



GOVERNO DO ESTADO
RIO DE JANEIRO

Secretaria de Estado de Ciência, Tecnologia e Inovação
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

REITORIA
Comissão Interna de Biossegurança-CIBio

RESOLUÇÃO CIBIO Nº 02 DE 31 DE JULHO DE 2019

APROVA A DIRETRIZ DE BIOSSEGURANÇA DA
UENF

O presidente da Comissão Interna de Biossegurança da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, no uso de suas atribuições previstas, sobretudo, no inciso V do art. 8º da Resolução Normativa nº 1/2016 da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, tendo em vista o processo nº E-26/009/25/2019.

RESOLVE:

Art. 1º - A presente resolução aprova a Diretriz de Biossegurança da UENF, aplicável a todos os Laboratórios, Núcleos e Unidades da UENF que manipulem agentes biológicos de riscos, modificados geneticamente ou não, assim como seus derivados.

Parágrafo único – A diretriz de que trata esta Resolução tem como objetivo fornecer e determinar os requisitos básicos e necessários para manter ao mínimo, ou mesmo eliminar, os riscos inerentes à manipulação de agentes biológicos, modificados geneticamente ou não, assim como seus derivados, em ambientes de contenção nos trabalhos de pesquisa, ensino e extensão desenvolvidos na UENF.

Art. 2º - A Diretriz de Biossegurança da UENF te seu teor estruturado na forma do no Manual Técnico constante no anexo I desta Resolução.

Art. 3º - Esta Resolução entrará em vigor na data de sua publicação, no sítio eletrônico da UENF, revogando-se as disposições em contrário.

Campos dos Goytacazes, 31 de julho de 2019.

André de Oliveira Carvalho
Presidente da Comissão Interna de Biossegurança
ID 4145143-0

Prof. André de Oliveira Carvalho
Presidente CIBio/UENF
ID 4145143-0



Av. Alberto Lamego, 2000 - Parque Califórnia - Campos dos Goytacazes/ RJ - 28013-602
Tel.: (22) 2739-4178 - (22) – 2739-7217 correio eletrônico: cibio@uenf.br andre@uenf.br



Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF Reitoria Comissão Interna de Biossegurança			
Código n°: NI-CIBio/UENF-002	Publicado em: 31/07/2019	Emissão Inicial	Página: 1 a 82
DIRETRIZ DE BIOSSEGURANÇA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO			

ÍNDICE

1. **Objetivo**
2. **Campo de aplicação**
3. **Responsabilidade**
4. **Documentos de referência**
5. **Documentos complementares**
6. **Siglas, abreviaturas e termos**
7. **Diretriz de biossegurança da UENF**
8. **Princípios de biossegurança**
9. **Avaliação de risco**
10. **Classe de risco de agentes biológicos**
11. **Níveis de biossegurança**
12. **Materiais contendo moléculas de DNA recombinantes**
13. **Contenção primária: cabines de segurança biológica**
14. **Imunoprofilaxia**
15. **Transporte e transferência de agentes biológicos**
16. **Equipamentos de proteção**
17. **Resíduos**
18. **Acidentes**
19. **Gerenciamento integrado de roedores**
20. **Normas para trabalho com toxinas de origem biológica**
21. **Referências**
22. **Quadro de elaboração e histórico de revisão**

1. OBJETIVO

Esta Diretriz de Biossegurança da UENF tem como objetivo fornecer e determinar os requerimentos básicos e necessários para manter ao mínimo, ou mesmo eliminar, os riscos inerentes à manipulação de agentes biológicos, modificados geneticamente ou não, assim como seus derivados, em ambiente de contenção nos trabalhos de pesquisa, ensino e extensão desenvolvidos nas unidades operacionais da UENF.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Esta Diretriz de Biossegurança da UENF se aplica a todos os Laboratórios, Núcleos e Unidades da UENF que manipulem agentes biológicos de risco, modificados geneticamente ou não, assim como seus derivados.

3. RESPONSABILIDADE

A responsabilidade pela elaboração, revisão prévia, aprovação, revisão final e cancelamento desta Diretriz de Biossegurança é da CIBio/UENF.

4. DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

Os documentos abaixo listados serão utilizados, em seu todo ou em parte, para fornecer requisitos, diretrizes, recomendações e/ou orientações.

4.1. Lei nº 11.105 de 24 de março de 2005 - Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados;

4.2. Decreto nº 5.591 de 22 de novembro de 2005 - Regulamenta dispositivos da Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, que regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição;

4.3. Resolução Normativa Nº 1 da CTNBio - Resolução Normativa Nº 1, de 20 de junho de 2006 (Alterada pela Resolução Normativa Nº 11, de 22 de outubro de 2013 e pela Resolução Normativa Nº 14, de 05 de fevereiro de 2015);

Diretriz - Diretrizes Gerais para o Trabalho em Contenção com Agentes Biológicos. Terceira Edição. Ministério da Saúde, 2010;

4.4. Diretriz - Classificação de Risco dos Agentes Biológicos. 3º Edição. Ministério da Saúde, 2017;

4.5. Manual - Manual de segurança biológica em laboratório - OMS - 2004, terceira edição; Biosafety in microbial and biomedical laboratories, 5th edition, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health, HHS Publication nº. (CCD) 21-1112, Revised December 2009;

4.6. NIH Guidelines for research involving recombinant or synthetic nucleic acid molecules, Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, NIH Guidelines.

5. DOCUMENTOS COMPLEMENTARES

Os documentos abaixo listados serão utilizados, em seu todo ou em parte, para esclarecimento na aplicação das informações técnicas. Estes documentos estão disponíveis na Resolução CIBio 01 de 25 de julho de 2019, publicado no sítio eletrônico da UENF.

ANEXO 1: Exemplo de formato de norma interna de preparação de documentos;

ANEXO 2: Exemplo de formato de Diretriz de Biossegurança;

ANEXO 3: Exemplo de formato de Norma de Biossegurança Específica;

ANEXO 4: Exemplo de formato de Lista Mestra dos documentos preparados.

6. SIGLAS, ABREVIATURAS E TERMOS

6.1. Siglas

As seguintes siglas serão adotadas no âmbito desta Norma Interna.

- 6.1.1. CIBio/UENF: Comissão Interna de Biossegurança da UENF;
- 6.1.2. CTNBio: Comissão Técnica Nacional de Biossegurança;
- 6.1.3. EPC: Equipamento de Proteção Coletiva;
- 6.1.4. EPI: Equipamento de Proteção Individual;
- 6.1.5. FOB: Formulário de Biossegurança;
- 6.1.6. NBE: Norma de Biossegurança Específica;
- 6.1.7. NBG: Norma de Biossegurança Geral;
- 6.1.8. NI: Norma Interna;
- 6.1.9. OGM: Organismo Geneticamente Modificado;
- 6.1.10. OMS: Organização Mundial da Saúde;
- 6.1.11. UO: Unidade organizacional.

6.2. Termos

As seguintes termos serão adotados no âmbito desta Norma Interna.

- 6.2.1. **Capítulo:** divisão primária;
- 6.2.2. **Seção:** divisão do capítulo;
- 6.2.3. **Subseção:** subdivisão numerada da seção;
- 6.2.4. **Alínea:** cada um dos assuntos enumerados em cada seção ou subseção;
- 6.2.5. **Subalínea:** cada subdivisão da alínea;
- 6.2.6. **Documento:** qualquer forma e formato de registro de informação (texto, imagem), cujo coletivo é caracterizado como documentação;
- 6.2.7. **Documentos complementares:** são documentos que possuem informações adicionais para serem consultados, em seu todo ou em parte, para esclarecimento na aplicação das informações técnicas;
- 6.2.8. **Documentos de referência:** são documentos que podem ser utilizados, em seu todo ou em parte, para fornecer requisitos, diretrizes, recomendações ou orientações, com o intuito de auxiliar e respaldar a compreensão/interpretação de informações técnicas (ex: O Manual de segurança biológica em laboratório da OMS, é um exemplo de documento de referência);

6.2.9. Informação documentada: informação mantida por uma organização que é necessária para prover evidência de conformidade com requisitos;

6.2.10. Não conformidade: Não atendimento de um requisito;

6.2.11. Procedimento: é um método específico e sequencial de executar uma atividade ou um processo;

Nota: Procedimentos podem ser documentados ou não.

6.2.12. Registro: documento transcrito dos resultados obtidos ou de atividades realizadas;

6.2.13. Requisito: condição ou exigência obrigatória que se deve satisfazer para que se tenha andamento de determinado processo;

6.2.14. Requisito especificado: é aquele que é declarado, por exemplo, na informação documentada;

6.2.15. Verificação: ato ou efeito de verificar por provimento de evidência objetiva, de que as normas especificadas foram atendidas;

Nota: A evidência objetiva necessária para a verificação pode ser resultado de uma inspeção ou outras formas de determinação, como a realização de cálculos alternativos ou a revisão de documentos.

6.2.16. Unidades organizacionais: compreendem cada um dos tipos de laboratórios, núcleos e unidades das quais a UENF é formada.

7. DIRETRIZ DE BIOSSEGURANÇA DA UENF

7.1. Prefácio

Esta Diretriz de Biossegurança da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) foi elaborada pela sua Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) e tem como objetivo definir os requerimentos mínimos e necessários para o trabalho com organismos geneticamente modificados (OGM) e agentes biológicos, assim como seus derivados, em regime de contenção e dentro da política de biossegurança adotada para UENF.

Esta Diretriz de Biossegurança da UENF descreve práticas padrão em microbiologia combinadas ao uso de equipamentos de segurança e às instalações físicas que compreendem os níveis de biossegurança 1 a 3. Estes níveis são recomendados para trabalho com OGM, agentes biológicos e seus derivados nas unidades organizacionais da UENF de acordo com o nível do OGM, agentes biológicos e seus derivados.

Esta Diretriz de Biossegurança da UENF tem caráter consultivo, fornecendo um guia cujo objetivo é contribuir para a cultura da biossegurança da UENF. Portanto, este material deve ficar disponível em todas as unidades organizacionais da UENF que fazem manipulação de OGM, agentes biológicos e seus derivados.

7.2. Introdução

A prática das ciências leva à exposição de profissionais e o ambiente, a riscos inerentes, criando desafios e legislações específicas, em especial, às biociências que em vários níveis lidam com agentes biológicos de risco, modificados geneticamente ou não e seus derivados (ABR). Por exemplo, a disciplina Microbiologia abrange áreas que englobam a bioquímica, biologia celular, genética, taxonomia, virologia, bacteriologia, microbiologia industrial, de alimentos e ecológica. Nesta disciplina são abordadas grandes vantagens e avanços na qualidade de vida da humanidade. Estes benefícios passam pela produção de comida como o pão, queijo, cerveja e iogurte, assim como a produção de diversas substâncias de grande utilidade em nosso mundo industrializado como enzimas, antibióticos, vitaminas. Adicionalmente, estudos nestas disciplinas permitiram avanços na área de imunologia, produção de vacinas, biotecnologia e organismos geneticamente modificados, só para citar alguns exemplos (Madigan et al., 2011). No entanto, uma gama de profissionais, assim como alunos de pós-graduação e graduação, que trabalham com pesquisa, desenvolvimento, ensino e clínica, estão expostos aos AB durante estas atividades. Ademais, não somente os profissionais diretos são expostos aos AB, mas o ambiente também. Apesar da observância das normas de biossegurança, há relatos de acidentes (Sewell, 1995; Singh, 2009; Pedrosa e Cardoso, 2011).

Desde os primeiros relatos de contaminação ou liberação acidental de AB, percebeu-se a necessidade da criação de regras para proteção dos indivíduos e do ambiente (Kurse et al., 1991). Neste sentido, a biossegurança tem sido instituída em unidades que trabalham com esses agentes. No Brasil, a Lei 11.105, Lei de Biossegurança, foi promulgada em 24 de março 2005 (Brasil, 2005).

7.3. O que é biossegurança?

A biossegurança deve ser entendida como um conjunto de procedimentos ou ações que envolvem técnicas e métodos associados à equipamentos e dispositivos que tem como

objetivo controlar ou minimizar riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços com agentes biológicos de risco, modificados geneticamente ou não, assim como seus derivados, que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, das plantas e do meio ambiente.

8. PRINCÍPIOS DE BIOSSEGURANÇA

O princípio básico da biossegurança gravita em torno do termo “contenção”. Dentro deste termo, estão embutidos tanto o ambiente físico preparado para a manipulação de agentes biológicos de risco modificados geneticamente ou não, assim como seus derivados, quanto métodos utilizados para a manipulação destes agentes biológicos. O objetivo da contenção é, portanto, o de manter ao mínimo, ou mesmo de eliminar, a exposição dos usuários, de outras pessoas e o ambiente em geral aos agentes potencialmente perigosos.

A contenção é dividida em duas categorias básicas, a contenção primária e a contenção secundária. A contenção primária é aquela que faz a proteção dos usuários e do ambiente de trabalho à exposição a agentes biológicos de risco, modificados geneticamente ou não, e seus derivados, e é fundamentada na boa prática microbiológica e no uso de equipamentos de segurança adequados. A contenção secundária é aquela que faz a proteção do ambiente externo à exposição aos agentes biológicos de risco, modificados geneticamente ou não, seus derivados, e é fundamentada na combinação de um projeto físico de instalações adequadas e das boas práticas microbiológicas. Deste modo, a contenção se apoia em três pilares, a adequação física do laboratório, os equipamentos de segurança e as boas práticas microbiológicas.

As boas práticas microbiológicas constituem o cerne do princípio da contenção. Os usuários devem aderir e seguir rigidamente as técnicas e práticas microbiológicas para o manuseio seguro de agentes biológicos de risco, modificados geneticamente ou não, e de seus derivados. De modo geral, as boas práticas microbiológicas são divididas em práticas padrões e práticas especiais. As boas práticas microbiológicas devem ser complementadas por um espaço físico com equipamentos (barreiras primárias) e instalações (barreiras secundárias) adequados.

Os equipamentos de segurança constituem barreiras primárias e tem a função de manter ao mínimo, ou mesmo de eliminar, a exposição dos usuários a agentes biológicos de

risco, modificados geneticamente ou não, e de seus derivados. Entre estes equipamentos, estão as cabines de segurança biológica, divididas nas classes I, II e III, assim como itens de proteção individual como luvas, jaleco e óculos de proteção. Os equipamentos de segurança serão discutidos em detalhes nos **itens 13 e 16**.

As instalações constituem um nível de proteção para as pessoas que estão fora do meio laboratorial e também para o ambiente no caso de liberações acidentais de agentes biológicos, modificados geneticamente ou não. A instalação deve ser projetada para funcionar como contenção de acordo com o nível de biossegurança dos agentes biológicos de risco, modificados geneticamente ou não, e de seus derivados, que serão manipulados na unidade e a responsabilidade pela verificação da correta adequação é do chefe da unidade. No **item 11** está descrito os requerimentos físicos dos laboratórios necessários para atender os diferentes níveis de biossegurança. Estes níveis são divididos em quatro categorias, denominadas de Nível de Biossegurança 1, 2, 3 e 4 (NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4), em ordem crescente de grau de segurança oferecido.

Estes três elementos, a adequação física do laboratório, os equipamentos de segurança e as boas práticas microbiológicas, devem ser combinados de modo adequado para fornecer o nível de biossegurança necessário para o nível do agente biológico de risco, modificado geneticamente ou não, e seus derivados, o que é determinado por meio de uma avaliação de risco.

9. AVALIAÇÃO DE RISCO

A palavra risco denota a possibilidade ou a probabilidade de algo ocorrer. No contexto de laboratórios onde agentes biológicos modificados geneticamente ou não, são manipulados e mantidos, a palavra risco tem o sentido de prevenção de infecção ou contaminação com estes agentes biológicos. Esta avaliação de risco é essencial para se definir o nível de biossegurança que o laboratório deverá ter para a manipulação segura de agentes biológicos, modificados geneticamente ou não.

A avaliação de risco pode ser qualitativa ou quantitativa. Riscos conhecidos permitem a avaliação de risco qualitativa. Quando estes são insuficientes ou ausentes, a avaliação de risco é quantitativa. O desafio da avaliação do risco se encontra naqueles casos em que uma informação completa sobre os agentes biológicos não está à nossa disposição. Uma

abordagem conservadora é geralmente aconselhada quando as informações forem insuficientes, forçando à um julgamento subjetivo. As Precauções Universais deverão sempre ser recomendadas.

9.1. Critérios para avaliação de risco dos agentes biológicos:

A importância da avaliação de risco dos agentes biológicos está na estimativa do risco, no dimensionamento da estrutura para a contenção e na tomada de decisão para o gerenciamento dos riscos. Para isso, consideram-se alguns critérios, entre os quais se destacam:

9.1.1. Natureza do Agente Biológico – organismos ou moléculas com potencial ação biológica infecciosa sobre o homem, animais, plantas ou o meio ambiente em geral, incluindo vírus, bactérias, archaea, fungos, protozoários, parasitos, ou entidades acelulares como prions, RNA ou DNA (RNAi, ácidos nucleicos infecciosos, aptâmeros, genes e elementos genéticos sintéticos, etc) e partículas virais (VPL);

9.1.2. Virulência – é a capacidade patogênica de um agente biológico, medida pelo seu poder de aderir, invadir, multiplicar e disseminar em determinados sítios de infecção e tecidos do hospedeiro, considerando os índices de morbi-mortalidade que ele produz. A virulência pode ser avaliada por meio dos coeficientes de mortalidade e de gravidade. O coeficiente de mortalidade indica o percentual de casos da doença que são mortais, o coeficiente de gravidade e o percentual dos casos considerados graves;

9.1.3. Modo de transmissão – é o percurso feito pelo agente biológico a partir da fonte de exposição até o hospedeiro. O conhecimento do modo de transmissão do agente biológico é de fundamental importância para a aplicação de medidas que visem conter a disseminação do patógeno;

9.1.4. Estabilidade – é a capacidade de manutenção do potencial infeccioso de um agente biológico no meio ambiente, inclusive em condições adversas tais como a exposição à luz, à radiação ultravioleta, à temperatura, à umidade relativa e aos agentes químicos;

9.1.5. Concentração – a concentração está relacionada à quantidade de agentes biológicos por unidade de volume. Assim, quanto maior a concentração, maior o risco;

9.1.6. Volume: volume do agente biológico também é importante, pois na maioria dos casos os fatores de risco aumentam proporcionalmente ao aumento do volume;

9.1.7. Origem do agente biológico potencialmente patogênico – deve ser considerada a origem do hospedeiro do agente biológico (humano ou animal), como também a localização geográfica (áreas endêmicas) e o vetor;

9.1.8. Disponibilidade de medidas profiláticas eficazes – estas incluem profilaxia por vacinação, agentes antimicrobianos, antissoros e imunoglobulinas. Inclui ainda, a adoção de medidas sanitárias, controle de vetores e medidas de quarentena em movimentos transfronteiriços. Quando essas medidas estão disponíveis, o risco é reduzido;

9.1.9. Disponibilidade de tratamento eficaz – tratamento capaz de prover a contenção do agravamento e a cura da doença causada pela exposição ao agente biológico. Inclui a utilização de antissoros, vacinas pós-exposição e medicamentos terapêuticos específicos;

9.1.10. Deve ser considerada a possibilidade de ocorrência de resistência a antimicrobianos entre os agentes biológicos envolvidos;

9.1.11. Dose infectante – consiste no número mínimo de agentes biológicos necessários para causar doença. Varia de acordo com a virulência do agente biológico e a susceptibilidade do indivíduo à infecção;

9.1.12. Manipulação do agente biológico – a manipulação pode potencializar o risco, como por exemplo, em procedimentos para multiplicação, sonicação, liofilização e centrifugação;

Nota: Além disto, deve-se destacar que nos procedimentos de manipulação envolvendo a inoculação experimental em animais, os riscos irão variar de acordo com as espécies e protocolos utilizados. Deve ser considerado ainda risco de infecções latentes que são mais comuns em animais capturados na natureza;

9.1.13. Eliminação do agente biológico – o conhecimento das vias de eliminação do agente é importante para a adoção de medidas de contingenciamento. A eliminação por excreções ou secreções de agentes biológicos pelos organismos infectados, em especial, aqueles transmitidos por via respiratória, podem exigir medidas adicionais de contenção. As pessoas que lidam com animais experimentalmente infectados com agentes biológicos patogênicos apresentam um risco maior de exposição devido à possibilidade de mordidas, arranhões e inalação de aerossóis. (texto retirado do: Classificação de risco dos agentes biológicos. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde. – 3. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2017).

A avaliação de risco é o meio usado para que seja determinado o nível de segurança adequado para o desenvolvimento do trabalho com determinado agente biológico, geneticamente modificado ou não. O nível de biossegurança adequado garantirá que a exposição dos usuários, de outras pessoas e do ambiente em geral aos agentes potencialmente perigosos, seja mantido ao mínimo, ou mesmo eliminado. Portanto, a avaliação de risco permitirá a correta escolha da melhor combinação da adequação física do laboratório, dos equipamentos de segurança e das boas práticas microbiológicas que definirão um dos quatro níveis de biossegurança que deverá ser usado.

Além dos aspectos sanitários, devem ser considerados também os impactos socioeconômicos da disseminação de agentes patogênicos em novas áreas e regiões antes não habituais para o agente biológico considerado. Por este motivo, as classificações dos agentes biológicos com potencial patogênico em diversos países, embora concordem em relação à grande maioria destes, variam em função de fatores regionais específicos. Cabe ressaltar a importância da composição multiprofissional e da abordagem interdisciplinar nas análises de risco. Estas envolvem não apenas aspectos técnicos e agentes biológicos de risco, mas também seres humanos e animais, complexos e ricos em suas naturezas e relações.

10. CLASSE DE RISCO DE AGENTES BIOLÓGICOS

De acordo com a avaliação de risco, os agentes biológicos, geneticamente modificados ou não, são distribuídos em classes de risco biológico como descrito abaixo:

10.1. Classe de risco 1 (baixo risco individual e para a comunidade): Inclui os agentes biológicos conhecidos por não causarem doenças no homem ou nos animais adultos saudáveis. Exemplos: *Lactobacillus* spp. e *Bacillus subtilis*;

10.2. Classe de risco 2 (moderado risco individual e limitado risco para a comunidade): Inclui os agentes biológicos que provocam infecções no homem ou nos animais, cujo potencial de propagação na comunidade e de disseminação no meio ambiente é limitado, e para os quais existem medidas profiláticas e terapêuticas conhecidas eficazes. Exemplos: *Schistosoma mansoni* e vírus da rubéola;

10.3. Classe de risco 3 (alto risco individual e moderado risco para a comunidade): Inclui os agentes biológicos que possuem capacidade de transmissão, em especial por via respiratória, e

que causam doenças em humanos ou animais potencialmente letais, para as quais existem usualmente medidas profiláticas e terapêuticas. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de pessoa a pessoa. Exemplos: *Bacillus anthracis* e Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV);

10.4. Classe de risco 4 (alto risco individual e para a comunidade): Inclui os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade, em especial por via respiratória, ou de transmissão desconhecida. Até o momento, não há nenhuma medida profilática ou terapêutica eficaz contra infecções ocasionadas por estes. Causam doenças humanas e animais de alta gravidade, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no meio ambiente. Esta classe inclui principalmente vírus. Exemplos: vírus Ebola e vírus da varíola.

10.2. Observações sobre a classificação dos agentes biológicos:

10.2.1. No caso de mais de uma espécie de um determinado gênero ser patogênica serão assinaladas as mais importantes, e as demais serão representadas pelo gênero seguido da denominação spp., indicando que outras espécies do gênero podem ser patogênicas;

10.2.2. Nesta classificação foram considerados apenas os possíveis efeitos dos agentes biológicos aos indivíduos saudáveis. Os possíveis efeitos aos indivíduos com doença prévia, em uso de medicação, portadores de desordens imunológicas, gravidez ou em lactação não foram considerados;

10.2.3. O estabelecimento de uma relação direta entre a classe de risco do agente biológico e o nível de biossegurança (NB) é uma dificuldade habitual no processo de definição do nível de contenção. Geralmente o NB é proporcional à classe de risco do agente (classe de risco 2 – NB-2), porém, certos procedimentos ou protocolos experimentais podem exigir um maior ou menor grau de contenção. Por exemplo, para o diagnóstico laboratorial de *Mycobacterium tuberculosis*, que é de classe de risco 3, é fundamental considerar a probabilidade de haver produção de aerossóis para se determinar o nível de risco e as medidas necessárias de controle e minimização dos mesmos. De acordo com o Manual de Biossegurança para Laboratórios de Tuberculose da Organização Mundial da Saúde (OMS), quando realizada de acordo com as boas práticas laboratoriais, a baciloscopia direta oferece um baixo risco de gerar aerossóis infecciosos e este procedimento pode ser realizado numa bancada aberta, desde que haja a garantia de uma ventilação adequada e uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) recomendados. Procedimentos que liquefazem as amostras – como os usados durante a

digestão e o processamento da amostra para inoculação em meio de cultura nos testes de sensibilidade diretos ou nos ensaios de sondas genéticas por sequenciamento direto – representam um maior risco de produção de aerossóis quando comparados com outras técnicas, e, portanto, esses procedimentos devem ser realizados numa Cabine de Segurança Biológica (CSB) em área de contenção NB-2. A manipulação de culturas para identificação de micobactérias e teste de sensibilidade indireto ou teste de sonda genética envolvem procedimentos que tem uma alta concentração de bacilos, existindo, portanto, um alto risco de produzir aerossóis; tais atividades devem ser realizadas com a utilização de CSB em Laboratórios de Contenção da Tuberculose (referem-se a instalações NB-2 que possuem as características mínimas de projeto necessárias para manipular culturas de bacilos de forma segura e instalações NB-3);

10.2.4. Entre as espécies de parasitos, em especial os helmintos que são parasitas humanos e podem ser encontrados em diferentes continentes, muitas são referidas como zoonoses emergentes, principalmente aquelas provenientes do pescado. A inclusão dessas espécies visa não somente atualizar o espectro de agentes para o trabalho em contenção, mas principalmente alertar para o risco de aparecimento dessas parasitoses no país;

10.2.5. Agentes com potencial de risco zoonótico não existentes no Brasil, exóticos, e de alto risco de disseminação no meio ambiente devem ser manipulados em laboratórios com o maior nível de contenção existente no país. Embora estes agentes não sejam obrigatoriamente patógenos de importância para o homem, eles podem gerar significativas perdas na produção de alimentos e graves danos econômicos;

10.2.6. Para o caso de agentes biológicos geneticamente modificados devem ser seguidas as determinações e as Resoluções Normativas da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). (texto retirado do: Classificação de risco dos agentes biológicos. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde. – 3. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2017).

Como está descrito no texto acima, cabe ressaltar que a mera referência à classe de risco de um agente biológico não é suficiente para se fazer uma avaliação de risco. Portanto, os critérios elencados no **item 11** devem também ser observados. Para consulta da classe de risco de agentes biológicos favor consultar item 3.1, página 18, do documento: Classificação

de risco dos agentes biológicos. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde. – 3. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2017.

10.3. Avaliação de risco para agentes biológicos geneticamente modificados

Para agentes biológicos geneticamente modificados e seus derivados, a classificação de risco será feita como descrito na Resolução Normativa N° 2 da CTNBio (texto foi alterado pela resolução n° 18 de 23 de março de 2018), cujo texto segue abaixo:

10.3.1. “Art. 7º Os OGM serão classificados em quatro classes de risco, adotando-se como critérios o potencial patogênico dos organismos doador e receptor, a(s) sequência(s) nucleotídica(s) transferida(s), a expressão desta(s) no organismo receptor, o OGM resultante e seus efeitos adversos à saúde humana e animal, aos vegetais e ao meio ambiente;

10.3.2. § 1º. Para genes que codificam produtos nocivos para a saúde humana e animal, aos vegetais e ao meio ambiente, o vetor utilizado deverá ter capacidade limitada para sobreviver fora do ambiente de contenção;

10.3.3. § 2º. Todo organismo geneticamente modificado deverá possuir um marcador capaz de identificá-lo dentre uma população da mesma espécie;

10.4. Art. 8º As classes de risco dos OGM serão assim definidas:

10.4.1. I – Classe de Risco 1 (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade): O OGM que contém sequências de ADN/ARN que não causem agravos à saúde humana e animal e efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente;

10.4.2. II – Classe de Risco 2 (moderado risco individual e baixo risco para a coletividade): O OGM que contém sequências de ADN/ARN com moderado risco de agravo à saúde humana e animal, que tenha baixo risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente;

10.4.3. III – Classe de Risco 3 (alto risco individual e risco moderado para a coletividade): O OGM que contém sequências de ADN/ARN com alto risco de agravo à saúde humana e

animal, que tenha baixo ou moderado risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente;

10.4.4. IV – Classe de Risco 4 (alto risco individual e alto risco para a coletividade): O OGM que contém sequências de ADN/ARN com alto risco de agravo à saúde humana e animal, que tenha elevado risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente.

10.5. § 1º. A classe de risco do OGM resultante não poderá ser inferior à classe de risco do organismo receptor, exceto nos casos em que exista redução da virulência e patogenicidade do OGM.

10.6. § 2º. O OGM que contenha sequências de ADN/ARN de organismos ou agentes infecciosos desprovidos de potencial de expressão nas atividades e projetos propostos será classificado na mesma classe de risco do organismo receptor.

10.7. § 3º. O OGM que contenha sequências de ADN/ARN derivadas de organismos de classe de risco superior e com potencial de expressão poderá, a critério da CTNBio, ser classificado na classe de risco do organismo receptor, desde que reconhecidamente não associadas à toxicidade ou patogenicidade nas atividades e projetos propostos.

10.8. § 4º. Para a classificação de risco, deve-se também considerar:

- a) a possibilidade de recombinação de sequências inseridas no OGM, levando à reconstituição completa e funcional de genomas de agentes infecciosos;
- b) outros processos que gerem um genoma infeccioso;
- c) genes que codifiquem substâncias tóxicas aos homens, aos animais, aos vegetais ou que causem efeitos adversos ao meio ambiente;
- d) genes de resistência a antibióticos de amplo uso clínico.

10.9. § 5º. Enquadram-se na classe de risco 2 ou superior:

- a) aqueles vegetais geneticamente modificados que são plantas daninhas ou espontâneas, que possam cruzar com estas em área que torne este cruzamento possível, gerando

descendentes férteis com maior capacidade de invasão e dano ao meio ambiente do que os parentais; e

b) organismos geneticamente modificados que sejam vetores biológicos de agentes causadores de agravos à saúde do homem, dos animais, dos vegetais ou ao meio ambiente.

10.10. § 6º. O OGM que se torne mais apto à sobrevivência no meio ambiente que os organismos não geneticamente modificados e que, a critério da CTNBio, represente uma ameaça potencial à biodiversidade, pode ter sua classe de risco aumentada.

10.11. § 7º. Para a informação de classe de risco dos agentes infecciosos para humanos e animais, deve ser consultada a relação atualizada do Ministério da Saúde e, para a informação da classificação de risco de pragas quarentenárias de plantas, deve ser consultada a lista atualizadas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.”.

11. NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA

Os quatro níveis de biossegurança constituem associações de boas práticas microbiológicas, equipamentos de segurança e instalações do laboratório. Essas combinações são especificamente adequadas para as operações realizadas, considerando as vias de transmissão documentadas ou suspeitas dos agentes infecciosos e o funcionamento ou atividade do laboratório.

A escolha de um dos quatro níveis de biossegurança é uma determinação feita a partir da avaliação de risco do trabalho com agente biológico, geneticamente modificado ou não, e seus derivados, levando em consideração as boas práticas microbiológicas, equipamentos de segurança e instalações do laboratório que são especificamente combinadas entre si para garantir que o risco da manipulação destes agentes potencialmente perigosos seja mantido ao mínimo ou mesmo eliminado.

Os quatro níveis de biossegurança, denominados de NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4, designam ordens crescentes de proteção dos usuários, da comunidade e do meio ambiente. O texto abaixo foi retirado do: Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de

Vigilância Epidemiológica. – 3. ed. em português rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 290 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos). ISBN 85-334-0777-7. Tradução do inglês: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. ISBN 017-040-00547-4.

11.1. Nível de Biossegurança 1 (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 deverá ser supervisionado por um cientista com treinamento em microbiologia geral ou ciência correlata.

Nota: Recomenda-se a supervisão por um profissional de nível superior.

11.1.1. Os seguintes padrões e práticas especiais, os equipamentos de segurança e as instalações deverão ser aplicados aos agentes designados ao nível de biossegurança 1:

11.1.1.1. Práticas Padrão em Microbiologia (NB-1)

11.1.1.2. 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;

11.1.1.3. As pessoas deverão lavar as mãos após o manuseio de materiais viáveis, após a remoção das luvas e antes de saírem do laboratório;

11.1.1.4. Não é permitido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato, aplicar cosméticos ou armazenar alimentos para consumo nas áreas de trabalho;

11.1.1.5. As pessoas que usam lentes de contato em laboratórios deverão usar também óculos de proteção ou protetores faciais;

11.1.1.6. Os alimentos deverão ser guardados fora das áreas de trabalho em salas separadas com armários ou geladeiras específicos para tal fim;

11.1.1.7. É proibida a pipetagem com a boca; devem ser utilizados dispositivos mecânicos;

11.1.1.8. Devem ser instituídas normas para o manuseio de agulhas;

11.1.1.9. Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de borrifos ou aerossóis;

11.1.1.10. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material viável;

11.1.1.11. Todas as culturas, colônias e outros resíduos deverão ser descontaminados antes de serem descartados com 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;

11.1.1.12. 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 o número do telefone do pesquisador.

11.1.1.13. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle de roedores e insetos (item 19).

11.1.2. Práticas Especiais (NB-1)

Nenhuma.

11.1.3. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias) (NB-1)

11.1.3.1. Os equipamentos especiais de contenção, tais como as cabines de segurança biológica, não são geralmente exigidos para manipulações de agentes de classe de risco NB-1;

11.1.3.2. É recomendado o uso de jalecos, aventais ou uniformes próprios, para evitar contaminação ou sujeira de suas roupas normais;

11.1.3.3. 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;

11.1.3.4. Óculos protetores deverão ser usados na execução de procedimentos que produzam borrifos de micro-organismos ou de materiais perigosos.

11.1.4. Instalações Laboratoriais (Barreiras Secundárias) (NB-1)

11.1.4.1. Os laboratórios deverão possuir portas para o controle do acesso;

11.1.4.2. Cada laboratório deverá conter uma pia para lavagem das mãos;

11.1.4.3. O laboratório deve ser projetado de modo a permitir fácil limpeza. Carpetes e tapetes não são apropriados para laboratórios;

11.1.4.4. 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;

11.1.4.5. Os móveis do laboratório deverão ser capazes de suportar cargas e usos previstos. Os espaços entre bancadas, cabines e equipamentos deverão ser suficientes de modo a permitir fácil acesso para limpeza;

11.1.4.6. Se o laboratório possuir janelas que se abram para o exterior, estas deverão conter telas de proteção contra insetos.

11.2. 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 o meio ambiente. Difere do NB-1 nos seguintes aspectos: o pessoal de laboratório deverá ter um treinamento específico no manejo de agentes patogênicos e devem ser supervisionados por cientistas competentes; o acesso ao laboratório deve ser limitado durante os procedimentos operacionais; precauções extremas serão tomadas em relação a objetos cortantes infectados; e determinados procedimentos nos quais exista a possibilidade de formação de aerossóis e borrifos infecciosos devem ser conduzidos em cabines de segurança biológica ou em outros equipamentos de contenção física.

Os seguintes padrões e as práticas especiais, os equipamentos de segurança e as instalações são aplicáveis aos agentes designados para o nível de biossegurança 2:

11.2.1. Práticas Padrão de Microbiologia (NB-2)

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

11.2.1.2. As pessoas devem lavar as mãos após a manipulação de materiais viáveis, após a remoção das luvas e antes de saírem do laboratório;

11.2.1.3. 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 salas, armários ou geladeiras específicas para tal fim;

11.2.1.4. É proibida a pipetagem com a boca; devem ser utilizados dispositivos mecânicos;

11.2.1.5. Devem ser instituídas normas para o manuseio de agulhas;

11.2.1.6. Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de borrifos ou aerossóis;

11.2.1.7. 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;

11.2.1.8. Todas as culturas, colônias e outros resíduos deverão ser descontaminados antes de serem descartados com um método de descontaminação aprovado, como, por exemplo, esterilização por calor úmido (autoclave). Os materiais descontaminados fora do próprio laboratório deverão ser colocados em recipientes inquebráveis, à prova de vazamentos, hermeticamente fechados e identificados para serem transportados ao local desejado;

11.2.1.9. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle contra roedores e insetos (item 19).

11.2.2. Práticas Especiais (NB-2)

11.2.2.1. 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 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;

11.2.2.2. 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;

11.2.2.3. 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) do(s) agente(s) manipulado(s), o nível de biossegurança, as imunizações necessárias, o nome e o número do telefone do Pesquisador Responsável, o tipo de equipamento de proteção individual (EPIs) que deverá ser usado no laboratório, e os procedimentos necessários para sair do laboratório em local próximo à porta de saída do laboratório;

11.2.2.4. 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);

11.2.2.5. 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 expostas aos riscos. Amostras sorológicas adicionais devem ser colhidas periodicamente, dependendo dos agentes manipulados ou da função das instalações laboratoriais;

11.2.2.6. Os procedimentos de biossegurança devem ser incorporados aos procedimentos padrão operacionais ou a um manual de biossegurança específico do laboratório, adotado ou preparado pelo Pesquisador principal do laboratório. Todo pessoal deve ser orientado sobre os riscos e devem ler e seguir as instruções sobre as práticas e os procedimentos requeridos;

11.2.2.7. O diretor do laboratório deverá assegurar que o laboratório e a equipe de apoio recebam 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 anuais de atualização ou treinamento adicional, quando necessários e também no caso de mudanças de normas ou procedimentos;

11.2.2.8. 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 serem usados somente quando não houver outra alternativa para inoculação parenteral, flebotomia ou aspiração de fluidos de animais de laboratório e de garrafas com diafragma;

- 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 desprezadas. Ao contrário, elas deverão ser cuidadosamente colocadas em recipiente resistente a perfurações localizado convenientemente e 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 por meio de uma autoclave;
- c.** As seringas que possuam um envoltório para a agulha ou sistemas sem agulha e outros dispositivos de segurança deverão ser utilizadas quando necessário;
- d.** Vidros quebrados não devem ser manipulados diretamente com a mão, devem ser removidos por outros meios, tais como vassoura e 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.

11.2.2.9. Culturas, tecidos e amostras de fluidos 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, o embarque e o processo de descontaminação;

11.2.2.10. O equipamento laboratorial e as superfícies de trabalho deverão ser descontaminados 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;

11.2.2.11. A ocorrência de acidente (respingos fora da cabine de biossegurança e acidentes resultantes de uma exposição de materiais infecciosos aos organismos) ou liberação acidental de micro-organismos patogênicos ou OGM de risco 1 e seus derivados deverá ser mantidos por escrito no Livro de acidentes e imediatamente comunicada à ao pesquisador principal, chefe do laboratório. e, no caso de acidentes com OGM de nível de risco 2 ou superior, a

CIBio deve ser avisada e esta deve informar à CTNBio e aos órgãos e entidades de registro e fiscalização pertinentes, anexando-se relatório com informações detalhadas sobre o ocorrido, possíveis efeitos adversos no ambiente, saúde humana e animal, as ações corretivas adotadas e os nomes das pessoas e autoridades notificadas, no prazo máximo de cinco dias, contados a partir da data do evento;

11.2.2.12. É proibida a admissão de animais que não estiverem relacionados ao trabalho em execução no laboratório.

11.2.3. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias) (NB-2)

11.2.3.1. 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 em que 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. Quando agentes infecciosos forem utilizados em alta concentração ou grandes volumes, 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.

11.2.3.2. 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;

11.2.3.3. No interior do laboratório, os frequentadores 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;

11.2.3.4. Devem ser usadas luvas quando houver um contato direto com materiais e superfícies potencialmente infecciosos ou equipamentos contaminados. O mais adequado é usar dois pares de luvas. Essas luvas devem ser desprezadas quando estiverem contaminadas, quando o trabalho com materiais infecciosos for concluído ou quando a integridade das luvas 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.

11.2.4. Instalações Laboratoriais (Barreiras Secundárias) (NB-2)

11.2.4.1. É exigido um sistema de portas com trancas em dependências que abrigarem agentes restritos (como o definido em 42 CFR 72.6);

11.2.4.2. Considere a construção de laboratórios longe de áreas públicas com livre acesso;

11.2.4.3. 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;

11.2.4.4. O laboratório deverá ser projetado de modo a permitir fácil limpeza e descontaminação, utilizando materiais e tintas apropriados para superfícies e chão;

11.2.4.5. 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. Os móveis do laboratório devem suportar cargas e usos previstos com espaçamento suficiente entre 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;

11.2.4.6. Cabines de segurança biológica devem ser instaladas de forma que a variação da entrada e da 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 e 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 nessas cabines de segurança biológica;

11.2.4.7. Um lava-olhos deve estar disponível;

11.2.4.8. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e luzes fortes e ofuscantes que possam impedir a visão;

11.2.4.9. Não existem exigências em relação à ventilação, porém, o planejamento de novas instalações deve considerar sistemas mecânicos de ventilação que proporcionem 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.

11.3. Nível de Biossegurança 3 (NB-3)

O nível de biossegurança 3 é aplicável para laboratórios clínicos, de diagnóstico, 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 os agentes. Todos os procedimentos que envolverem a manipulação de materiais infecciosos devem ser conduzidos dentro de cabines de segurança biológica (Classe II ou III). Os manipuladores devem usar roupas e equipamentos de proteção individual adequados. 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). Nessas circunstâncias, um nível aceitável de segurança para a 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 com instalações do nível de biossegurança 2, garantindo-se que o ar liberado do laboratório seja jogado para fora da sala após filtração (filtro HEPA); a ventilação do laboratório seja equilibrada para proporcionar um fluxo de ar direcionado para dentro da sala; o acesso ao laboratório seja restrito; e as práticas padrão 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 chefe do laboratório com supervisão da CIBio/UENF.

Os seguintes padrões e as práticas de segurança especiais, os equipamentos e as instalações se aplicam aos agentes enumerados no nível de biossegurança 3:

11.3.1. Práticas Padrão de Microbiologia (NB-3)

11.3.1.1. O acesso ao laboratório deve ser restrito. Somente os funcionários autorizados, de acordo com a definição do chefe do Laboratório, podem entrar pela sala para troca de roupa e aplicação de EPIs com um sistema de duas portas intertravadas instalada;

11.3.1.2. As pessoas devem lavar as mãos após a manipulação de materiais infecciosos, após a remoção e descarte das luvas e outros EPIs antes de saírem do laboratório;

11.3.1.3. 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, além de outros EPIs;

11.3.1.4. Todos os procedimentos devem ser realizados em Cabines de segurança biológica (classe II ou III), com cuidados especiais a fim de minimizar a criação de aerossóis. Para a pipetagem devem ser utilizados dispositivos mecânicos que podem ser autoclavados;

11.3.1.5. Devem ser instituídas normas para o manuseio e coleta de agulhas por dentro de Cabines de BS, que devem ser descontaminadas imediatamente após o trabalho;

11.3.1.6. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas imediatamente após do trabalho e depois de qualquer derramamento de material viável;

11.3.1.7. Todas as culturas, colônias e outros resíduos relacionados devem ser descontaminados antes de serem descartados, por meio de um método de descontaminação aprovado, como, por exemplo, a autoclavação. O autoclave de dupla porta deve ser instalado por dentro do laboratório e todo material e lixo infeccioso de laboratórios de níveis de biossegurança 3 deverá ser descontaminado imediatamente após o trabalho antes de ser removido para área de lavagem em locais fora do laboratório;

11.3.1.8. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle de roedores e insetos (item 19).

11.3.2. Práticas Especiais (NB-3)

11.3.2.1. As portas do laboratório devem permanecer fechadas quando experimentos estiverem sendo realizados;

11.3.2.2. O pesquisador principal e o chefe do laboratório deverão 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 após instruções e treinamento. 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 (menores de 18 anos, imunocomprometidos, grávidas). 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 pela determinação de quem deverá ou não entrar ou trabalhar dentro do laboratório. Não é permitida a entrada de menores no laboratório;

11.3.2.3. O chefe do laboratório deverá estabelecer normas e procedimentos por meio dos 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;

11.3.2.4. Quando materiais infecciosos ou animais infectados estiverem presentes no laboratório ou no módulo de contenção (durante a vigência do projeto) 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, com endereço completo e telefone de contato. 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;

11.3.2.5. 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). Exames periódicos também são recomendados;

11.3.2.6. 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;

11.3.2.7. Um manual de biossegurança específico deverá ser preparado e adotado pelo diretor do laboratório e os procedimentos de biossegurança devem ser incorporados aos procedimentos padrão operacionais. Todo pessoal deve ser orientado sobre os riscos especiais, deve ler e seguir as instruções sobre as práticas e os procedimentos requeridos;

11.3.2.8. 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 frequentar cursos anuais de atualização ou treinamento adicional, quando necessário, e também em caso de mudanças de normas e procedimentos;

11.3.2.9. 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 apta para práticas e técnicas padrão de microbiologia e esteja habilitada também para práticas e operações específicas do laboratório. Podem estar incluídos experiência anterior em manipulação de patógenos humanos, culturas de células e treinamento específico proporcionado pelo diretor do laboratório ou por outros peritos na área de manejo de práticas e técnicas microbiológicas seguras;

11.3.2.10. Deve-se tomar 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 serem 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 agulha fixa ou agulha e seringa em uma unidade descartável (por exemplo, quando a agulha é parte integrante da seringa) 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 e 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 com 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, mesmo que esteja com luva, devem ser removidos por outros meios mecânicos, tais como pinças ou fórceps, vassoura e pá de lixo, Os recipientes que contêm agulhas, equipamentos cortantes e vidros quebrados contaminados deverão passar por um processo de descontaminação imediata no local do acidente antes de serem desprezados, de acordo com os regulamentos locais, estaduais ou federais.

11.3.2.11. Todas as manipulações 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 em que haja necessidade de abrir a pele para se alcançar os vasos deverá ser conduzido em bancadas abertas. É recomendado recobrir as superfícies de trabalho não perfuradas das cabines de segurança biológica para não obstruir o fluxo de ar, com um material plástico (ex. saco de plástico grande) para facilitar limpeza e descontaminação;

11.3.2.12. Após a conclusão do trabalho com materiais infecciosos, todo lixo sólido e líquido devem ser coletados em sacos e recipientes com tampa, respectivamente, e submetido à autoclavagem. Os equipamentos laboratoriais e as superfícies de trabalho deverão ser descontaminados rotineiramente com um desinfetante eficaz, especialmente no caso de derramamento, vazamentos ou outras contaminações por materiais infecciosos;

a. Os vazamentos 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;

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;

11.3.2.13. Uma eventual quebra do recipiente e vazamento de material infeccioso fora da cabine de segurança deve ser considerado acidente de trabalho. Os procedimentos

padronizados (POP) para vazamento deverão ser desenvolvidos, notificados e imediatamente relatados ao pesquisador principal e chefe do laboratório. Toda equipe de usuários deve ser adequadamente treinada para acidentes de trabalho. Vazamentos e acidentes que resultem em exposições abertas dos materiais infecciosos aos organismos deverão ser imediatamente relatados ao chefe do laboratório. Avaliação médica adequada, vigilância e tratamento deverão ser proporcionados e registros por escrito deverão ser mantidos;

11.3.2.14. Todos os dejetos contendo materiais contaminados em laboratório (por exemplo, luvas, jalecos de laboratórios, etc.) deverão ser descontaminados antes de serem desprezados ou reutilizados;

11.3.2.15. As culturas, os tecidos, as amostras de fluidos corpóreos ou resíduos deverão ser colocados em um recipiente que evite um vazamento durante coleta, manuseio, processamento, armazenamento, transporte ou embarque;

a. O transporte do material biológico deve ser efetuado de acordo com as normas de biossegurança vigentes (**item 15**).

11.3.2.16. Animais e plantas que não estiverem relacionados ao trabalho em desenvolvimento não deverão ser admitidos dentro do laboratório e infectório NB-3.

11.3.3. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias) (NB-3)

11.3.3.1. Roupas de proteção (como máscaras, luvas, pro-pé, tocas e jalecos com uma frente inteira, macacão ou uniforme de limpeza) deverão ser usadas pela equipe quando estiver dentro do laboratório e trocada se contaminadas. A roupa de proteção não deverá ser usada fora do laboratório. Antes de ser lavada ou descartada a roupa deverá ser descontaminada em autoclave;

11.3.3.2. Recomenda-se uso de duas luvas durante trabalho com materiais infecciosos. A luva externa deve ser trocada em caso de contaminação ou dano;

11.3.3.3. 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 III (**item 13**);

11.3.3.4. 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).

11.3.4. Instalações do Laboratório (Barreiras Secundárias) (NB-3)

11.3.4.1. O laboratório, com acesso restrito, deverá estar separado das áreas de trânsito irrestrito do prédio. É exigido um sistema de dupla porta com sistema de intertravamento automático como requisito para entrada no laboratório a partir de corredores de acesso ou outras áreas contíguas. As portas deverão conter fechaduras. Uma sala para a troca de roupas deverá estar localizada na entrada do laboratório;

11.3.4.2. Próximo à porta de saída da antessala de troca de roupa deve haver um sistema de lavagem das mãos (pia). A pia deverá ser acionada automaticamente sem o uso das mãos. Dentro do laboratório não deve haver ralos ou os ralos devem ter dispositivo de fechamento;

11.3.4.3. As superfícies das paredes internas, dos pisos e dos tetos das áreas, em que 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, os tetos e os pisos deverão ser lisos, impermeáveis e resistentes a substâncias químicas e desinfetantes normalmente usados em laboratórios. Os pisos deverão ser monolíticos e antiderrapantes. O uso de revestimento de piso deverá ser levado 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;

11.3.4.4. 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;

11.3.4.5. Os móveis do laboratório deverão suportar cargas e usos previstos com espaçamento suficiente entre bancadas, cabines e equipamentos para permitir acesso fácil para a limpeza. As cadeiras e outros móveis utilizados em um laboratório deverão ser cobertos por um material que não seja tecido e possa ser facilmente descontaminado;

11.3.4.6. Todos os visores do laboratório deverão ter vidros duplos de segurança e serem lacrados;

11.3.4.7. Deve existir autoclave para a descontaminação de resíduos, localizada no interior das instalações, com sistema de dupla porta (autoclave de barreira);

11.3.4.8. Um método para descontaminação de todos os dejetos do laboratório deverá estar disponível para a equipe e ser 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;

11.3.4.9. Deverão haver cabines de segurança biológica Classe II ou III em todas salas para a realização dos procedimentos que envolverem a manipulação de micro-organismos de Classe de Risco 3. Essas cabines deverão estar distantes de portas;

11.3.4.10. As instalações NB-3 devem ter fonte de energia de emergência com acionamento automático (gerenciador de energia), suprimindo todas as necessidades energéticas;

11.3.4.11. O sistema de ar nas instalações deve ser independente e deve prever uma pressão diferencial negativa na sala de entrada e área de trabalho e fluxo unidirecional, de modo que não permita a saída do agente de risco. No sistema de ar devem estar acoplados manômetros, com sistema de alarme, que acusem qualquer alteração sofrida no nível de pressão exigido para as diferentes salas. Não deve existir exaustão do ar para outras áreas do prédio. O ar de exaustão deverá passar por filtro HEPA antes de ser eliminado para o exterior das instalações, devendo haver verificação constante do fluxo de ar nas instalações. O ar de exaustão pode ser recirculado e deverá passar por filtro HEPA antes de retornar ao sistema. 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;

11.3.4.12. 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 classe III 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 utilizadas, estas deverão estar conectadas diretamente ao sistema de

exaustores. Se as cabines de classe III estiverem conectadas ao sistema de insuflação do ar, isso deverá ser feito de tal maneira que previna uma pressurização positiva das cabines (ver **item 13**);

11.3.4.13. 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);

11.3.4.14. Um lava-olhos deve estar disponível no laboratório;

11.3.4.15. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e brilhos que possam ofuscar a visão;

11.3.4.16. Sistema de comunicação apropriado com o exterior é recomendável;

11.3.4.17. Animais de experimentação no laboratório NB-3 devem ser mantidos no infectório em sistemas de confinamento (sistemas de caixas com filtro HEPA e paredes rígidas). A manipulação desses animais deve ser feita em cabine de segurança biológica classe II ou III;

11.3.4.18. 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;

11.3.4.19. Proteções adicionais ao meio ambiente (por exemplo, chuveiros para a equipe, contenção de outras linhas de serviços e a descontaminação dos efluentes) deverão ser consideradas 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.

11.4. Níveis de Biossegurança para Agentes Biológicos Geneticamente Modificados

Para agentes biológicos geneticamente modificados e seus derivados os níveis de biossegurança serão os descritos na Resolução Normativa Nº 2 da CTNBio (cujo texto foi alterado pela resolução nº 18 de 23 de março de 2018), o texto segue abaixo:

11.4.1. Art. 9º O nível de biossegurança de atividades e projetos com micro-organismo em pequena escala será determinado segundo o OGM de maior classe de risco envolvido. Níveis de biossegurança com micro-organismos em larga escala e atividade e projetos envolvendo vegetais e animais geneticamente modificados serão especificados nos **itens 11.4.7., 11.4.8. e 11.4.9.**, respectivamente;

11.4.2. Parágrafo único. As atividades e projetos envolvendo OGM e seus derivados deverão ser precedidos de uma análise detalhada e criteriosa de todas as condições experimentais, devendo-se utilizar o nível de biossegurança adequado à classe de risco do OGM manipulado;

11.4.3. Art. 10 São quatro os Níveis de Biossegurança: NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4, crescentes no maior grau de contenção e complexidade do nível de proteção, de acordo com a classe de risco do OGM.

11.4.4. Nível de Biossegurança 1 (NB-1): adequado às atividades e projetos que envolvam OGM da classe de risco 1, realizadas nas seguintes condições:

- a) não é necessário que as instalações estejam isoladas das demais dependências físicas da instituição, sendo as atividades e projetos conduzidos geralmente em bancada, biotério, casa de vegetação ou tanque de aquicultura;
- b) a equipe técnica e de apoio deverá ter treinamento específico nos procedimentos realizados nas instalações e deverá ser supervisionada pelo pesquisador principal. O treinamento deverá ser registrado e conter, no mínimo, informações sobre os assuntos abordados, carga horária, participantes e responsável pelo treinamento;
- c) as instalações NB-1 devem ser desenhadas de modo a permitir fácil limpeza e descontaminação;
- d) a superfície das bancadas deve ser impermeável à água e resistente aos produtos químicos que serão manipulados;
- e) os espaços entre as bancadas, cabines e equipamentos devem ser suficientes de modo a permitir fácil limpeza;
- f) OGMs serão manipulados em áreas sinalizadas com o símbolo universal de risco biológico, com acesso restrito à equipe técnica e de apoio ou de pessoas autorizadas;
- g) as superfícies de trabalho devem ser descontaminadas sempre que ocorrer contaminação;
- h) todo resíduo líquido ou sólido contaminado deve ser descontaminado por autoclavagem ou outro método comprovado de descontaminação que assegure a inviabilização da capacidade

de replicação ou multiplicação do OGM antes de ser descartado, assim como todo material ou equipamento que tiver entrado em contato com o OGM;

i) deve-se utilizar dispositivo mecânico para pipetagem;

j) alimentos devem ser guardados em áreas específicas para este fim, fora das instalações, sendo proibido comer, beber, fumar e aplicar cosméticos enquanto houver manipulação com OGM;

k) é proibida a admissão de animais que não estejam relacionados ao trabalho em execução nas instalações; antes de deixar as instalações, as mãos devem ser lavadas sempre que tiver havido manipulação de organismos contendo DNA/RNA, do inglês *desoxyribonucleic acid/ribonucleic acid*, recombinante;

l) extrema precaução deve ser tomada quando forem manuseadas agulhas, seringas e vidros quebrados, de modo a evitar a auto-inoculação e a produção de aerossóis durante o uso e o descarte. As agulhas não devem ser entortadas, quebradas, recapeadas ou removidas da seringa após o uso. Agulhas, seringas e vidros quebrados devem ser imediatamente colocados em recipiente resistente a perfurações e autoclavados antes do descarte;

m) materiais contaminados só podem ser retirados das instalações em recipientes rígidos e à prova de vazamentos;

n) deve ser providenciado um programa rotineiro adequado de controle de insetos e roedores. Todas as áreas que permitam ventilação deverão conter barreiras físicas para impedir a passagem de insetos e outros animais, à exceção daquelas previstas no art. 18 da resolução nº 18 de 23 de março de 2018 da CTNBio;

o) Manual de Biossegurança deve conter procedimentos específicos para atividade de manipulação de OGM e seus derivados e deve estar prontamente disponível para todos os usuários do laboratório. Todo o deve ser orientado sobre os possíveis riscos para a necessidade de seguir as especificações de cada rotina de trabalho, procedimentos de biossegurança e práticas estabelecidas no manual;

p) devem ser mantidos registros de cada atividade ou projeto desenvolvidos com OGM e seus derivados;

q) atividades e projetos com organismos não geneticamente modificados que ocorram concomitantemente e nas mesmas instalações com manipulação de OGM devem respeitar a classificação de risco do OGM;

r) todo material proveniente de OGM e seus derivados deverá ser descartado após descontaminação, de forma a impossibilitar uso como alimento por animais ou pelo homem, salvo em que este seja o propósito do experimento, ou se especificamente autorizado pela CIBio ou CTNBio;

s) todo e qualquer transporte de OGMs e seus derivados entre unidades ou instalações com CQB deve ser feito de acordo com os requerimentos especificados na Instrução normativa CTNBio nº 4, de 19 de dezembro de 1996;

11.4.5. Nível de Biossegurança 2 (NB-2): adequado às atividades e projetos que envolvam OGM de classe de risco 2, realizadas nas seguintes condições:

a) as instalações e procedimentos exigidos para o NB-2 devem atender às especificações estabelecidas para o NB-1 acrescidas da necessidade de haver uma autoclave disponível em seu interior, de modo a permitir a descontaminação de todo o material antes do descarte, sem o trânsito do OGM por corredores e outros espaços não controlados ou de acesso público, observando-se ainda:

1. no caso de autoclave ou sistema de descontaminação não estar dentro do NB-2, os resíduos gerados na área devem ser retirados em embalagens fechadas apropriadas para descontaminação imediatamente;

2. os EPIs não descartáveis devem ser descontaminados após o uso, limpos e armazenados em local destinado na entrada da área.

b) deve-se sempre utilizar cabines de segurança biológica (Classe I ou II), definidas da NSF 49;

c) cabe ao Pesquisador Principal a responsabilidade de avaliar cada situação e autorizar quem poderá entrar ou trabalhar nas instalações NB-2;

d) deve ser colocado um aviso sinalizando o nível de risco, identificando o OGM e o nome do Pesquisador Principal, na sua ausência, e de outra pessoa responsável, além do contato da CIBio;

e) o Pesquisador Principal deve estabelecer políticas e procedimentos, provendo ampla informação a todos que trabalhem nas instalações sobre o potencial de risco relacionado às atividades e projetos ali conduzidos, bem como sobre os requisitos específicos para entrada em locais onde haja a presença de animais para inoculação;

- f) no interior das instalações, os frequentadores devem utilizar os equipamentos apropriados de proteção individual tais como jalecos e luvas, os quais devem ser retirados antes da pessoa deixar as instalações credenciadas;
- g) após o uso, os EPIs não descartáveis devem ser limpos e guardados fora da área contaminada e as pessoas devem ser treinadas para seu manuseio e guarda apropriada;
- h) todos os requisitos necessários para a entrada nas instalações credenciadas devem estar indicados na porta de entrada;
- i) as superfícies de trabalho das cabines de segurança e de outros equipamentos de contenção devem ser descontaminadas sempre ao término das atividades com OGM;
- j) para experimentos com micro-organismos geneticamente modificados de menor classe de risco realizado concomitantemente no mesmo local, deverá ser adotado o nível NB-2;
- k) a equipe técnica e de apoio deve receber vacina, se disponível, contra os agentes infecciosos relacionados aos experimentos conduzidos nas instalações NB-2;
- l) exames médicos periódicos para os trabalhadores das instalações onde são conduzidos atividades e projetos com OGM podem ser solicitados pela CTNBio, incluindo avaliação clínica laboratorial de acordo com o OGM envolvido, levando-se em consideração as medidas de proteção e prevenção cabíveis.

11.4.6. Nível de Biossegurança 3 (NB-3): adequado às atividades e projetos que envolvam OGM de classe de risco 3. As instalações e procedimentos exigidos para o NB-3 devem atender às especificações estabelecidas para o NB-1 e o NB-2, observando-se ainda que:

- a) as instalações deverão estar separadas das áreas de trânsito irrestrito do prédio;
- b) a separação física entre instalações NB-3 das demais instalações, laboratórios ou corredores de acesso deve ser por sistema de dupla porta, com fechamento automático por intertravamento e com sala para troca (ou colocação de vestimenta) de roupas e outros dispositivos, para acesso em duas etapas;
- c) as instalações NB-3 devem ter fonte de energia de emergência com acionamento automático, suprimindo todas as necessidades energéticas;
- d) o sistema de ar nas instalações deve ser independente e deve prever uma pressão diferencial positiva na sala de entrada e fluxo unidirecional de modo que não permita a saída do agente de risco. No sistema de ar devem estar acoplados manômetros, com sistema de alarme, que acusem qualquer alteração sofrida no nível de pressão exigido para as diferentes salas;

- e) não deve existir exaustão do ar para outras áreas do prédio. O ar de exaustão deverá passar por filtro HEPA antes de ser eliminado para o exterior das instalações, devendo haver verificação constante do fluxo de ar nas instalações. O ar de exaustão pode ser recirculado e deverá passar por filtro HEPA antes de retornar ao sistema;
- f) todos os procedimentos que envolverem a manipulação de OGM de classe de risco 3 devem ser conduzidos dentro de cabines de segurança biológica Classe II ou III. Os manipuladores devem utilizar equipamentos de proteção individual;
- g) o ar de saída das cabines de segurança biológica com filtros HEPA de elevada eficiência (Classe II ou III) deve ser retirado diretamente para fora do edifício por sistema de exaustão;
- h) as superfícies das paredes internas, pisos e tetos devem ser resistentes à água, de modo a permitir fácil limpeza. Toda a superfície deve ser selada e sem reentrâncias, para facilitar limpeza e descontaminação;
- i) o mobiliário das instalações deve ser rígido, com espaçamentos entre as bancadas, cabines e equipamentos para permitir fácil limpeza;
- j) próximo à porta de saída da antessala deve haver um sistema de descontaminação das mãos. Dentro dos laboratórios não deve haver ralos ou os ralos devem ter dispositivo de fechamento;
- k) as janelas das instalações devem ser lacradas, com vidros duplos de segurança;
- l) deve existir autoclave para a descontaminação de resíduos, localizada no interior das instalações, com sistema de dupla porta (autoclave de barreira);
- m) todo o líquido efluente das instalações deverá ser descontaminado antes de liberado no sistema de esgotamento sanitário, através do tratamento em caixas de contenção;
- n) as linhas de vácuo devem estar protegidas com filtro de ar com elevada eficiência e coletores com líquido desinfetante;
- o) a equipe técnica deve ter treinamento específico no manejo de agentes infecciosos de classe de risco 3, devendo ser supervisionada por cientistas com vasta experiência com esses agentes;
- p) deve ser usado uniforme completo específico nas instalações onde são manipulados OGM de classe de risco 3. É proibido o uso dessas roupas fora das instalações, sendo obrigatório descontaminá-las antes de serem encaminhadas à lavanderia ou ao descarte;
- q) devem ser usadas máscaras faciais ou respiradores apropriados nas instalações NB-3;

- r) nenhum material biológico com capacidade de propagação poderá deixar as instalações se não estiver em embalagem apropriada;
- s) Sistema de comunicação apropriado com o exterior deve estar disponível;
- t) devem ser mantidas amostras-referência de soro da equipe técnica colhidas anualmente para vigilância à saúde;
- u) devem ser feitos, anualmente, exames médicos para os trabalhadores das instalações onde são conduzidos atividades e projetos com OGM de acordo com o OGM envolvido, levando-se em consideração as medidas de proteção e prevenção cabíveis;
- v) animais de laboratório em NB-3 devem ser mantidos em sistemas de confinamento (sistemas de caixas com filtro HEPA e paredes rígidas). A manipulação desses animais deve ser feita em cabine de segurança biológica classe II ou III;
- x) para experimento envolvendo OGM de menor risco realizado concomitantemente no mesmo local, deverá ser adotado o nível NB-3.

11.4.7. Dos Níveis de Biossegurança em Grande Escala

11.4.7.1. Art. 11 Atividades e projetos em contenção envolvendo cultivo ou manipulação de OGM em grande escala devem seguir as normas de biossegurança estabelecidas no **item 11** desta Diretriz de biossegurança acrescidas das seguintes medidas de contenção:

- a) além dos riscos biológicos relacionados a atividades com OGM e seus derivados em grande escala, devem ser considerados, na adoção de medidas de contenção e proteção adequadas, os riscos relacionados à toxicidade de produtos e os aspectos físicos, mecânicos e químicos do processo de produção;
- b) as instituições devem manter um programa de vigilância da saúde de todos os trabalhadores que atuam nas instalações que mantêm atividades com OGM;
- c) os exames clínicos devem ter periodicidade anual;
- d) as situações de risco potencial devem ser descritas e os exames clínicos devem incluir indicadores para monitoramento de longo prazo, tais como a constituição de banco de sorologia com marcadores específicos, quando disponíveis, para fins de vigilância epidemiológica, para atividades e projetos de pesquisa envolvendo organismos geneticamente modificados pertencentes à Classe de Risco 2, 3 ou 4.

11.4.7.2. Art. 12 Deve ser providenciado manual de procedimentos e treinamento da equipe técnica e de apoio para assegurar que o OGM seja manipulado com segurança e que a área de trabalho seja mantida limpa e organizada;

11.4.7.3. Art. 13 Antes de qualquer descarte, o OGM, seus derivados e os efluentes sólidos e líquidos devem ser inativados para impedir sua replicação ou multiplicação e potenciais efeitos adversos à saúde humana, animal e ao meio ambiente.

Parágrafo único. A inativação deve ter sua eficácia comprovada. A comprovação deverá ser periódica através de amostragens, cujos resultados devem ser apresentados no relatório anual. O período entre as amostragens dependerá do intervalo entre os descartes e deverá ser autorizado pela CIBio, no caso de OGMs da classe de risco 1, e pela CTNBio no caso das demais classes de risco.

11.4.7.4. Art. 14 Deve ser estabelecido um plano de contingência, incluindo medidas adequadas para conter e neutralizar derramamentos;

11.4.7.5. Art. 15 Para Nível de Biossegurança em Grande Escala – NBGE-1, a manipulação do OGM deve ser realizada em sistema fechado ou em instalação de contenção;

11.4.7.6. § 1º A adição de material a um sistema, a coleta de amostras e a transferência de líquido de cultura dentro de sistemas ou entre eles deve ser conduzida de forma a minimizar a formação de aerossol ou a contaminação de superfícies expostas no ambiente de trabalho;

11.4.7.7. § 2º Para minimizar o escape de OGM viável, gases de exaustão removidos do sistema fechado ou de equipamentos de contenção devem passar por filtros HEPA ou por um procedimento equivalente;

11.4.7.8. § 3º Qualquer sistema fechado ou equipamento de contenção, que contiver OGM viável, somente deve ser aberto após esterilização adequada;

11.4.7.9. § 4º Planos de emergência devem incluir métodos e procedimentos adequados para eventuais derramamentos, acidentes e perdas de cultura de OGM;

11.4.7.10. § 5º O símbolo universal de risco biológico deve ser afixado nos sistemas fechados e em equipamentos de contenção, quando utilizado para a contenção de OGM;

11.4.7.11. § 6º Qualquer derramamento ou acidente que resulte na exposição ao OGM deve ser comunicado imediatamente ao Pesquisador Principal, à CIBio, à CTNBio e às autoridades competentes;

11.4.7.12. Art. 16 Para o Nível de Biossegurança em Grande Escala – NBGE-2, deverão ser seguidas as normas estabelecidas para o NBGE-1, acrescidas das seguintes medidas:

- a) os equipamentos de contenção, além dos procedimentos de manipulação de OGM em volumes até 10 litros, devem corresponder, no mínimo, ao exigido para NB-2;
- b) o selo rotativo e outros dispositivos mecânicos diretamente associados ao sistema fechado, utilizado na propagação e crescimento de OGM, devem ser construídos de forma a evitar vazamento ou serem contidos em compartimento ventilado com exaustão por meio de filtros tipo HEPA ou de sistema equivalente;
- c) o sistema fechado, utilizado para a propagação e crescimento de OGM, bem como o equipamento utilizado para operações de contenção de OGM, devem dispor de sensores para monitorar a integridade do confinamento durante as operações;
- d) o sistema para a propagação e crescimento de OGM deve ser testado quanto à integridade dos dispositivos de contenção;
- e) os testes devem ser conduzidos antes da introdução do OGM e após qualquer modificação ou troca de dispositivos essenciais de contenção;
- f) os procedimentos e os métodos utilizados nos testes serão apropriados para o desenho do equipamento e para a recuperação e detecção do organismo testado. Os relatórios e os resultados dos testes devem ser mantidos em arquivo;
- g) o sistema de contenção, utilizado para a propagação e crescimento de OGM, deve ser permanentemente identificado. Esta identificação deve ser utilizada em todos os relatórios de testes, funcionamento e manutenção e em todos os documentos relativos ao uso deste equipamento para pesquisa ou atividades de produção com o OGM.

11.4.7.13. Art. 17 Para o Nível de Biossegurança em Grande Escala – NBGE-3, deverão ser seguidas as normas estabelecidas para o NBGE-1 e NBGE-2, acrescidas das seguintes medidas:

- a) o OGM deverá ser manipulado em um sistema fechado com as medidas de biossegurança exigidas para o NB-3;
- b) para preservar a integridade da contenção, o sistema fechado utilizado para a propagação e crescimento de OGM deve ser operado de forma que o espaço acima do meio de cultura no sistema seja mantido sob a pressão mais baixa possível, consistente com a construção do equipamento;

11.4.7.14. os sistemas fechados e equipamentos de contenção utilizados na manipulação de culturas de OGM serão localizados em área controlada com as seguintes características:

- a) a área controlada terá uma entrada separada. Deve possuir um espaço com duas portas, como uma ante-câmara pressurizada, ante-sala ou sala para troca de roupa, separando a área controlada do resto das instalações;
- b) a superfície das paredes, tetos e o pavimento da área controlada devem permitir acesso fácil para limpeza e descontaminação;
- c) eventuais perfurações na área controlada devem ser seladas para permitir descontaminação do ambiente com líquido ou gases;
- d) os encanamentos e fiação na área controlada devem ser protegidos contra a contaminação;
- e) próximo à porta de saída da antessala deve haver um sistema de descontaminação das mãos. Dentro dos Laboratórios não deve haver ralos, a menos que os ralos existentes possuam dispositivo de fechamento;
- f) chuveiro deve estar disponível próximo à área controlada;
- g) a área controlada deve ser planejada, de forma a impedir a saída de líquido de cultura para o exterior em caso de derramamento acidental, saída dos sistemas fechados ou dos equipamentos de contenção;
- h) a área controlada deve ter sistema de ventilação capaz de controlar o fluxo do ar. Este deve vir de áreas com menor potencial de contaminação em direção a áreas com maior potencial de contaminação;
- i) se o sistema de ventilação resultar em pressão positiva, o sistema deve ser planejado de forma a impedir a reversão do fluxo, ou ter um alarme que indicará tal reversão eventual. O ar que sair da área controlada não deve recircular em outras instalações, devendo ser filtrado por meio de filtros HEPA.

11.4.7.15. os procedimentos operacionais devem seguir as medidas de biossegurança estabelecidas no NBGE-1, NBGE-2 e NB-3.

11.4.8. Das Instalações Físicas e Procedimentos em Contenção para Atividades e Projetos com Vegetais Geneticamente Modificados

11.4.8.1. Art. 18 As atividades e projetos em contenção envolvendo vegetais geneticamente modificados da Classe de Risco 1 deverão atender às normas de biossegurança exigidas para o NB-1, observando-se ainda que:

11.4.8.1.1. a casa de vegetação deverá ser mantida trancada, exceto quando houver atividade em andamento; II – o acesso será restrito à equipe técnica e colaboradores devidamente capacitados em biossegurança, exceto quando houver acompanhamento pelo pesquisador principal da atividade ou pessoa por ele designada;

11.4.8.1.2. janelas ou laterais e estruturas no teto podem ser abertas para ventilação, devendo possuir telas anti-afídicas para impedir a entrada de polinizadores, quando as plantas estiverem em estágio reprodutivo. Quando se tratar de plantas alógamas, anemófilas ou zoófilas, em estágio reprodutivo, a dispersão do pólen deve ser evitada por proteção das estruturas reprodutivas ou por barreiras físicas. Na produção de mudas apenas em estágio vegetativo e sem possibilidade de florescimento, não são requeridas barreiras para pólen ou telas anti-afídicas;

11.4.8.1.3. o piso pode ser de cascalho ou outro material poroso ou concreto;

11.4.8.1.4. manutenção de informações atualizadas da casa de vegetação, sobre os experimentos em andamento e sobre os vegetais, animais ou microrganismos que forem introduzidos ou retirados da casa de vegetação, disponíveis em local de fácil acesso;

11.4.8.1.5. manual de práticas para uso das instalações, advertindo os usuários sobre as consequências advindas da não observância das regras e, também, informando as providências a serem tomadas no caso de uma liberação acidental de OGM potencialmente causador de impacto ambiental;

11.4.8.1.6. animais utilizados em experimentos que se referem ao caput deste artigo devem ser contidos para impedir seu escape, de modo que seus resíduos sejam tratados ou descontaminados e descartados em local apropriado, de acordo com a legislação específica;

11.4.8.1.7. vegetais, sementes ou tecidos vivos só podem ser retirados da casa de vegetação com finalidade para pesquisa em instalações em regime de contenção ou armazenamento. Restos culturais e material não propagativo provenientes dos experimentos em contenção poderão ser descartados na vala da Área de Descarte de OGM ou podem ser incorporados ou depositados em áreas experimentais com CQB ou, quando possível, autoclavados;

11.4.8.1.8. a utilização de instalações que têm como objetivo a rustificação de vegetais geneticamente modificados, antes de sua maturidade sexual, somente poderá ser empregada caso possuam as seguintes características:

- a) área cercada por mureta de altura mínima de 0,3 m e tela de segurança alambrado com altura mínima de 1,5 m;
- b) controle e registro de acesso, sendo que as instalações devem ser mantidas trancadas quando não houver pessoas trabalhando no interior;
- c) podem possuir uma cobertura de tela tipo sombrite, ou similar, que seja fixa ou móvel, e que permita sua abertura e fechamento para controlar a luz solar incidente;
- d) pode ser instalado sistema de irrigação. O solo deve ser recoberto com pedrisco, outro material poroso, ou concreto;
- e) deve haver bancadas para acomodar bandejas, vasos ou sacos plásticos contendo as mudas a serem rustificadas, de forma que as mudas não entrem em contato com o solo;
- f) deve ser instalado sistema de controle de insetos e roedores na área e mantido registro para controle do fluxo de plantas;
- g) como medida de biossegurança adicional, pode ser colocada uma cerca viva ao redor de toda a área, protegendo-a de intempéries e do ataque de pragas.

11.4.9.2. Art. 19 As atividades e projetos em contenção envolvendo vegetais geneticamente modificados da Classe de Risco 2 deverão atender às normas de biossegurança exigidas para o NB-2 e as especificações descritas no **item 11.4.8.1.** desta Diretriz de Biossegurança, observando-se ainda que:

- a) a casa de vegetação deve ser construída com material transparente rígido contendo uma antecâmara;
- b) piso de concreto ou material impermeável;
- c) sistema de drenagem de líquidos que possa incluir uma caixa de contenção para descontaminação e inativação quando se tratar de trabalho com microrganismos geneticamente modificados;
- d) sinalização com símbolo universal de risco biológico, indicando a presença de organismos geneticamente modificados e a classificação de risco;
- e) recipientes fechados e inquebráveis para introdução ou retirada de organismos da casa de vegetação;
- f) câmara de crescimento ou sala de crescimento dentro de uma edificação que satisfaça as especificações NB-2;
- g) vestimentas e equipamentos de proteção individual apropriados aos experimentos conduzidos, preferencialmente descartáveis. Estas vestimentas e equipamentos devem ser

retirados antes da saída das instalações e devem ser descontaminados antes de serem descartados ou lavados.

11.4.9.3. Art. 20 As atividades e projetos em contenção envolvendo vegetais geneticamente modificados da Classe de Risco 3 deverão atender às normas de biossegurança exigidas para o NB-3 e as especificações dos itens **14.4.8.1. e 14.4.8.2.** desta Diretriz de Biossegurança, observando-se ainda que:

11.4.9.4. a casa de vegetação deve ser cercada, podendo ser protegida por medidas adicionais de segurança, além de:

- a) estar separada de outras áreas de trânsito livre;
- b) possuir estrutura fechada, com cobertura contínua e com entrada protegida por dois conjuntos de portas com fechamento automático e intertravamento;
- c) possuir paredes internas e o piso impermeáveis e resistentes à corrosão;
- d) possuir uma cabine com duas portas para troca de vestimentas;
- e) todos os procedimentos descritos nas alíneas anteriores devem minimizar a geração de excesso de efluentes durante a irrigação, transplante ou qualquer outra manipulação;

11.4.9.5. materiais experimentais viáveis, que forem introduzidos ou retirados da casa de vegetação, devem ser transportados em um segundo recipiente fechado e inquebrável;

11.4.9.6. se houver a possibilidade da presença de estruturas propagativas na superfície do segundo recipiente, este terá que ser descontaminado.

11.4.9.7. Art. 21 Normas específicas para atividades e projetos com vegetais geneticamente modificados da Classe de Risco 4 serão editadas pela CTNBio, quando necessário.

11.4.9. Das Instalações Físicas e Procedimentos em Contenção para Atividades e Projetos com Animais Vertebrados ou Invertebrados Geneticamente Modificados

11.4.9.1. Art. 22 As instalações de contenção para atividades e projetos com animais geneticamente modificados incluem biotério, insetário, tanque de aquicultura, curral, aviário, infectório, e todo e qualquer ambiente destinado à criação ou experimentação;

11.4.9.2. § 1º As atividades e projetos envolvendo animais vertebrados ou invertebrados geneticamente modificados, em que outros OGM ou não OGM estão envolvidos, deverão atender às normas de biossegurança exigidas para o organismo de Classe de Risco mais alta;

11.4.9.3. § 2º Vertebrados geneticamente modificados deverão ser classificados quanto a sua Classe de Risco segundo os **itens 10.3.1. e 10.4.** desta Diretriz de biossegurança;

11.4.9.4. § 3º Atividades em contenção envolvendo invertebrados geneticamente modificados que sejam vetores biológicos de agentes causadores de agravos à saúde do homem, dos animais, dos vegetais ou ao meio ambiente devem atender às normas de biossegurança exigidas para NB-2;

11.4.9.5. Art. 23 As atividades e projetos em contenção, envolvendo animais vertebrados ou invertebrados geneticamente modificados da Classe de Risco 1, deverão atender às normas de biossegurança exigidas para o NB-1 observando-se ainda que:

- a) as instalações para manutenção e manipulação dos animais geneticamente modificados devem estar fisicamente separadas do resto do laboratório e ter acesso controlado;
- b) a entrada das instalações deve ser mantida trancada, sendo o acesso restrito às pessoas credenciadas pela CIBio da instituição;
- c) a construção das instalações deverá levar em conta o tipo de animal geneticamente modificado a ser mantido e manipulado, mas sempre se tomando os cuidados necessários para impedir o escape;
- d) todas as áreas que permitam ventilação (inclusive entrada e saída de ar condicionado) deverão conter barreiras físicas para impedir a passagem de insetos e outros animais;
- e) ralos ou outros dispositivos similares, se existentes, deverão ter barreiras para evitar a possibilidade de escape ou entrada de material contaminado;
- f) animais de diferentes espécies e não envolvidos no mesmo experimento deverão estar alojados em áreas físicas separadas;
- g) recomenda-se a instalação de cortinas de ar, com fluxo de cima para baixo, nas portas de acesso aos insetários;
- h) tanques de aquicultura devem ter a renovação de água em sistema separado, sendo toda a água de descarte passada por tanque de esgotamento com desinfecção, antes de ser lançada na rede pluvial;
- i) currais para inspeção e colheita de amostras deverão conter infra-estrutura adequada ao manejo dos animais, assim como piquetes com cerca dupla, para evitar o trânsito entre áreas, pedelúvio e, quando possível, sistema de drenagem passando por tanque de desinfecção;
- j) recomenda-se que a entrada de serragem, ração ou qualquer outro alimento ou material a ser utilizado com os animais ocorra após autoclavagem ou irradiação;

- k) todo material contaminado deverá ser apropriadamente acondicionado para desinfecção ou inativação, que poderá ocorrer fora das instalações;
- l) devem ser estabelecidas normas de procedimentos amplamente divulgadas às pessoas com acesso autorizado;
- m) cópias das normas de procedimentos, inclusive daqueles referentes a situações de emergência, devem ser mantidas no interior das instalações;
- n) no caso de manutenção de um banco de embriões geneticamente modificados criopreservados, este deve localizar-se nas instalações credenciadas pela CTNBio.

11.4.9.6. Art. 24 As atividades e projetos em contenção envolvendo animais geneticamente modificados da Classe de Risco 2 deverão atender às normas de biossegurança exigidas para o NB-2 e as especificações do **item 11.4.9.5.** desta Diretriz de Biossegurança, observando-se ainda que:

- a) é necessário que haja uma ante-sala entre a área de livre circulação e a área onde os animais estão alojados;
- b) a ante-sala deve estar separada por sistema de dupla porta com intertravamento;
- c) todas as entradas e saídas de ventilação devem possuir barreiras físicas que bloqueiem a passagem de insetos e outros animais entre as salas e a área externa;
- d) as janelas devem ter vidros fixos e hermeticamente fechados e, quando necessário, ser duplas;
- e) as instalações devem ter luzes de emergência e serem ligadas a geradores, se possível;
- f) é necessária a troca de vestimenta antes da passagem da ante-sala para a sala de animais. Se possível, deve ser utilizada vestimenta descartável no interior da sala de animais;
- g) as vestimentas devem, após rigorosa inspeção para verificar a presença de insetos, ser acondicionadas em recipiente próprio fechado e autoclavado;
- h) serragem, ração ou qualquer outro alimento ou material a ser utilizado com os animais devem ser submetidos a autoclavagem ou irradiação;
- i) a saída do material deve ser efetuada através de câmaras de passagem de dupla porta para esterilização ou inativação. Quando a esterilização de material, ou animais eutanasiados não ocorrer na própria instalação, a saída desse material para as áreas de esterilização ou inativação deverá ser efetuada em recipientes rígidos e a prova de vazamentos;

- j) em biotérios, a água a ser ingerida pelos animais deve ser filtrada, acidificada ou autoclavada;
- k) em biotérios, o fluxo de ar deve sofrer cerca de 20 renovações por hora;
- l) recomenda-se que haja controle sanitário, parasitológico, microbiológico, de micoplasmas e virológico dos animais;
- m) controle genético dos animais deve ser realizado, se possível, a cada nova geração;
- n) infectórios com animais geneticamente modificados devem localizar-se em áreas especialmente isoladas e devidamente credenciadas pela CTNBio.

11.4.9.7. Art. 25 As atividades e projetos em contenção envolvendo animais geneticamente modificados da Classe de Risco 3 deverão atender às normas de biossegurança exigidas para o NB-3 e as especificações dos **itens 11.4.9.5. e 11.4.9.6.** desta Diretriz de Biossegurança, observando-se ainda que:

- a) as instalações deverão conter, no mínimo, as seguintes áreas distintas: Ante-Sala, Sala de Materiais, Sala para Animais e Sala de Experimentação;
- b) a ante-sala deverá possuir três divisões. Na primeira divisão, deverá haver armários individuais para o usuário guardar as roupas. Na divisão central, deverá haver chuveiros acionados por sistema independente do uso das mãos. Na terceira divisão, deverá haver armários fechados para guardar roupas esterilizadas a serem utilizadas pelos usuários e sacos para acondicionar a roupa já utilizada nas instalações, que deverá ser autoclavada antes de ser descartada;
- c) o ar insuflado deve ser esterilizado. A saída de ar também deve conter filtros esterilizantes para purificação do ar antes de ser lançado para o meio externo;
- d) as salas dos animais e de experimentação devem, necessariamente, conter pressão de ar negativa em relação às demais salas;
- e) as instalações devem possuir sistema de controle automático para detectar alterações na pressão atmosférica e capaz de acionar alarme;
- f) os animais devem estar alojados, quando pertinente, em sistema de microisoladores ou em sistemas equivalentes;
- g) quando houver torneiras, estas devem permitir acionamento sem o uso das mãos;
- h) todo material a ser descartado deverá ser previamente descontaminado dentro das instalações. Isto deverá ocorrer pelo uso de autoclave de dupla porta;

i) os animais mortos e os dejetos deverão ser incinerados.

11.4.9.8. Art. 26 Normas específicas para atividades e projetos com animais geneticamente modificados da Classe de Risco 2, 3 e 4 ou não inclusos nesta Resolução Normativa serão editadas pela CTNBio, quando necessário.

12. MATERIAIS CONTENDO MOLÉCULAS DE DNA RECOMBINANTES

Essa categoria de agentes inclui os micro-organismos que foram geneticamente modificados por tecnologias do DNA recombinante. Essas tecnologias continuam a ser desenvolvidas rapidamente. Os projetos experimentais designados para extrair novos vírus, bactérias, levedo e outros micro-organismos 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* chamada *Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules* 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 aumento 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 se estabelecer a classificação dos 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 95 Seção v avaliação dos riscos ao selecionar um nível de biossegurança adequado para o trabalho com um vírus recombinante. Dentre os pontos a serem considerados no trabalho com os micro-organismos 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 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 julgar se um nível de biossegurança maior é necessário para o trabalho com micro-organismos 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 constituído e informado, como enfatizado pelos estatutos do NIH, para verificar a avaliação do risco. (O texto retirado do: Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 3. ed. em português rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 290 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos). ISBN 85-334-0777-7. Tradução do inglês: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. ISBN 017-040-00547-4.).

13. 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 infecciosos 1. Os três tipos gerais de cabines (classes I, II e III) possuem características e aplicações que serão descritas neste apêndice.

As CSB de classes 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 micro-organismos de risco moderado ou alto (agentes dos níveis 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 proporciona níveis de contenção comparáveis à 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 com 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.

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

A cabine 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 outros equipamentos. Essas cabines não são apropriadas para a manipulação de materiais de pesquisa que sejam vulneráveis à 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 aumentarão a velocidade do fluxo interno para aproximadamente 150 lfpm. Se essas cabines equipadas estiverem ligadas por dutos externos de exaustão, elas poderão ser usadas para materiais tóxicos ou com baixos níveis radioativos usados como auxiliares da pesquisa microbiológica. Além disso, as luvas de braços longos de borracha podem ser anexadas ao painel frontal com um dispositivo de liberação da pressão do ar para proteção adicional. Nessa configuração, é necessário instalar uma entrada de ar adaptada e ajustada com um filtro HEPA na cabine.

13.2. Classe II

A cabine de segurança biológica de classe II (fig. 2) é projetada com um fluxo de ar interior com uma velocidade de 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, de exaustão, filtrado pelo sistema HEPA para proteção do meio ambiente. Os padrões do projeto, da construção e da atuação das cabines de classe II, assim como as listas de produtos que atendam a esses padrões, foram desenvolvidos pela National Sanitation Foundation International 2, em Ann Arbor, Michigan. A utilização do padrão e da 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) baseados na construção, nas velocidades e nos 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 subdivididas em tipos B1, B2 e B3. Uma comparação entre as características do projeto e as aplicações está representada nas figuras 2b, 2c e 2d, respectivamente. As cabines do tipo B possuem dutos rígidos conectados ao sistema de exaustão do prédio e contêm 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 de 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. Causam a liberação de partículas aerolizadas de dentro da cabine fatores como a inserção e a retirada repetida dos braços dos trabalhadores para dentro e para fora das cabines, a abertura e o 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 à CSB enquanto esta estiver sendo utilizada. As cabines de classes I e II deverão estar localizadas longe do fluxo de pessoas e das portas. O fluxo de ar gerado por ventiladores, a ventilação proveniente de venezianas metálicas em portas ou paredes e outros dispositivos para movimentação do ar podem interromper o padrão de fluxo de ar na frente da cabine. A obediência severa a essas 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 deste.

13.3. Classe III

A cabine de segurança biológica de classe III (fig. 3) é uma cabine totalmente fechada e ventilada, à prova de escape de ar, que 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 de trabalho da cabine deverão ser realizadas por meio 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 por meio 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, permitindo que os estoques entrem na cabine. Várias cabines de classe II são, portanto, tipicamente instaladas como um sistema interconectado.

13.4. Macacão individual de pressão positiva

A proteção individual equivalente à fornecida por cabines de classe III também pode ser obtida pelo 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 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 da vestimenta. Nesse 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 nessa 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 série. 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 usadas em instalações clínicas, farmacêuticas e laboratoriais estritamente para garantir a proteção do produto. Esse 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 usadas quando o trabalho com materiais infecciosos estiver sendo conduzido.

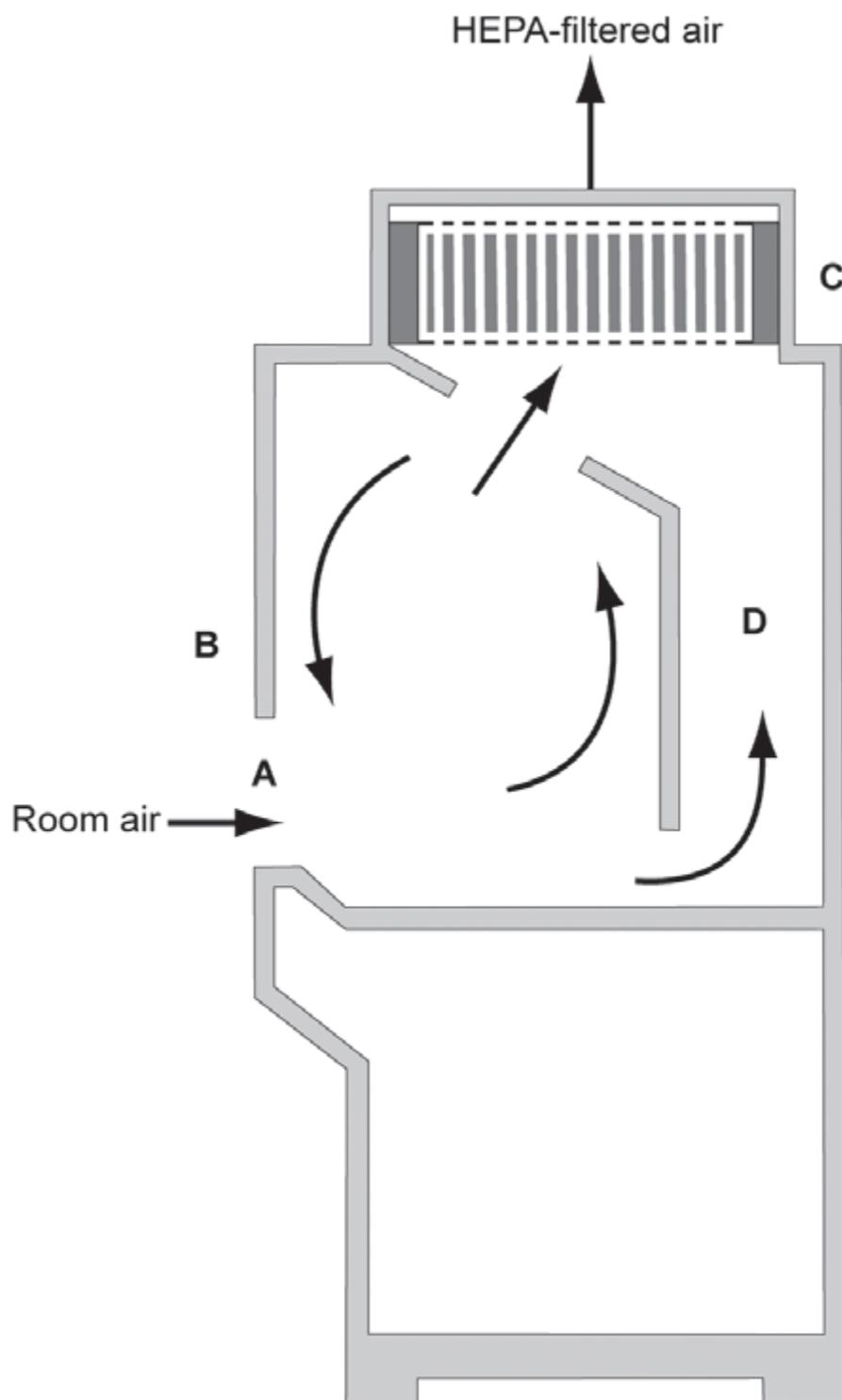


Figura 1. Cabine de segurança biológica classe I. (A) Abertura frontal. (B) Vidraça corredeira. (C) Filtro HEPA para exaustão. (D) Espaço de exaustão.

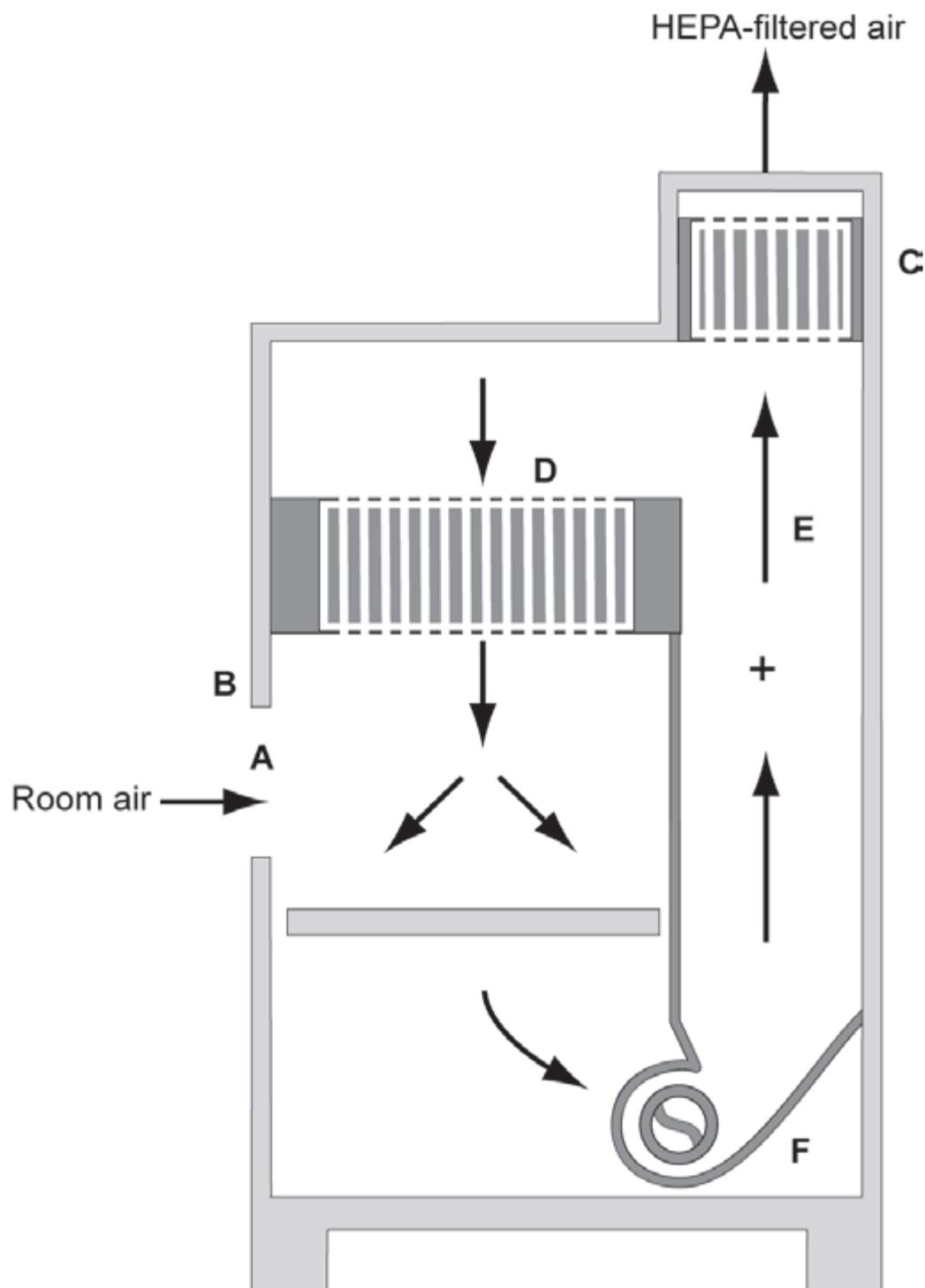


Figura 2a. Cabine de segurança biológica classe II, tipo A. (A) Abertura frontal. (B) Vidraça corredeira. (C) Filtro HEPA para exaustão. (D) Filtro HEPA para suprimento de ar. (E) Espaço posterior. (F) Ventilador.

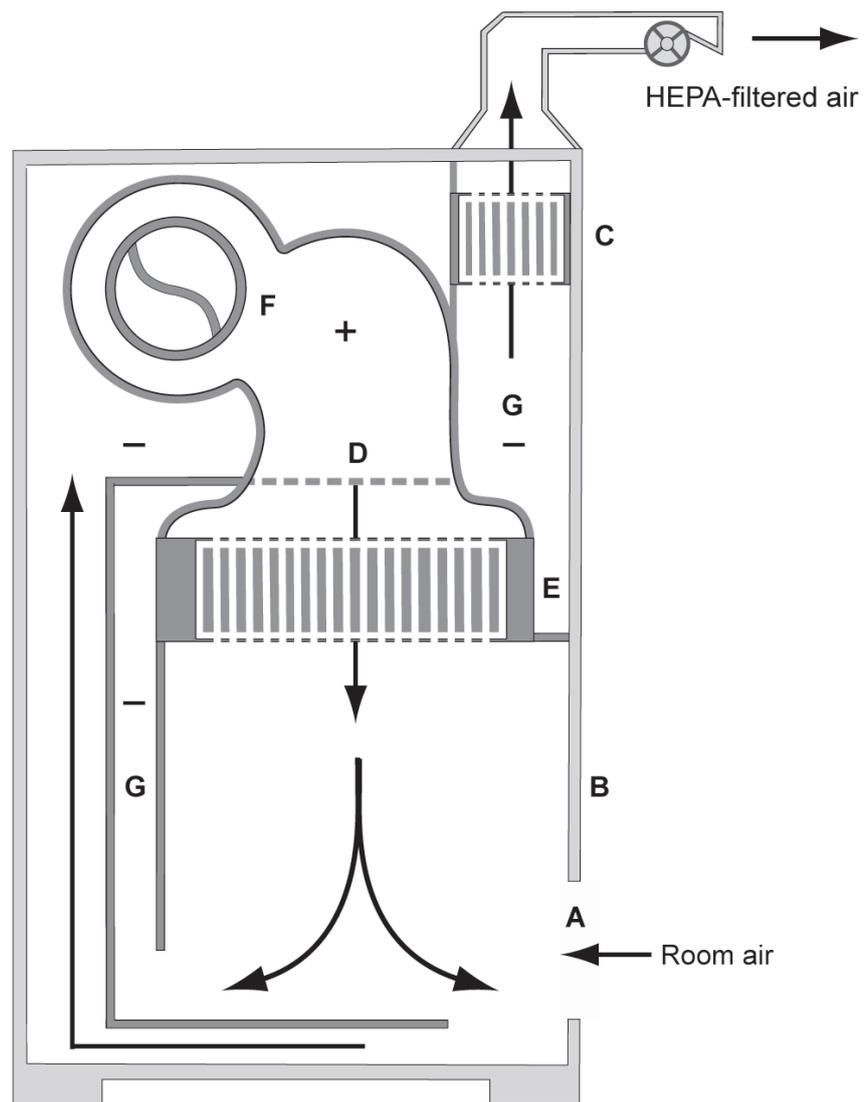


Figura 2b. Cabine de segurança biológica classe II, tipo B1 (desenho clássico). (A) Abertura frontal. (B) Vidraça corrediça. (C) Filtro HEPA para exaustão. (D) Filtro HEPA para suprimento de ar. (E) Espaço de exaustão com pressão negativa. (F) Ventilador. (G) Filtro HEPA adicional para suprimento de ar. Observação: o exaustor da cabine necessita ser conectado ao sistema de exaustores do edifício.

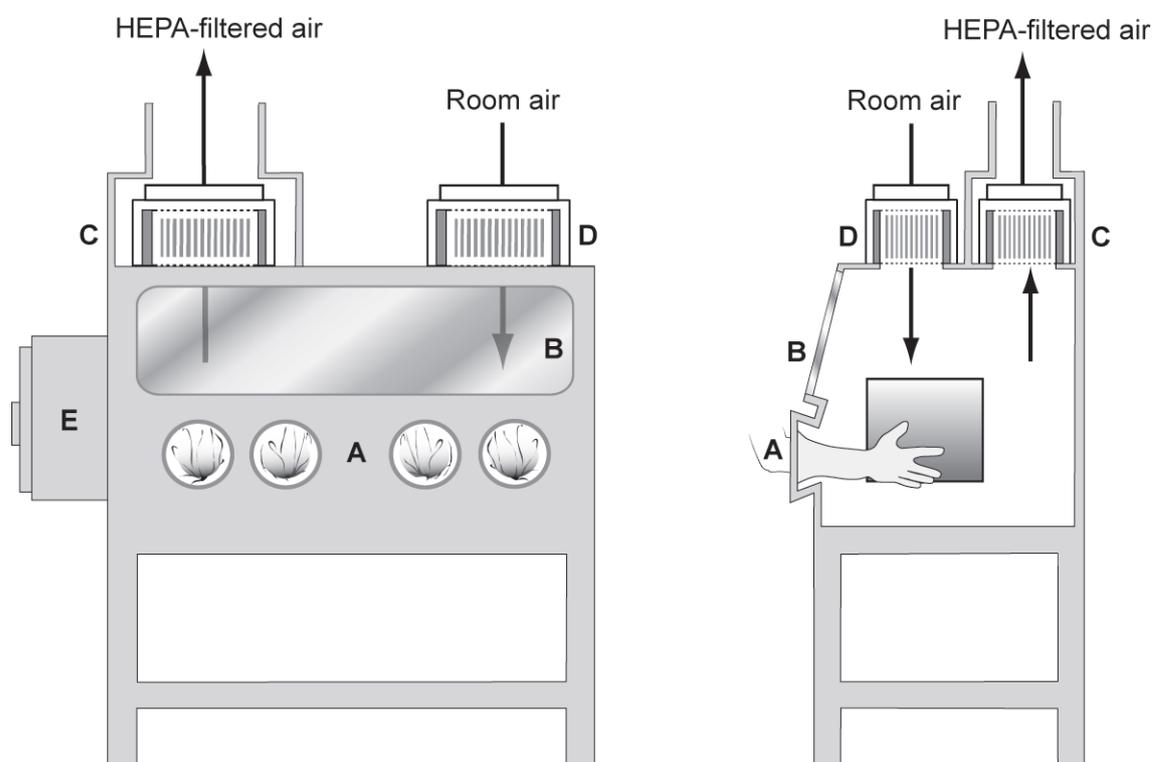


Figura 3. Cabine de segurança biológica classe III. (A) Compartimento para fixação de luvas longas de borracha à cabine. (B) Vidraça corredeira. (C) Filtro HEPA para exaustão. (D) Filtro HEPA para o suprimento de ar. (E) Autoclave dupla saída na extremidade ou caixa de passagem da cabine. Observação: 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 conectado a um sistema de exaustores independente. (Texto retirado do: Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 3. ed. em português rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 290 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) ISBN 85-334-0777-7. Tradução do inglês: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. ISBN 017-040-00547-4. As figuras foram retiradas da versão em inglês).

14. IMUNOPROFILAXIA

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

As vacinas licenciadas cujos benefícios (níveis de anticorpos considerados como protetores) excedam os riscos (por exemplo, as reações locais ou sistêmicas) deverão ser requisitadas para todas as pessoas claramente identificadas. Exemplos dessas preparações incluem as vacinas anti-rábicas e contra hepatite B, febre amarela e 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 em requisitos ou recomendações ocupacionais deverá ser mantido em cada ficha médica do trabalhador.

As recomendações para o uso de vacinas 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 a seguir (Estados Unidos, 1994; Estados Unidos, 1997). 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 as recomendações para a administração de vacinas podem ser diferentes das recomendações indicadas para um adulto imunologicamente competente. (Texto retirado do: Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de

Vigilância Epidemiológica. – 3. ed. em português rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 290 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) ISBN 85-334-0777-7. Tradução do inglês: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. ISBN 017-040-00547-4).

15. 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 fluidos corpóreos, tecidos, amostras de solo, 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 desses materiais deverão estar sujeitos a controle normativo.

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

15.1. 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 contra a exposição a qualquer agente que possa estar presente na embalagem. A proteção é obtida por meio 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 conteúdos perigosos, de forma que sejam capazes de responder às situações de emergência.

Regulamentos Serviço Público de Saúde. 42 CFR Parte 72. Transporte Interestadual de Agentes Etiológicos. Este regulamento está sendo revisado para se harmonizar com outros regulamentos internacionais e dos E.U.A. Uma cópia do regulamento atual poderá ser conseguida pela internet: <<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 às amostras clínicas. Maiores informações poderão ser obtidas pela internet: <<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 no Setor de Publicação do Governo pelo telefone 1-202-512-1800 ou pela 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 de acondicionamento e rotulagem para o transporte de sangue e de fluidos corpóreos dentro e fora do laboratório. Maiores informações poderão ser adquiridas no escritório local da OSHA ou pela internet: <<http://osha.gov>>.

Regulamentos sobre Produtos Perigosos (DGR). Associação Internacional de Transporte Aéreo (IATA). Esses regulamentos fornecem os requisitos para o acondicionamento e a rotulagem de substâncias e materiais infecciosos e de amostras clínicas que possuam uma baixa probabilidade de conter substâncias infecciosas. Esses são os regulamentos seguidos pelas empresas aéreas. Eles se baseiam nos regulamentos do Comitê de Peritos em Transporte de Produtos Perigosos e do Secretariado das Nações Unidas e nas 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 pelo telefone 1-800-716-6326 ou pela internet: <<http://www.iata.org>> ou <<http://who.org>>.

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

A figura 4 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 contêm. Essa embalagem requer a colocação de um rótulo externo, com os dizeres “Substância Infecciosa”, como mostrado na figura 4. A 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”.

15.3. Transferência

Os regulamentos para a transferência de agentes biológicos objetivam assegurar que a mudança de posse dos materiais biológicos esteja dentro dos interesses do público e da nação. Esses regulamentos exigem a documentação dos trabalhadores, instalações e justificativa da necessidade de transferência do agente e subsequente aprovação desse 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. Esse 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 pelo telefone 1-888-CDCFAXX e dando entrada no documento número 101000 ou pela internet: <<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. Esses regulamentos exigem que uma licença de importação obtida no Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), no Serviço de Inspeção de Saúde de Plantas e Animais (APHIS) e nos serviços veterinários para importação ou transferência doméstica de agentes etiológicos de criações, aves, outros animais e qualquer outro material que possa conter esses agentes etiológicos. Maiores informações poderão ser obtidas pelo telefone (301) 734-3277 ou pela internet: <<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. Esse regulamento exige uma licença para a importação ou a transferência doméstica de pestes botânicas, agentes biológicos de plantas ou de qualquer material que possa contê-los. Maiores informações poderão ser obtidas pelo telefone 301-734-3277 ou pela internet: <<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 registradas junto ao CDC. Cada transferência de um agente seleccionado deverá ser documentada. Maiores informações poderão ser conseguidas pela internet: <<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 799. Esses 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 pelo telefone do DOC Bureau of Export Administration: 202- 482-4811 ou pela internet: <<http://www.bxa.fedworld.gov>> ou <<http://www.bxa.doc.gov>>.

As figuras 4 e 5 ilustram o acondicionamento e a rotulação de substâncias e amostras clínicas infecciosas em volumes de menos de 50 ml, de acordo com as provisões do subparágrafo 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. Atlanta, GA 30.333 Telephone: (404) 639-4418 FAX: (404) 639-2294. Observe que o nome, o endereço e o número de telefone do remetente deverão ser colocados nos lados externo e interno dos containers. Recomendamos ao leitor consultar

outras cláusulas adicionais do Department of Transportation (49 CFR, Partes 171- 180) Hazardous Materials Regulations.

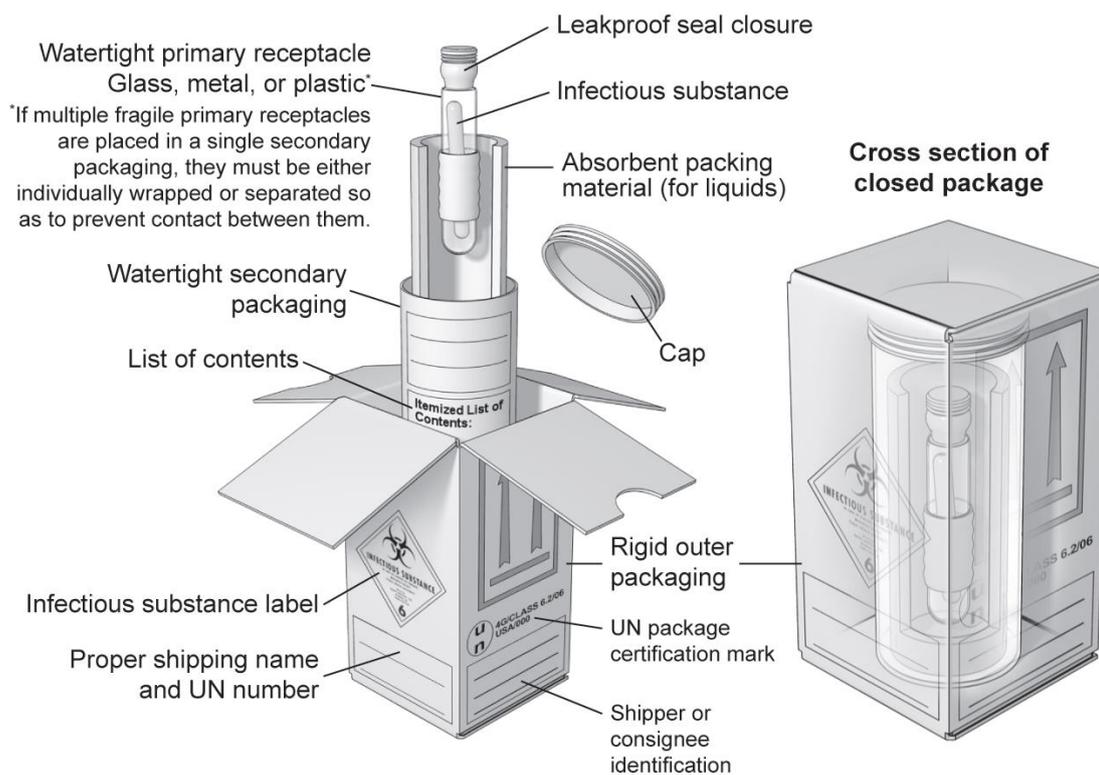


Figura 4. Embalagem e rotulagem de substâncias infecciosas.

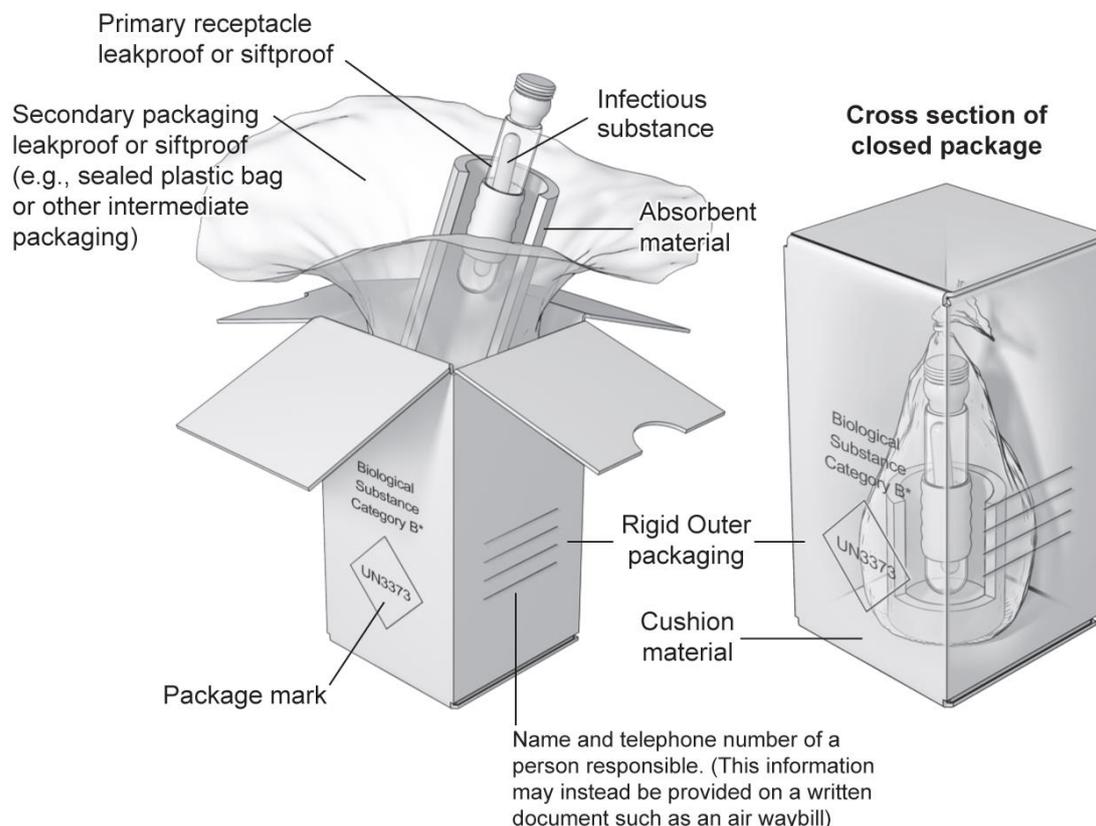


Figura 5. Embalagem e rotulagem de amostras clínicas. (Texto retirado do: Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 3. ed. em português rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 290 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) ISBN 85-334-0777-7. Tradução do inglês: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. ISBN 017-040-00547-4. As figuras foram retiradas da versão em inglês).

16. EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO

Considera-se Equipamento de Proteção Individual (EPI) todo dispositivo ou produto, de uso individual utilizado pelo trabalhador, destinado à proteção de riscos suscetíveis de ameaçar a segurança e a saúde no trabalho (NR 6 MTE). É regulamentado pela Portaria 485, de 11 de novembro de 2005, que aprova a NR 32 (Segurança e Saúde no Trabalho em

Estabelecimentos de Saúde) do Ministério do Trabalho, competindo ao profissional usá-los e conservá-los.

16.1. Equipamento de Proteção Individual (EPI)

16.1.1. Avental: uso para todos que trabalham em ambiente laboratorial, confeccionado em algodão, com manga longa e punho sanfonado, na altura dos joelhos e usado abotoado. Não usar fora da área de trabalho, nem guardar junto com objetos pessoais. Para laboratórios NB-3, recomenda-se que o abotoamento do avental seja nas costas. Há necessidade de descontaminação antes da lavagem. Apesar do avental de algodão não ser considerado EPI por não ter nº de CA, seu uso deve ser obrigatório;

16.1.2. Avental Impermeável: evita a contaminação do vestuário;

16.1.3. Luvas: uso para todos que trabalham em ambiente laboratorial, na manipulação de amostras biológicas, preparo de reagentes, lavagem de materiais, atendimento ao paciente. Descartar sempre que estiverem contaminadas ou quando sua integridade estiver comprometida;

16.1.4. Nitrilica: usadas em trabalhos gerais, preparo de soluções, lavagem de materiais;

16.1.5. De latex ou silicone descartável: usadas em procedimentos que necessitem de proteção contra material biológico. Devem ser desprezadas após uso;

16.1.6. Kevlar: usadas para trabalhar em baixas ou altas temperaturas (autoclaves e estufas e freezer a – 80°);

16.1.7. Máscaras e Respiradores: proteção de boca e nariz contra respingos e inalação de partículas em aerossol e substâncias químicas voláteis e tóxicas;

16.1.8. Máscara N-95: composta de 4 camadas de fibras sintéticas impermeáveis a fluídos, com densidade e porosidade capazes de atuar como barreira a micro-organismos transportado pelo ar (aerossóis) com eficiência de filtração maior ou igual a 95%/ partículas de 0,3 µm;

16.1.9. Respirador PFF2 + VO: usado quando da manipulação de reagentes químicos voláteis;

16.1.10. Óculos de Proteção: destinado à proteção dos olhos contra respingos de material biológico, substâncias químicas e partículas;

16.1.11. Protetor Facial: destinado à proteção da face contra respingos de material biológico, substâncias químicas e partículas. Deve ser leve, resistente, com visor em acrílico;

16.1.12. Sapatos: devem ser fechados, evitando-se assim impactos e respingos.

16.2. Equipamento de Proteção Coletiva (EPC)

16.2.1. Cabine de Segurança Biológica: é o principal equipamento de contenção física para agentes infecciosos. Protegem o material e o profissional, na manipulação de materiais biológicos altamente infectantes, substâncias tóxicas e cultura de células. Cumprir os prazos de revisão e troca de filtros. As cabines devem estar em local de pouco trânsito e distantes de portas. Existem três tipos de cabine de segurança biológica (Classes I, II e III);

16.2.2. Classe I: é uma cabine em que o fluxo de ar ocorre de fora para dentro, pela abertura frontal, sem recirculação do ar. O ar da cabine passa por um filtro HEPA antes de ser liberado para o interior do laboratório. Essas cabines protegem o operador, mas não o material que está sendo manipulado e podem ser usadas quando se está trabalhando com micro-organismos de baixo ou moderado risco. 14 Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa);

16.2.3. Classe II: é uma cabine com abertura frontal na qual uma parte do ar é recirculado. Esse tipo de cabine protege o operador, o material a ser manipulado e o meio ambiente. Existem dois tipos de cabine classe II:

a) Classe II A: 30% de ar ambiente entra pela abertura frontal, 70% é recirculado para o interior da cabine passando por um filtro HEPA e 30% é exaurido para dentro ou fora do laboratório passando por filtro HEPA. Usadas na ausência de substâncias químicas voláteis, radioativas ou tóxicas;

b) Classe II B: 70% de ar ambiente entra pela abertura frontal, 30% é recirculado para o interior da cabine passando por um filtro HEPA e 70% é exaurido para fora do laboratório através de outro filtro HEPA, por um sistema de exaustão. São indicadas para manipulação de cultura de micobactérias e com algumas substâncias tóxicas, voláteis e/ou radioativas;

16.2.4. Classe III: é uma cabine hermeticamente fechada, impermeável a gases, e todo o trabalho é realizado com luvas de borracha que estão presas à câmara. O ar que entra passa por um filtro HEPA e o ar que sai pelo exaustor passa por dois filtros HEPA dispostos sequencialmente. Todos os equipamentos necessários (centrífuga, incubadora etc.) devem estar dentro da cabine. É indicada para o trabalho com micro-organismos de alto poder infectante. Oferece o mais alto grau de proteção ao operador e ao meio ambiente.

16.2.5. Lava-olhos: usado quando ocorrem acidentes onde haja contato de material biológico ou substância química, com os olhos e/ou a face. Os profissionais devem estar treinados quanto ao seu uso e as orientações localizadas próximas ao equipamento. Manter o acesso facilitado;

16.2.6. Chuveiro de Segurança: usados quando ocorrem acidentes com derramamento de grande quantidade de material biológico ou substância química sobre as roupas e pele do profissional, ou quando as roupas estiverem em chamas. Os profissionais devem ser treinados quanto ao seu uso e as orientações localizadas próximas ao equipamento. Manter o acesso facilitado;

16.2.7. Proteção de Linha de Vácuo: evita contaminação do sistema de vácuo com aerossóis e fluidos derramados;

16.2.8. Autoclave: esterilização por calor eficaz, tornando material infeccioso seguro para ser eliminado ou reutilizado;

16.2.9. Garrafas com Tampa de Rosca: produz confinamento eficaz contra aerossóis e derrames;

16.2.10. Microincineradores de alça: à gás ou eletricidade têm escudo de vidro ou cerâmica que minimizam salpicos ou borrifos quando se esterilizam as alças;

16.3. Conduta em laboratório

O chefe do laboratório é responsável por assegurar a implementação das Normas de Biossegurança e as Condutas em Laboratório.

16.3.1. Programa de Prevenção de Risco Ambiental (PPRA) avaliado anualmente (NR-32 Ministério do Trabalho).

16.3.2. Exame pré-admissional e periódico (Clínico e Laboratorial);

16.3.3. Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (PCMSO) anual;

16.3.4. Programa de Vacinação atualizado;

16.3.5. Registro de doenças e acidentes de trabalho;

16.3.6. BPLCs (Boas Práticas em Laboratório Clínico) implantadas e seguidas;

16.3.7. Acesso limitado ao laboratório.

16.4. BPLCs

16.4.1. Proibido comer, beber, fumar, guardar alimentos e aplicar cosméticos na área técnica;

16.4.2. Prender os cabelos e evitar o uso de bijuterias;

16.4.3. É vedado o uso de calçados abertos (chinelos e sandálias);

16.4.4. Toda amostra biológica deve ser considerada potencialmente contaminada;

16.4.5. Obrigatório o uso de EPIs;

16.4.6. Proibido pipetar com a boca;

16.4.7. Obrigatória a descontaminação das bancadas de trabalho antes e após o desenvolvimento das atividades;

16.4.8. Proibido reencapar e entortar agulhas após o uso;

16.4.9. Nunca manipular materiais não identificados;

16.4.10. Segregar e acondicionar adequadamente resíduos biológicos, químicos e ionizantes;

16.4.11. Depositar todo material contaminado em recipientes apropriados para autoclavação;

16.4.12. Higienizar sempre as mãos.

16.5. Transporte de Amostras

16.5.1. Utilizar caixas rígidas preferencialmente providas de tampas higienizáveis, contendo estantes que permitam que os frascos permaneçam na posição vertical, evitando acidente por derramamento. Devem ser resistentes a desinfetante químico ou calor. Devem ser lavadas frequentemente e sempre que ocorrer derramamento.

16.6. Utilização de Cabines de Segurança

16.6.1. Ligar a cabine e a luz 10 a 15 minutos antes do uso;

16.6.2. Fechar as portas do laboratório e evitar circulação de pessoas durante o uso da cabine;

16.6.3. Colocar os equipamentos, meios de cultura, vidrarias etc. no plano de atividade da área de trabalho;

16.6.4. Limpar todos os objetos antes de introduzi-los na cabine e organizar os materiais de modo que não se misturem os itens limpos e contaminados;

16.6.5. Bicos de Bunsen não devem ser utilizados dentro da cabine, pois o calor pode acarretar danos ao filtro HEPA e interromper o fluxo laminar de ar, causando turbulência;

16.6.6. Usar pipetador automático;

16.6.7. Conduzir as manipulações no centro da cabine;

16.6.8. Minimizar os movimentos dentro da cabine;

16.6.9. Terminado o trabalho, a superfície de trabalho da cabine deve ser limpa com desinfetante apropriado;

16.6.10. Deixar a cabine ligada 10 a 15 minutos antes de desligá-la;

16.6.11. Fazer controle da contagem de tempo do uso das lâmpadas UV, e de utilização da cabine para fim de manutenção e troca do pré-filtro.

16.7. Controle da Geração de Aerossóis

A manipulação de micro-organismos, sangue, fluídos orgânicos, pó e substâncias químicas poderá levar à formação de aerossóis, podendo contribuir para ocorrência de enfermidades ocupacionais. Algumas operações contribuem para formação de aerossóis.

16.7.1. Uso de agitadores;

16.7.2. Remoção de tampas de borracha, de rosca ou de algodão de tubos de ensaio;

16.7.3. Flambagem de alças de maneira inadequada;

16.7.4. Inoculação de culturas com pipeta ou alça de forma inadequada;

16.7.5. Remoção de meio de cultura líquido com seringa e agulha;

16.7.6. Destampar frasco de cultivo ou suspensão de líquidos imediatamente após agitá-lo;

16.7.7. Romper células com ultrassom;

16.7.8. Soprar a última gota de cultivo ou substância química de uma pipeta;

16.7.9. Não vedar adequadamente frascos de substâncias tóxicas voláteis.

16.8. Limpeza e desinfecção

As superfícies contaminadas podem servir como reservatório de agentes patogênicos, mas normalmente não são associadas diretamente à transmissão de infecções para Profissionais da Área da Saúde ou pacientes. Mesmo diminuindo o impacto dessa transmissão através da higienização das mãos, a realização da limpeza e desinfecção das superfícies é fundamental para a redução da incidência de infecções.

Os fatores que influenciam na escolha do procedimento de desinfecção das superfícies são:

- a) natureza do item a ser desinfetado;
- b) número de micro-organismos presentes;
- c) resistência do micro-organismo aos efeitos do germicida;
- d) quantidade de matéria orgânica presente;
- e) tipo e concentração do germicida usado;
- f) duração e temperatura do contato com o germicida;
- g) as especificações e indicações de uso do produto pelo fabricante.

16.9. Higienização das mãos

Mãos contaminadas podem ser as principais vias de transmissão de infecção. O simples ato de lavar as mãos com água e sabão líquido, visando a remoção de bactérias transitórias e algumas residentes, como também células descamativas, pelos, suor, sujidades e oleosidade da pele, contribui para a diminuição do risco de infecção.

16.9.1. Abrir a torneira e molhar as mãos sem encostar-se à pia;

16.9.2. Ensaboar as mãos com sabão líquido. Friccionar as mãos por cerca de 30 segundos, realizando todos os movimentos a seguir:

- a) fricção circularmente palma com palma;
- b) fricção circularmente dorso com palma;
- c) lavar os espaços interdigitais deslizando uma mão sobre a outra;
- d) fricção as articulações de uma mão sobre a palma da outra;
- e) lave o polegar com auxílio da outra mão;
- f) fricção circularmente as unhas (pontas dos dedos) na palma da outra mão;
- g) friccionar os pulsos com a palma da mão.
- h) enxaguar as mãos retirando todo o resíduo de sabão;
- i) enxugar as mãos com papel toalha e fechar a torneira utilizando o mesmo papel (se a torneira não for com acionamento automático). Torneiras manuais devem ser mantidas abertas até o término da lavagem das mãos.

17. RESÍDUOS

O laboratório é responsável pelo correto gerenciamento de todos os resíduos gerados, atendendo as normas e exigências legais, desde o momento de sua geração até seu destino final.

Os Resíduos de Serviços de Saúde (RSS), segundo a RDC nº 306 de 2004 da Anvisa, são classificados em cinco grupos, a saber:

Grupo A: resíduos com a possível presença de agentes biológicos que, por suas características, podem apresentar risco de infecção.

Grupo B: resíduos contendo substâncias químicas que podem apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade.

Grupo C: quaisquer materiais resultantes de atividades que contenham radionuclídeos em quantidades superiores ao nível de isenção estabelecida pelas normas da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN).

Grupo D: resíduos que não apresentam risco biológico químico ou radiológico podendo ser equiparado a resíduo doméstico, passível de segregação para reciclagem. ,,

Grupo E: materiais perfurocortantes ou escarificantes.

Num laboratório de Microbiologia, todos os resíduos gerados como culturas e estoques de micro-organismo, meios de cultura e instrumentais utilizados para transferência, inoculação ou mistura de culturas, amostras biológicas, devem ser acondicionados de maneira compatível com o processo de tratamento a ser utilizado, que poderá ser um processo físico ou outro que venha a ser validado para obtenção de redução ou eliminação da carga microbiana.

Se o processo utilizado não promover a descaracterização física das estruturas, o mesmo deverá ser acondicionado em saco branco leitoso com simbologia de substância infectante conforme NBR 7500 da ABNT que será substituído sempre que atingirem 2/3 de sua capacidade ou pelo menos uma vez ao dia.

Havendo descaracterização física das estruturas, podem ser acondicionados como resíduos do Grupo D.

Materiais perfurocortantes devem ser descartados em recipientes rígidos, resistentes à punctura, ruptura e vazamento, devidamente identificados e autoclavados antes do descarte.

Os instrumentos de trabalho a serem reutilizados deverão ser colocados em recipientes preferencialmente plásticos contendo solução desinfetante e permanecer o tempo estabelecido pelo fabricante para posterior autoclavagem, lavagem e reutilização.

18. ACIDENTES

18.1. Acidente com derramamento de Material Biológico

18.1.1. Isolar a área atingida;

18.1.2. Impedir a manipulação no local por pelo menos 30 minutos;

18.1.3. Usar EPIs;

18.1.4. Colocar papel toalha sobre o material derramado e sobre o mesmo, solução de hipoclorito de sódio a 2%, ou cloro ativo, aguardar 15 minutos;

18.1.5. Recolher em recipiente com saco para resíduo infectante ou saco autoclavável as toalhas de papel, luvas e todo material usado na descontaminação;

18.1.6. Estilhaços de vidro ou plástico deverão ser recolhidos em caixa de perfurocortante;

18.1.7. Refazer a descontaminação da área com solução de hipoclorito de sódio a 2%;

18.1.8. Autoclavar todo material recolhido.

18.2. Quebra de tubos contendo Material Biológico em Centrífuga

18.2.1. Desligar a centrífuga e manter fechada por 30 minutos para dispersão de aerossóis;

18.2.2. Usar EPIs;

18.2.3. Retirar estilhaços com auxílio de pinça e descartar em caixa de perfurocortante;

18.2.4. Limpar caçapas, pinos e rotor com solução de hipoclorito de sódio a 2%;

18.2.5. Limpar internamente a centrífuga com gaze embebida com solução de hipoclorito de sódio a 2% e após com pano embebido em água e sabão;

18.2.6. Descartar todo o material usado na descontaminação em recipiente com saco para resíduo infectante;

18.2.7. Autoclavar todo material recolhido.

18.3. Acidente com derramamento de Produtos Químicos

18.3.1. Utilizar EPIs;

18.3.2. Conter o líquido derramado em área reduzida;

18.3.3. Cobrir o resíduo com vermiculina ou areia e aguardar sua absorção;

18.3.4. Recolher todo o resíduo e o material utilizado para limpar a área em saco plástico preto para posterior descarte. (texto retirado do: Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 1: Biossegurança e Manutenção de Equipamentos em Laboratório de Microbiologia Clínica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Anvisa, 2013. 44p.: il.9 volumes).

19. GERENCIAMENTO INTEGRADO DE ROEDORES

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, comprometendo 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 necessários como medidas corretivas, 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, pela aerolização e volatilização do pesticida.

Para controlar os roedores e os insetos e 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 insetos. Esse método de controle é frequentemente chamado de gerenciamento integrado de roedores e de insetos (GIRI). O objetivo primário de um programa GIRI é prevenir os problemas causados pelos roedores e insetos por meio 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 com estratégias de intervenções administrativas e operacionais retroativas para corrigirem condições que propiciem o surgimento de roedores e insetos.

O GIRI é um serviço baseado em estratégias. A decisão de implementar um programa GIRI deverá se basear não somente no custo, mas também na eficácia dos componentes do serviço. O GIRI é específico para cada local. 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:

19.1. Projeto do Local: A inclusão de questões e requisitos para o gerenciamento de roedores e de insetos no planejamento, no projeto e na construção proporciona 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. Isso 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;

19.2. Monitoramento: Armadilhas, inspeções visuais e entrevistas com os funcionários são usadas para identificação das áreas e das 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;

19.3. 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 desses. 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;

19.4. 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 as recomendações sobre as práticas e as 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, à biologia e às condições sanitárias pode também promover a compreensão e a cooperação com os objetivos do programa de GIRI;

19.5. 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. O livro poderá conter os protocolos e os 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.;

19.6. 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 eficiente, quando usados juntamente com condições sanitárias e reparos estruturais adequados;

19.7. 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 atividades conhecidas de roedores e dos insetos. Quando os pesticidas são aplicados, deve-se usar e aplicar produtos menos tóxicos, de melhor eficácia, de maneira segura;

19.8. A 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. Isso é feito para assegurar que o programa esteja realmente controlando os roedores e os insetos e atendendo as necessidades básicas do programa de instalação e de seus ocupantes. Baseado nessa revisão, os protocolos de gerenciamento de roedores e de insetos podem ser modificados e novos procedimentos podem ser implementados;

19.9. Perícia Técnica: Um entomologista qualificado pode fornecer um guia técnico útil ao desenvolvimento e à implementação de um programa GIRI. As pessoas responsáveis pelo gerenciamento de roedores e de insetos deverão ser licenciadas e certificadas por uma agência regulamentadora adequada;

19.10. Segurança: Ao limitar o espectro dos tratamentos com pesticidas e ao usarmos práticas de controle sem pesticidas, o programa de GIRI poderá 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. Essa 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 padrão de operação de instalações laboratoriais, aumenta-se a conscientização do programa.

O treinamento sobre os princípios e as práticas do gerenciamento estrutural (indoor) integrado ao gerenciamento de roedores e de insetos e as informações sobre o programa do GIRI estão disponíveis em muitas fontes. Algumas delas são: os departamentos de entomologia de universidades, os escritórios de extensão municipal, a Sociedade Entomológica dos EUA, os departamentos estaduais de agricultura, as associações estaduais de controle de roedores e de insetos, os estoques de equipamentos para controle e os consultores ou as firmas de gerenciamento de roedores e de insetos. Há também cursos por correspondência em várias universidades, cursos de curta extensão e conferências de treinamento sobre o gerenciamento estrutural de roedores e de insetos. (Texto retirado do: Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia / Ministério

da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 3. ed. em português rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 290 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) ISBN 85-334-0777-7. Tradução do inglês: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. ISBN 017-040-00547-4).

20. 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 essas toxinas.

O material a seguir foi adaptado do Programa de Segurança da Defesa Biológica e dos Requisitos de Segurança Técnica (DA Pamphlet 385-69) (Estados Unidos, 19--a) e do apêndice A do *United States Department of Labor Occupational Safety and Health Association* regulado por *Occupational Exposure to Hazardous Chemicals in Laboratories* (Estados Unidos, 19--b).

Os gerentes de laboratório e os encarregados pela segurança das instalações deverão ser encorajados a utilizar as referências relacionadas a seguir e a consultar peritos no assunto antes de usar qualquer toxina, para assegurar que as instalações, os equipamentos de contenção, as normas e os procedimentos, os programas de treinamento de pessoal e os protocolos de vigilância médica específicos para a toxina e para o laboratório são adequados.

20.1. Geral

As instalações, os equipamentos e os 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 as normas forem escritos. Caso sejam usados animais, as práticas de segurança animal também deverão ser consideradas.

20.2. Práticas padrão

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

20.3. Práticas Especiais

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

Cada laboratório deverá desenvolver um plano de higienização química específico para a(s) toxina(s) usada(s). O plano de higienização química deverá:

20.3.1. Identificar os perigos que serão encontrados no uso normal da toxina e no caso de um vazamento ou outro acidente;

20.3.2. 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).

20.3.3. O treinamento específico para o uso de toxinas deverá ser exigido e documentado para todos os funcionários de laboratório que trabalhem com as toxinas antes que o trabalho com esse elemento seja iniciado e, a partir daí, em intervalos de tempo;

20.3.4. Um sistema de controle de inventário deverá ser adotado;

20.3.5. As toxinas deverão ser guardadas em salas de armazenamento, cabines ou freezers trancados, quando não estiverem sendo usadas;

20.3.6. O acesso às áreas que contêm toxinas deverá ficar restrito às pessoas que trabalham no local;

20.3.7. A preparação de recipientes primários contendo estoques de soluções de toxinas e manipulações de containers primários de formas secas de toxinas deverá ser conduzida 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;

20.3.8. O usuário deverá verificar o fluxo de ar no interior da coifa ou da cabine de segurança biológica antes de iniciar o trabalho;

20.3.9. Todo trabalho deverá ser feito dentro de uma área efetiva da coifa ou da cabine de segurança biológica;

20.3.10. Quando as toxinas estiverem 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;

20.3.11. 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;

20.3.12. Antes que os recipientes sejam removidos da sala, da coifa, das 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 à prova de vazamentos;

20.3.13. As roupas e os 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;

20.3.14. 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 sejam descontaminadas, a coifa, a cabine com luvas e a cabine deverão conter um aviso indicando que toxinas estão sendo usadas e que o acesso ao equipamento e aos utensílios fica restrito aos funcionários autorizados.

20.4. Equipamentos de segurança

As normas para o uso de equipamentos de segurança relacionados nos níveis de biossegurança 2 e 3 (**veja itens 13 e 16**) deverão ser revisadas e incorporadas adequadamente aos protocolos para o trabalho com as toxinas.

20.4.1. 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), estes deverão ser usados de maneira que as mãos e os braços estejam completamente cobertos.

20.4.2. Uma proteção para os olhos deverá ser utilizada se um sistema de contenção que possua uma abertura na frente for usado.

20.4.3. 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 não for possível o uso de um equipamento de contenção ou de outros controles de engenharia de segurança.

20.4.4. Quando manipular formas secas de toxinas que sejam eletrostáticas: a. Não use luvas (como as de látex) que ajudem a formar eletricidade estática. Use uma glove box ou uma cabine com luvas ou uma cabine de segurança biológica de classe III.

20.4.5. Quando manipular toxinas que sejam perigosas para a membrana percutânea (irritantes, que provocam necrose no tecido ou sejam extremamente tóxicas para a exposição dermatológica), selecione luvas que sejam impermeáveis à toxina.

20.4.6. Considere a toxina e o diluente quando for selecionar luvas e outras roupas de proteção.

20.4.7. Se os agentes infecciosos e as toxinas forem usados juntamente com um sistema experimental, considere os dois quando for selecionar os equipamentos e as roupas de proteção.

20.5. Instalações do Laboratório

As recomendações de instalação do laboratório relacionadas para os níveis de biossegurança 2 e 3 (**veja itens 13 e 16**) e os padrões da OSHA* deverão ser revisados e incorporados de forma apropriada nos protocolos para o trabalho com toxinas.

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 (Texto retirado do: Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 3. ed. em português rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 290 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) ISBN 85-334-

código: NI-CIBio/UENF-002	Emissão Inicial	página: 81/82
----------------------------------	------------------------	----------------------

0777-7. Tradução do inglês: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. ISBN 017-040-00547-4).

21. REFERENCIAS

BRASIL. Lei no 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB, revoga a Lei no 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória no 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5o, 6o, 7o, 8o, 9o, 10 e 16 da Lei no 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 28 de março de 2005. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/lei/L11105.htm>. Acesso em: 30 de julho de 2015.

ESTADOS UNIDOS Department of the Army. DOD, 32 CFR: part. 626, 628. Biological Defense Safety Program. [19--a].

ESTADOS UNIDOS. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR, art. 1.910. Occupational Safety and Health Standards. [19--b].

ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. General recommendations on immunization, 231 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS referências e lista de notas recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices – ACIP: morbidity and mortality weekly report. MMWR, v. 43, n. RR01, p. 1-38, jan. 1994.

ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. 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 Repor. MMWR, v. 46, n. RR-18, p.1- 42, 1997.

Kurse RH, Pukett WH, Richardson JH (1991). Biological safety cabinetry. Clin. Microbiol. Rev. 4(2): 207-241.

Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP (2011). Brook Biology of microorganism. 13th edition.

código: NI-CIBio/UENF-002	Emissão Inicial	página: 82/82
----------------------------------	------------------------	----------------------

Pedrosa PBS, Cardoso TAO (2011). Viral infections in workers in hospital and research laboratory settings: a comparative review of infection modes and respective biosafety aspects. International Journal of Infectious Disease, 15:e366-e376.

Sewell DL (1995). Laboratory-associated infections and biosafety. Clinical Microbiology Reviews, 8(3):389-405.

Singh K. (2009). Laboratory-acquired infections. Clinical Infectious Diseases, 49:142-147.

22. QUADRO DE ELABORAÇÃO E HISTÓRICO DE REVISÃO

Quadro de Aprovação			
Data da aprovação:			
Função	Nome	Atribuição	Assinaturas
Elaborador	André de Oliveira Carvalho Adriano da Silva Campos	Presidente da CIBio/UENF Presidente da CIBio/CDTS/FIOCRUZ	
Revisor	Renato Augusto DaMatta	Comissão Interna de Biossegurança	
Revisor	Elena Lassounskaia	Comissão Interna de Biossegurança	
Revisor	Maria Clara Caldas Bussiere	Comissão Interna de Biossegurança	
Aprovado por:	CIBio/UENF	Comissão Interna de Biossegurança	
Aprovado por:	Luis Passoni	Reitor da UENF	

Histórico de revisão			
Revisão	Data	Descrição das alterações (indicar capítulo, seção e subseção/alínea)	Responsável pela revisão
Não se aplica			