248, 266
Dengue	205, 207, 215
Difteria	109
Doença da Floresta de Kyasanur	220, 221
Ebola	88, 220, 221, 222
Encefalite	2, 14, 173, 177, 212, 213, 215, 218, 219, 220, 221, 246
Encefalomielite eqüina	206, 207, 211, 212, 214
Envio	104, 109, 112, 127, 133, 134, 166, 168, 172, 174, 188, 208, 211, 221, 238, 239
Equipamento de segurança	4, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 19, 21, 27, 30, 36, 48, 68, 73, 74, 84, 175, 205, 207, 212, 214, 219, 267
Escherichia coli	110, 130
Fasciola spp	145
Febre amarela	211, 212, 214, 215, 236, 218
Febre maculosa das Montanhas Rochosas	167
Febre hemorrágica de Omsk	221
Febre de Pontiac	115
Febre Q	3, 165, 166

Febre tifóide	123
Filovírus	215, 219, 220, 221
Filtro HEPA	39, 52, 56, 57, 78, 224, 225, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 268
<i>Francisella tularensis</i>	111, 130
<i>Giardia</i> spp	143
Hantavírus	171, 216
<i>Helicobacter pylori</i>	112, 130
Hepatite	2, 3, 12, 13, 16, 24, 33, 66, 71, 88, 89, 96, 99, 153, 166, 174, 175, 176, 177, 236, 262
Herpesvírus	93, 180, 181
<i>Histoplasma</i>	135, 246
<i>Capsulatum</i>	135, 136
<i>Farciminosum</i>	245
Imunoprofilaxia	96, 236
Influenza	97, 181, 182, 201, 245
Instalações Animais	94
Kuru	151, 153, 162, 195
Laboratórios Clínicos	2, 13, 14, 16, 30, 61, 103, 249, 250
Laboratório escafandro	48, 53, 54, 57, 79, 174, 179
<i>Legionella pneumophila</i>	115, 131
<i>Leishmania</i> spp	142, 143
Lepra	116, 118
<i>Listeria monocytogenes</i>	114, 130
Limpeza	21, 22, 29, 35, 36, 38, 49, 54, 55, 64, 69, 76, 84, 91, 193, 252, 256
Luvas	10, 14, 19, 21, 23, 28, 31, 36, 37, 45, 63, 67, 78, 73, 75, 83, 100, 104, 107, 114, 115, 121, 125, 127, 137, 138, 143, 147, 154, 155, 157, 158, 160, 175, 176, 179, 189, 190, 191, 196, 198, 207, 225, 227, 228, 229, 235, 265, 266, 267, 268
Machupo	220, 221
Malaria	148
Marburg	3, 15, 88, 220, 222, 223
Metacercária	145, 146
Meyer e Eddie	1
Moldes	160
<i>Mycobacterium</i>	14, 116, 117, 118, 119, 245, 261
<i>asiaticum</i>	118
<i>bovis</i>	117, 118, 119, 120, 246

fortuitum	118
kansasii	118
leprae	116, 117, 118
malmoense	118
marinum	118
scrofulaceum	118
simiae	7, 118, 177, 180, 181, 200
szulgai	118
tuberculosis	5, 6, 7, 14, 17, 96, 117, 118 119, 120, 261
ulcerans	118
xenopi	118
Mycoplasma agalactiae	246
Mycoplasma mycoides	245
Naegleria	12, 144
fowleri	144
gruberi	12
Neisseria	120, 121
Meningitis	121, 132, 201
Níveis de Biossegurança (NB)	11
Nível de Biossegurança 1	11, 12, 19, 22
Nível de Biossegurança 2	13, 16, 17, 22, 30, 98 99, 100, 102, 103, 104, 105, 106, 108, 109, 110, 111, 113, 115, 116, 117, 118, 119, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 142, 144, 145, 147, 148, 152, 153, 154, 155, 165, 167, 172, 175, 176, 178, 181, 182, 183, 185, 187, 189, 196, 198, 205, 206, 207, 208, 211, 213, 224, 261
Nível de Biossegurança 3	14, 30, 31, 34, 40, 98, 99, 100, 102, 103, 104, 107, 108, 111, 116, 120, 121, 122, 123, 127, 134, 136, 152, 155, 166, 167, 176, 179, 184, 186, 189, 192, 197, 205, 207, 212, 214, 215, 217, 218, 219, 220, 227
Nível de Biossegurança 4	4, 14, 15, 41, 42, 43, 47, 48, 52, 57, 179, 218, 219, 221
Nível de biossegurança animal 1	61
Nível de biossegurança animal 2	65, 100, 102, 105, 106, 108, 109, 110, 113, 115, 117, 118, 120, 123, 124, 126, 133,

134, 135, 136, 137, 138, 167, 168, 175, 176, 184, 185	
Nível de biossegurança animal 3	70, 103, 111, 112, 166, 184
Nível de biossegurança animal 4	79
Normas	4, 5, 20, 23, 24, 25, 27, 31, 32, 34, 41, 62, 63, 65, 67, 68, 71, 72, 73, 74, 79, 81, 82, 87, 88, 91, 157, 179, 193, 194, 236, 238, 245, 248, 249, 250, 251, 255, 262, 264, 265, 267
Nova droga de pesquisa	108, 236
Objetos cortantes	22, 26, 34, 35, 46, 63, 161, 192, 228
Patógenos	5, 12, 13, 16, 17, 34, 44, 94, 152, 154, 177, 189, 192, 239, 245, 247, 248, 250, 256, 261, 262, ii
Patógenos Animais	17, 245, 247, 250
Patógenos do sangue	177, 239, 248, 261, 262
Práticas laboratoriais	9, 19
Pipetagem	20, 23, 31, 103
Poliovírus	184, 185, 186, 201
Poxvírus	186, 187, 188
Praga	245
Precauções universais	4, 88, 93, 191
Presbytis spp.	220
Primatas	64, 68, 117, 119, 124, 147, 167, 174, 175, 176, 179, 183, 184, 190, 191, 192, 194, 195, 220, 221, 261, iii
Prions	150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 161, 163, 164, 195, ix
Protozoários parasitas	142, 143
Pseudomonas	104, 246
Pseudomallei	104
Projeto da instalação	8, 40
Psittaci	105, 106
Quantidades de produção	97, 98, 116, 121, 122, 123
Reações Alérgicas	147
Retrovírus	93, 189, 191, 193, 194
Rickettsia	168
akari	166
australis	166
conorii	166

coxiella burnetii	14, 165, 169, 170
grupo da febre maculosa.....	166
mooseri	166
prowazekii.....	166
rickettsii	167, 169, 170
Riscos laboratoriais	96, 97, 113, 157, 214
Salmonella	122, 123, 132
SALS	61, 205, 206, 212, 213, 215, 216, 217, 218, 219, 220
Schistosoma spp.	145
Shiguella spp.	124
Sífilis.....	124, 125
Símio	194
Sujeira	21
Taenia solium	146
Tétano.....	1, 109
Tatus	117
Tecnologias do DNA recombinante	92
Transporte e Transferência de agentes biológicos	238
Toxinas de origem biológica	264
Toxóides	96
Toxoplasma spp.	13, 143
Treponema pallidum	124, 132
Trypanosoma	132, 148, 246
Cruzi	142, 143, 148
Evansi.....	246
Vivax	246
Tuberculose	1, 2, 3, 24, 33, 99, 117, 119, 248
Tularemia	1, 2, 111, 130, 236
Vacinas	8, 12, 88, 96, 97, 102, 103, 104, 105, 107, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 168, 175, 177, 180, 184 196, 198, 205, 207, 212, 214, 236, 237
Vacínia	93, 186, 187
Varíola	3, 167, 187, 245, 246
Vigilância.....	27, 36, 44, 47, 62, 66, 68, 71, 73, 74, 79, 81, 83, 91, 100, 120, 168, 169, 189, 194, 264, 265

Vírus Hendra	173, 174
Vírus da doença de Borna	245
Vírus da estomatite vesicular	197
Vírus da febre efemeral	246
Vírus da febre do Vale Rift	214
Vírus da Imunodeficiência humana	4, 98, 189
Vírus da raiva	188, 189
Vírus Junin	90, 214, 215, 220
Yersinia pestis	126