

Segurança em Laboratórios: Aspectos Ambientais e Ocupacionais

– Módulo 2 – BIOSSEGURANÇA



CURSO

Segurança em Laboratórios: Aspectos Ambientais e Ocupacionais

– Módulo 2 – BIOSSEGURANÇA



Universidade Federal de São Paulo



**Departamento de Gestão e
Segurança Ambiental**

São Paulo, fevereiro de 2019.

SUMÁRIO

GLOSSÁRIO.....	6
PRINCÍPIOS DE BIOSSEGURANÇA	8
O QUE É BIOSSEGURANÇA?.....	8
CONTENÇÃO.....	8
AGENTES BIOLÓGICOS	9
CLASSES DE RISCO.....	9
CRITÉRIOS PARA AVALIAÇÃO DOS RISCOS.....	10
NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA	12
Nível de Biossegurança 1 (NB-1)	13
Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-1	13
Equipamentos de contenção para o NB-1	15
Instalações laboratoriais NB-1	15
Nível de Biossegurança 2 (NB-2)	17
Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-2	17
Práticas adicionais para o NB-2.....	18
Equipamentos de contenção para o NB-2	19
Instalações laboratoriais NB-2	20
Nível de Biossegurança (NB-3).....	21
Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-3	21
Práticas adicionais para o NB-3.....	21
Equipamentos de contenção para o NB-3	23
Instalações laboratoriais NB-3	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
PROCESSOS DE DESCONTAMINAÇÃO E ESTERILIZAÇÃO	27
PRINCÍPIOS BÁSICOS.....	27
LIMPEZA	27
DESINFECÇÃO	28
Tipos de desinfetantes	29
Álcool.....	29
Formaldeído	30
Cloro	30

Iodo	30
Clorexidina	31
Triclosan	31
ESTERILIZAÇÃO	31
Métodos físicos de esterilização	32
Vapor	32
Calor seco.....	32
Radiação ionizante	33
Flambagem	33
Radiação ultravioleta.....	34
Métodos físico-químicos de esterilização	35
Vapor a baixa temperatura com formaldeído (VBTF) ou gás de vapor de formaldeído (FO).....	35
Plasma de peróxido de hidrogênio.....	35
Métodos químicos de esterilização.....	35
Glutaraldeído 2%, formaldeído alcoólico a 8% e formaldeído aquoso a 10%.....	35
Óxido de etileno	35
Controle de qualidade dos processos de esterilização.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL	38
ASPECTOS ÉTICOS	38
REPLACEMENT / SUBSTITUIÇÃO.....	38
REDUCTION / REDUÇÃO.....	39
REFINEMENT / REFINAMENTO	40
LEI AROUCA	40
MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS DE LABORATÓRIO	41
ALOJAMENTO	42
MANIPULAÇÃO DOS ANIMAIS.....	43
IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS	43
DETECÇÃO DE DOR E ESTRESSE	44
PONTO FINAL HUMANITÁRIO (ENDPOINTS)	45
EUTANÁSIA.....	46

Métodos de eutanásia	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
TRANSPORTE DE MATERIAL BIOLÓGICO.....	50
INTRODUÇÃO	50
CLASSIFICAÇÃO.....	50
NORMAS DE TRANSPORTE	52
ACONDICIONAMENTO PARA TRANSPORTE	52
Substância Categoria A.....	53
Substância Categoria B.....	54
DOCUMENTAÇÃO	55
Substância Categoria A.....	55
Substância Categoria B.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
PROTEÇÃO RADIOLÓGICA.....	57
INTRODUÇÃO	57
RADIOATIVIDADE	57
Radiação alfa	58
Radiação beta	58
Radiação gama.....	59
CONCEITOS DE RADIOATIVIDADE	59
Decaimento radioativo.....	59
Atividade	59
Meia-vida	60
DIRETRIZES BÁSICAS DA PROTEÇÃO RADIOLÓGICA	60
EXPOSIÇÃO A MATERIAIS RADIOATIVOS	61
CONTROLE DE EXPOSIÇÃO	62
Tempo de exposição	62
Distância da fonte	62
Blindagem.....	63
Penetração das radiações na matéria	63
DETECTORES DE RADIAÇÃO	64
REJEITOS RADIOATIVOS	65
CUIDADOS BÁSICOS	65

PROCEDIMENTOS DE EMERGÊNCIA.....	66
Pele	67
Roupas e sapatos	67
Superfície de trabalho	67
Outras superfícies	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS.....	68
LEI DE BIOSSEGURANÇA.....	68
ÓRGÃOS COMPETENTES	69
CLASSES DE RISCO.....	70
Classe de Risco 1 (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade)	70
Classe de Risco 2 (moderado risco individual e baixo risco para a coletividade)	70
Classe de Risco 3 (alto risco individual e risco moderado para a coletividade) ..	70
Classe de Risco 4 (alto risco individual e alto risco para a coletividade)	70
NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA	71
Nível de Biossegurança 1 (NB-1)	72
Nível de Biossegurança 2 (NB-2)	73
Nível de Biossegurança 3 (NB-3)	75
Nível de Biossegurança 4 (NB-4)	77
ANIMAIS GENETICAMENTE MODIFICADOS.....	79
Biotério NB-1	80
Biotério NB-2	81
Biotério NB-3	81
TRANSPORTE DE OGM	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
MATERIAL SUPLEMENTAR	85
CABINES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA	85
Classe II A1/A2	85
Classe II B1	85
Classe II B2	86
Classe III	86
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88

GLOSSÁRIO

Agente biológico - Vírus, bactérias, fungos, parasitas, culturas celulares, organismos geneticamente modificados, toxinas, príons, amostras biológicas (tecidos, secreções e excreções) ou outro material biológico com capacidade de provocar danos à saúde humana, animal ou vegetal.

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

Biossegurança - É um conjunto de procedimentos, ações, técnicas, metodologias, equipamentos e dispositivos capazes de eliminar ou minimizar riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, que podem comprometer a saúde do ser humano, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos.

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

Desinfecção - É o processo de eliminação de formas vegetativas, existentes em superfícies inanimadas, por agentes químicos e/ou físicos. Para procedimentos de desinfecção, são utilizados os desinfetantes, substâncias que destroem ou inibem o crescimento de micro-organismos em objetos e materiais inanimados.

Esporo bacteriano - Esporo é uma camada que protege a bactéria e é responsável pela resistência e ao ataque dos agentes físicos e químicos da desinfecção.

Esterilização - É o processo que promove completa eliminação ou destruição de todas as formas de micro-organismos presentes: vírus, bactérias, fungos, protozoários e esporos.

Eutanásia - Do grego “eu”–bom e “thanatos”–morte, constitui todo procedimento cujo fim propicie a finalização humanitária dos animais de experimentação, sem sofrimento, dor ou ansiedade.

Número UN ou ONU - Número composto por quatro dígitos, precedidos pelas letras UN ou ONU, determinado pelas Nações Unidas para a identificação de substâncias perigosas ou de um grupo particular de substâncias.

Organismo geneticamente modificado (OGM) - É todo organismo cujo material genético – DNA/RNA tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética.

Princípio dos 3Rs - O princípio dos 3Rs (Reduction, Refinement, Replacement), tem por objetivo diminuir o número de animais utilizados na pesquisa, minimizar a dor e o desconforto e buscar alternativas, além de fomentar a substituição dos testes in vivo

Validação - Conjuntos de ações utilizadas para provar que procedimentos operacionais, processos, atividades ou sistemas produzem o resultado esperado. Exercícios de validação são normalmente conduzidos de acordo com protocolos previamente definidos e aprovados que descrevem testes e critérios de aceitação.

PRINCÍPIOS DE BIOSSEGURANÇA

O QUE É BIOSSEGURANÇA?

Biossegurança é um conjunto de procedimentos, ações, técnicas, metodologias, equipamentos e dispositivos capazes de eliminar ou minimizar riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, que podem comprometer a saúde do ser humano, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos.

Os princípios da Biossegurança estão centrados na prevenção de acidentes ocupacionais.

No Brasil, existe uma certa confusão entre a Biossegurança Legal e a Biossegurança Praticada. A Biossegurança Legal está relacionada à Lei de Biossegurança no 11.105/2005 que versa sobre a manipulação de Organismos Geneticamente Modificados (OGM), células-tronco e clonagem humana. Enquanto que a Biossegurança Praticada está centrada nas Normas regulamentadoras do Ministério do Trabalho e Emprego (MTE), Ministério da Saúde, Resoluções da Agência Nacional de Vigilância em Saúde (ANVISA) e do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), além de diretrizes da Organização Mundial da Saúde e tem por objetivo minimizar ou eliminar a exposição aos riscos químicos, físicos, biológicos, ergonômicos e de acidentes encontrados nos ambientes laborais.

CONTENÇÃO

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

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

Para que o princípio da contenção seja obedecido são fundamentais: (1) aplicação das boas práticas e técnicas laboratoriais; (2) disponibilidade, estruturação, manutenção e utilização de equipamentos de segurança (barreiras primárias); elaboração de projetos e construção das instalações adequadas (barreiras secundárias).

AGENTES BIOLÓGICOS

O foco da biossegurança no sistema de saúde é o agente biológico levando-se em consideração a saúde do trabalhador e as condições de funcionamento de hospitais, laboratórios, indústrias, universidades e centros de pesquisa.

Os agentes biológicos a que estamos expostos são os vírus, bactérias, fungos, parasitas, culturas celulares, organismos geneticamente modificados, toxinas, príons, amostras biológicas (tecidos, secreções e excreções) ou outro material biológico com capacidade de provocar danos à saúde humana, animal ou vegetal.

CLASSES DE RISCO

Os agentes biológicos são classificados de acordo com as seguintes Classes de Risco:

Classe de Risco I (nenhum ou baixo risco individual e coletivo): inclui os agentes biológicos com pouca probabilidade de causar doenças no ser humano ou nos animais. Seguem alguns exemplos:

- ✓ Fungos: *Agaricus bisporus*, *Saccharomyces cerevisiae*.
- ✓ Bactérias: *Lactobacillus sp.*, *Bacillus subtilis*.

Classe de Risco II (moderado risco individual e baixo risco coletivo): inclui os agentes biológicos que provocam infecções no ser humano ou nos animais, porém dispõem-se de medidas terapêuticas e profiláticas eficazes, sendo limitado o potencial de propagação na comunidade e de disseminação no meio ambiente. Seguem alguns exemplos:

- ✓ Vírus: Zika vírus, H1N1.
- ✓ Bactérias: *Escherichia coli* (antígeno K1 e cepas diarreiogênicas), *Salmonella entérica*.
- ✓ Fungos: *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sporothrix schenckii*.
- ✓ Parasitas: *Tripanossoma spp.*, *Leishmania spp.*, *Plasmodium spp.* humano e símio.
- ✓ Hemiltos: *Schistosoma manzoni*, *Taenia solium*.

Classe de Risco III (alto risco individual e limitado risco coletivo): inclui os agentes biológicos que causam patologias graves nos homens ou animais, potencialmente letais, para as quais existem usualmente medidas de profilaxia e/ou tratamento. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de pessoa a pessoa. Seguem alguns exemplos:

- ✓ Bactérias: *Bacillus anthracis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli* enterohemorrágica.
- ✓ Fungos: *Histoplasma capsulatum*.

- ✓ Vírus: HIV (Retrovírus), Chikungunya (alphavirus).
- ✓ Todos os Príons.

Classe de risco IV (elevado risco individual e coletivo): inclui os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade por via respiratória ou de transmissão desconhecida e que não há nenhuma medida profilática ou terapêutica eficaz contra infecções ocasionadas por estes. Causam doenças humanas e animais de alta gravidade, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no meio ambiente.

- ✓ Vírus Ebola.

Classe de risco especial (alto risco de causar doença animal grave e de disseminação no meio ambiente): inclui agentes biológicos de doença animal não existentes no País e que, embora não sejam obrigatoriamente patógenos de importância para o ser humano, podem gerar graves perdas econômicas e/ou na produção de alimentos.

- ✓ Vírus da peste bovina.

Para acesso a todos os agentes classificados, consulte o documento elaborado pelo Ministério da Saúde intitulado “Classificação de Risco dos Agentes Biológicos”.

CRITÉRIOS PARA AVALIAÇÃO DOS RISCOS

A avaliação dos riscos e classificação dos agentes baseiam-se nos seguintes critérios:

Virulência: é a capacidade patogênica de um agente biológico, medida pela taxa de fatalidade do agravo causado pelo agente patogênico e/ou por seu poder de invadir tecidos do hospedeiro. A virulência pode ser avaliada por meio dos coeficientes de letalidade e de gravidade. O coeficiente de letalidade indica o percentual de casos da doença que são mortais, e o coeficiente de gravidade, o percentual dos casos considerados graves.

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 manipulado é de fundamental importância para a aplicação de medidas que visem conter a disseminação do patógeno.

Estabilidade: é a capacidade de manutenção do potencial infeccioso de um agente biológico no meio ambiente. Deve ser considerada a capacidade de manutenção do potencial infeccioso em condições ambientais adversas como a exposição à luz, à radiação ultravioleta, às temperaturas, à umidade relativa e aos agentes químicos.

Concentração e volume: a concentração está relacionada à quantidade de agentes patogênicos por unidade de volume. Assim, quanto maior a concentração, maior o risco.

O volume do agente patogênico também é importante, pois na maioria dos casos, os fatores de risco aumentam proporcionalmente ao aumento do volume do agente presente no meio.

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 a natureza do vetor.

Disponibilidade de medidas profiláticas eficazes: estas incluem profilaxia por vacinação, antisseros e globulinas eficazes. Inclui ainda, a adoção de medidas sanitárias, controle de vetores e medidas de quarentena em movimentos transfronteiriços. Quando estas estão disponíveis, o risco é drasticamente reduzido.

Disponibilidade de tratamento eficaz: refere-se à disponibilidade de tratamento eficaz, capaz de prover a contenção do agravamento e a cura da doença causada pela exposição ao agente patogênico. Inclui a imunização e vacinação pós-exposição, o uso de antibióticos e medicamentos terapêuticos, levando em consideração a possibilidade de indução de resistência dos agentes patogênicos.

Dose infectante: consiste no número mínimo de agentes patogênicos necessários para causar doença. Varia de acordo com a virulência do agente e com a susceptibilidade do indivíduo.

Manipulação do agente patogênico: a manipulação pode potencializar o risco, como por exemplo, a amplificação, sonicação ou centrifugação. 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 utilizadas e com a natureza do protocolo. Deve ser considerada ainda a possibilidade de infecções latentes que são mais comuns em animais capturados no campo.

Eliminação do agente: o conhecimento das vias de eliminação do agente é importante para a adoção de medidas de contingenciamento. A eliminação em altos títulos por excreções ou secreções de agentes patogênicos pelos organismos infectados, em especial, aqueles transmitidos por via respiratória, podem exigir medidas adicionais de contenção. As pessoas que lidam com animais experimentais infectados com agentes biológicos patogênicos apresentam um risco maior de exposição devido à possibilidade de mordidas, arranhões e inalação de aerossóis.

Fatores referentes ao trabalhador: deve ser considerado o estado de saúde do indivíduo, assim como idade, sexo, fatores genéticos, susceptibilidade individual (sensibilidade e resistência com relação aos agentes biológicos), estado imunológico, exposição prévia, gravidez, lactação, consumo de álcool, consumo de medicamentos, hábitos de higiene

pessoal e uso de equipamentos de proteção individual. Cabe ressaltar a necessidade dos profissionais possuírem experiência e qualificação para o desenvolvimento das atividades.

Outros fatores: além dos aspectos sanitários, devem ser considerados também os impactos socioeconômicos de uma disseminação de agentes patogênicos em novas áreas e regiões antes não habituais para o agente 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 outros animais, complexos e ricos em suas naturezas e relações.

NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA

Para cada classe de risco há um NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA correspondente que exige a adoção de procedimentos-padrão, o uso de equipamentos de contenção e instalações laboratoriais adequadas ao tipo de trabalho a ser desenvolvido, bem como recursos humanos capacitados para a manipulação em contenção dos agentes biológicos.

Agentes de Classe de Risco I devem ser manipulados em laboratórios com Nível de Segurança Biológica 1 (NB-1). Agentes de Classe II são manipulados em laboratórios NB-2, Classe III em NB-3 e Classe IV em NB-4.

Entretanto, existem algumas dificuldades no processo de definição do nível de contenção.

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 II – NB-2), porém, certos procedimentos ou protocolos experimentais podem exigir um maior ou menor grau de contenção. No caso exemplar do diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis*, que é de classe de risco 3, a execução de uma baciloscopia não exige desenvolvê-la numa área de contenção NB-3, e sim numa área NB-2, utilizando-se uma cabine de segurança biológica. Já se a atividade diagnóstica exigir a reprodução da bactéria (cultura), bem como testes de sensibilidade, situação em que o profissional estará em contato com uma concentração aumentada do agente, requer-se que as atividades sejam conduzidas numa área NB-3.

Os laboratórios precisam ser estruturados conforme as diretrizes oferecidas pela FUNASA, no documento “Projetos Físicos de Laboratórios de Saúde Pública”. É fundamental obedecer às “Diretrizes Gerais para o Trabalho em Contenção com Agentes Biológicos”, publicado pelo Ministério da Saúde, e seguir o “Manual de Segurança Biológica em Laboratórios” da Organização Mundial da Saúde.

As diretrizes gerais para o trabalho em contenção com agentes biológicos do Ministério da Saúde estabelecem critérios e condições técnicas, procedimentos e instalações físicas necessários para práticas seguras com agentes biológicos de risco relacionados à saúde humana e ao meio ambiente, para cada um dos quatro Níveis de Biossegurança (NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4). Essas diretrizes se aplicam ao trabalho em contenção que utilize materiais e agentes biológicos potencialmente patogênicos, independentemente do volume a ser manipulado. Para o trabalho em nível de biossegurança em grande escala, o nível de biossegurança deve ser automaticamente superior ao recomendado para a manipulação do agente biológico envolvido.

Na Unifesp, a maioria dos laboratórios de pesquisa e ensino são do tipo NB-1 e NB-2. A Unifesp possui poucos laboratórios NB-3 e nenhum laboratório NB-4.

Portanto, é proibido manipular agentes biológicos de classe de risco IV nas dependências da UNIFESP

Nível de Biossegurança 1 (NB-1)

O NB-1 representa o nível básico de contenção e compreende a aplicação das Boas Práticas de Laboratório, todavia não há exigência de equipamentos específicos de proteção, pois o trabalho pode ser realizado em bancada. É indicado para o trabalho com agentes biológicos da classe de risco 1, bem caracterizados e que não sejam capazes de causar doenças no ser humano ou nos animais adultos saudáveis. Os profissionais que atuam neste nível devem seguir os requisitos mínimos, possuir treinamento em biossegurança e ser supervisionados por um profissional de nível superior. Equipamentos ou dispositivos de contenção especiais, como cabines de segurança biológica (CSB) e autoclaves, apesar de desejáveis não são obrigatoriamente necessários.

Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-1

- 1- O acesso ao laboratório deve ser restrito aos profissionais envolvidos nas atividades desenvolvidas. Os procedimentos técnicos ou administrativos deverão estar descritos e ser de conhecimento de toda a equipe.
- 2- As áreas de circulação devem estar desobstruídas e na porta do laboratório deverá ser fixado o símbolo internacional de risco biológico, bem como a identificação e o telefone de contato do profissional responsável.
- 3- A lavagem das mãos deverá ser realizada após manipulação de agentes biológicos e antes da saída do laboratório.
- 4- A pipetagem deverá ser realizada com dispositivos apropriados, nunca com a boca.
- 5- O armazenamento de alimentos no interior do laboratório, não é permitido, exceto quando estes forem objetos de estudo, bem como não se deve comer, beber, fumar e aplicar cosméticos nas dependências do laboratório. O uso de cosméticos e adereços como brincos, pulseiras e relógios no laboratório deve ser evitado.
- 6- Os materiais e reagentes deverão ser armazenados e estocados em instalações apropriadas no laboratório.
- 7- A bancada deverá ser descontaminada ao final do trabalho e/ou sempre que houver contaminação com agentes biológicos ou material biológico potencialmente infeccioso.
- 8- O manuseio de material perfurocortante deverá ser realizado cuidadosamente. As agulhas não deverão ser dobradas, quebradas, recapeadas, removidas ou manipuladas antes de serem desprezadas. O descarte deste material deve ser realizado em recipiente específico para esse tipo de material, resistente à punctura, ruptura e vazamento, sendo devidamente identificado e localizado próximo à área de trabalho.
- 9- Não é permitido o reaproveitamento dos recipientes de descarte.
- 10- As vidrarias quebradas deverão ser removidas por meios mecânicos e descartadas em recipiente específico. Todos os demais resíduos devem ser descartados segundo as normas vigentes e de acordo com o Plano de Gerenciamento de Resíduos da instituição.
- 11- Planos de Contingência e Emergência deverão ser estabelecidos e ser de conhecimento de todos os profissionais do laboratório, devendo haver um kit de primeiros socorros à disposição para o caso de eventual acidente. Adicionalmente, deve ser estabelecido um Programa de Vigilância em Saúde (epidemiológica, sanitária, ambiental e do trabalhador).

12- A rotina de controle de insetos, artrópodes e roedores deverá ser descrita e mantida, a fim de evitar a presença dos mesmos no ambiente laboratorial.

Anterior

Equipamentos de contenção para o NB-1

1- Recomenda-se o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) como jaleco, luvas, óculos, máscaras, como meio de proteção do profissional, sendo que os jalecos devem possuir mangas ajustadas nos punhos e não devem, em hipótese alguma, ser utilizados fora das dependências laboratoriais.

2- Óculos de proteção devem ser utilizados na realização de experimentos que possuam risco de formação de partículas, e em profissionais que façam uso de lentes de contato.

3- Faz-se necessária a utilização de sapatos fechados como proteção em caso de acidente.

4- Para o trabalho neste nível de contenção, não é obrigatório, embora seja desejável, a utilização de cabines de segurança biológica e autoclave.

5- O laboratório deve possuir dispositivo de emergência para lavagem dos olhos, além de chuveiros de emergência, localizados no laboratório ou em local de fácil acesso.

Instalações laboratoriais NB-1

As instalações laboratoriais devem ser compatíveis com as regulamentações municipais, estaduais e federais.

1- Os laboratórios devem possuir portas com controle do acesso apenas às pessoas autorizadas. As portas devem ser mantidas fechadas e possuir visores, exceto quando haja recomendação contrária.

2- As instalações físicas devem seguir normas de segurança e proteção contra incêndio de acordo com as regulamentações do Corpo de Bombeiros local.

3- A edificação deve possuir sistema de proteção contra descargas atmosféricas, os equipamentos eletroeletrônicos devem estar conectados a uma rede elétrica estável e aterrada e todas as tomadas e disjuntores devem ser identificados.

4- As tubulações das instalações prediais devem estar em perfeitas condições de funcionamento, conforme normas vigentes. O sistema de abastecimento de água deve

possuir reservatório suficiente para as atividades laboratoriais e para a reserva de combate a incêndio, conforme as normas vigentes.

5- As instalações elétricas dos laboratórios e/ou controle de sistemas de climatização devem ser projetados, executados, testados e mantidos em conformidade com as normas vigentes.

6- As circulações horizontais e verticais tais como corredores, elevadores, montacargas, escadas e rampas devem estar de acordo com as normas vigentes.

7- As portas para passagem de equipamentos devem possuir dimensões com largura mínima de 1,10m, podendo ter duas folhas, uma de 0,80m e outra de 0,30m.

8- O laboratório deve ser projetado de forma a permitir fácil limpeza e descontaminação e possuir lavatório exclusivo para lavagem de mãos. O uso de carpetes, tapetes, cortinas, persianas e similares não são recomendados. Recomenda-se, quando necessário, o uso de películas protetoras para controle da incidência de raios solares. As janelas que permitem abertura devem ser equipadas com telas, como proteção contra insetos.

9- Os móveis e as bancadas devem ser capazes de suportar peso, serem impermeáveis e resistentes ao calor, aos solventes orgânicos, álcalis e outros produtos químicos. As cadeiras e os bancos utilizados no laboratório devem ser recobertos de material não poroso, que possa ser facilmente limpo e descontaminado.

10- O mobiliário do laboratório deve ser projetado sem detalhes desnecessários, como reentrâncias, saliências, quebras, cantos, frisos e tipos de puxadores que dificultem a limpeza e a manutenção. Este deve atender os critérios de ergonomia, conforme as normas vigentes. Deve haver espaço suficiente entre as bancadas, cabines e equipamentos de modo a permitir acesso fácil para a realização da limpeza.

11- As janelas e as portas devem ser de materiais e acabamentos que retardem o fogo e facilitem a limpeza e a manutenção. Não é necessário requisito especial de ventilação, além dos estabelecidos pelas normas vigentes.

12- A planta do laboratório deve ser projetada de forma a contemplar a existência de chuveiro de emergência e lava-olhos próximos às áreas laboratoriais.

13- No laboratório deve existir uma área para guardar jalecos e outros EPIs de uso laboratorial, sendo recomendável, que os pertences pessoais sejam guardados numa área específica na entrada do laboratório.

14- É recomendável que exista, no laboratório, uma área com armários e prateleiras para disposição de substâncias e materiais de uso frequente. Ainda, recomenda-se que exista um local ventilado e adjacente ao laboratório, para o armazenamento de grandes quantidades de material de uso.

15- As saídas de emergência devem estar identificadas e, preferencialmente, localizadas nas áreas de circulação pública e na direção oposta às portas de acesso, com saída direta para a área externa da edificação. As portas de saída de emergência devem ser dotadas de barra antipânico que permita a fácil abertura.

16- Os cilindros de gás devem ser mantidos na posição vertical e possuírem dispositivos de segurança de forma a evitar quedas ou tombamentos. Recomenda-se que os cilindros pressurizados, de quaisquer dimensões, para alimentação das redes, na área interna do laboratório sejam armazenados em local específico, externo, coberto e ventilado em área externa ao laboratório.

17- A edificação laboratorial deve possuir um abrigo isolado, identificado, para armazenamento temporário dos resíduos, separados por tipo, com local para higienização de contêineres, provido de ponto de água, no pavimento térreo ou em área externa a edificação, com saída para o exterior, de fácil acesso aos veículos de coleta. Estas áreas devem ser cobertas, ventiladas, com piso, paredes e tetos revestidos de materiais lisos, impermeáveis e resistentes a substâncias químicas, conforme as normas vigentes, e o acesso deve ser restrito ao pessoal autorizado.

18- Caso o sistema público não disponha de tratamento de efluente sanitário, deve ser previsto o tratamento primário e secundário, tal como tanque séptico e filtro biológico, a fim de evitar a contaminação da rede pública.

Nível de Biossegurança 2 (NB-2)

Este nível de biossegurança é exigido para o trabalho com agentes biológicos da classe de risco II, que confere risco moderado aos profissionais e ao ambiente. Os profissionais que atuam em NB-2 deverão possuir treinamento adequado ao trabalho com agentes biológicos em contenção e serem monitorados por outro profissional com conhecida competência no manuseio de agentes e materiais biológicos potencialmente patogênicos. Todo trabalho que possa formar partículas de agentes biológicos deverá ser realizado em cabine de segurança biológica.

Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-2

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

Práticas adicionais para o NB-2

1- É recomendável que os profissionais sejam submetidos à avaliação médica e recebam imunizações apropriadas aos agentes manuseados ou potencialmente presentes no laboratório, além de, quando necessário, proceder ao armazenamento de amostra de soro dos membros da equipe. Profissionais imunocomprometidos ou imunodeprimidos não devem permanecer no laboratório.

2- Recomenda-se a elaboração e adoção de um Manual de Biossegurança para o laboratório. Este deve fazer referência, em especial, aos agentes de risco mais frequentes no ambiente de trabalho, e deve ser disponibilizado a todos os profissionais. Cabe ao profissional responsável pelo laboratório assegurar que toda a equipe tenha domínio dos procedimentos e práticas padrões antes do início de suas atividades com agentes biológicos de classe de risco 2. A equipe deverá receber treinamento anual sobre os potenciais riscos associados ao trabalho.

3- Os equipamentos deverão ser regularmente descontaminados, bem como após a ocorrência de contato ou potencial contaminação com agentes e materiais biológicos potencialmente patogênicos. Os acidentes que possam resultar na exposição a agentes biológicos devem ser imediatamente avaliados e tratados de acordo com o Manual de Biossegurança e serem comunicados ao profissional responsável pelo laboratório.

4- As portas do laboratório devem permanecer fechadas, enquanto os procedimentos estiverem sendo realizados e trancadas ao final das atividades.

5- O símbolo internacional indicando risco biológico deve ser afixado nas portas dos locais onde há manipulação dos agentes biológicos pertencentes à classe de risco 2, identificando qual(is) o(s) agente(s) manipulado(s), o nível de biossegurança (NB), as imunizações necessárias, os tipos de EPIs utilizados no laboratório e o nome do profissional responsável com endereço completo, telefone de contato e as diversas possibilidades para a sua localização.

6- Os EPIs devem ser retirados, antes de sair do ambiente de trabalho, depositados em recipiente exclusivo para esse fim e descontaminados antes de serem reutilizados ou descartados.

7- Não se deve tocar superfícies limpas, tais como teclados, telefones e maçanetas usando luvas de procedimentos.

8- Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de aerossóis ou gotículas.

9- Precauções especiais devem ser tomadas em relação aos objetos perfurocortantes, incluindo seringas e agulhas, lâminas, pipetas, tubos capilares e bisturis. Agulhas e seringas hipodérmicas ou outros instrumentos perfurocortantes devem ficar restritos ao laboratório e usados somente quando indicados. Devem ser usadas seringas com agulha fixa ou agulha e seringa em uma unidade única descartável usada para injeção ou aspiração de materiais biológicos patogênicos ou, quando necessário, seringas que possuam um envoltório para a agulha, ou sistemas sem agulha e outros dispositivos de segurança.

10- Assegurar um sistema de manutenção, calibração e de certificação dos equipamentos de contenção. A cada seis meses as CSBs e os demais equipamentos essenciais de segurança devem ser testados, calibrados e certificados. Deve ser mantido registro da utilização do sistema de luz ultravioleta das CSBs com contagem do tempo de uso. Os filtros HEPA (High Efficiency Particulated Air) da área de biocontenção devem ser testados e certificados de acordo com a especificação do fabricante ou no mínimo uma vez por ano.

11- Acidentes ou incidentes que resultem em exposição a agentes biológicos ou materiais biológicos potencialmente patogênicos devem ser imediatamente notificados ao profissional responsável e os profissionais envolvidos devem ser encaminhados para avaliação médica, vigilância e tratamento, sendo mantido registro por escrito desses episódios e das providências adotadas.

12- Todos os materiais e resíduos devem ser descontaminados, preferencialmente esterilizados, antes de serem reutilizados ou descartados.

Equipamentos de contenção para o NB-2

1- Para este nível de biossegurança, a equipe deve utilizar EPIs adequados, conforme descrito no NB-1.

2- O uso de luvas de látex descartáveis deve ser restrito ao laboratório e as mesmas não deverão ser lavadas ou reutilizadas.

3- A utilização de CSB, de Classe I ou Classe II, além de EPIs, como máscaras, jalecos e luvas, deverão ser usados sempre que sejam realizadas manipulações de agentes biológicos patogênicos incluindo cultura de tecidos infectados ou ovos embrionados, procedimentos que envolvam potencial formação de aerossóis como pipetagem, centrifugação, agitação, sonicação, abertura de recipientes que contenham materiais infecciosos, inoculação intranasal de animais e coleta de tecidos infectados de animais ou ovos.

4- Uma autoclave deve estar disponível, em local associado ao laboratório, dentro da edificação, de modo a permitir a descontaminação de todos os materiais utilizados e resíduos gerados, previamente à sua reutilização ou descarte.

Instalações laboratoriais NB-2

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

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

2- O laboratório NB2 deverá estar localizado em área afastada de circulação do público.

3- Deverá ser instalado um sistema de portas com trancas, pois o acesso ao laboratório deverá ser restrito aos profissionais e técnicos capacitados ao trabalho em contenção.

4- Recomenda-se a instalação de lavatórios com acionamento automático ou acionados com cotovelo ou pé.

5- As cabines de segurança biológica devem ser instaladas de forma que as flutuações de ar da sala não interfiram em seu funcionamento, devendo as mesmas permanecer distante de portas, janelas e áreas movimentadas. O ar de exaustão das CSBs, classe II, filtrado por meio de filtros HEPA, e das capelas químicas devem ser lançados acima da edificação laboratorial e das edificações vizinhas, longe de prédios habitados e de correntes de ar do sistema de climatização. O ar de exaustão das CSBs pode recircular no interior do laboratório se a cabine for testada e certificada anualmente. Os filtros HEPA (*High Efficiency Particulate Air*) ou equivalente devem ser regularmente trocados.

6- As cadeiras também devem ser de material impermeável e de fácil limpeza.

7- Não são recomendadas janelas que se abrem para o exterior, mas caso haja, estas deverão possuir telas de proteção.

8- Pelo menos uma estação de lavagem de olhos deve estar disponível no laboratório.

9- Deve ser adotado um método para descontaminação do lixo laboratorial para toda a instalação, como por exemplo: autoclave, incineração ou descontaminação química.

10- No planejamento de novas instalações devem ser considerados sistemas de ventilação que proporcionem um fluxo direcional de ar sem que haja uma recirculação para outras áreas internas da edificação.

11- O local do escritório deve ser situado fora da área laboratorial.

Nível de Biossegurança (NB-3)

O nível de biossegurança 3 é aplicável aos laboratórios onde o trabalho é realizado com agentes que podem causar doenças em humanos ou animais, potencialmente letais, por meio da inalação de agentes biológicos classificados como de classe de risco 3. Além das práticas de segurança biológica adotadas nos níveis de biossegurança 1 e 2, um laboratório NB-3 requer equipamentos de segurança e instalações laboratoriais mais eficazes na contenção do que os presentes nestes níveis. Os profissionais destes laboratórios devem receber treinamento específico para o manejo dos agentes e materiais biológicos patogênicos, devendo ser supervisionados pelo profissional responsável.

Todos os procedimentos que envolverem a manipulação de agentes biológicos devem ser conduzidos dentro de cabines de segurança biológica ou outro dispositivo de contenção física. Os laboratórios pertencentes a este nível de biossegurança devem ser registrados junto a autoridades sanitárias nacionais.

Procedimentos-padrão de laboratório para o NB-3

1- O nível de contenção NB-3 exige a aplicação e o rigor das práticas microbiológicas e de segurança estabelecidas para o NB-2, além de exigir o uso obrigatório de CSB classe II ou III.

2- Todos os procedimentos, técnicos ou administrativos, devem estar descritos, ser de fácil acesso e do conhecimento dos técnicos envolvidos em sua execução.

Práticas adicionais para o NB-3

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

1- Todos os profissionais que entrarem no laboratório deverão estar cientes sobre o potencial de risco nesses ambientes. Somente os profissionais necessários para a execução das atividades ou os profissionais de apoio devem ser admitidos no local. No entanto, as atividades em laboratórios NB-3 devem ser executadas por no mínimo dois profissionais. Os profissionais que apresentarem risco aumentado de contraírem infecções não são permitidos dentro do laboratório.

2- As equipes do laboratório e de apoio devem receber treinamento em biossegurança sobre os riscos potenciais associados aos trabalhos desenvolvidos, os cuidados necessários para evitar ou minimizar a exposição ao agente de risco e sobre os procedimentos a serem realizados em caso de exposição.

3- Os profissionais do laboratório deverão frequentar cursos periódicos de atualização em biossegurança e receber orientação quanto às alterações do marco regulatório.

4- O laboratório deve adotar um Manual de Biossegurança específico para este nível de contenção, elaborado pelo profissional responsável e que contemple os procedimentos operacionais padrões. Este deve permanecer disponível e acessível a todos os profissionais no local de trabalho.

5- Não é permitido o uso de EPIs fora do laboratório. Os mesmos deverão ser descontaminados antes de serem reutilizados ou descartados.

6- Os profissionais do laboratório devem ser submetidos à avaliação médica periódica e receber imunizações apropriadas aos agentes manuseados ou potencialmente presentes no laboratório. Coleta de amostras sorológicas de toda a equipe, especialmente dos profissionais diretamente expostos ao risco, deve ser realizada, bem como seu armazenamento para futura referência. Amostras adicionais poderão ser periodicamente coletadas, dependendo dos agentes e materiais biológicos manipulados ou do funcionamento do laboratório.

7- Todas as manipulações que envolvam agentes e materiais biológicos devem ser conduzidas no interior de CSBs ou de outros dispositivos de contenção física dentro de um módulo de contenção.

8- Todos os resíduos devem ser obrigatoriamente esterilizados antes de serem descartados e/ou removidos do laboratório. Todos os materiais utilizados no laboratório devem ser descontaminados, antes de serem reutilizados. Os filtros HEPA e pré-filtros das CSBs e dos sistemas de ar retirados devem ser acondicionados em recipientes hermeticamente fechados para serem descontaminados por esterilização.

9- Acidentes ou incidentes que resultem em exposições a agentes e materiais biológicos patogênicos deverão ser imediatamente relatados ao profissional responsável e tomadas às medidas de mitigação e remediação necessárias, bem como avaliação médica, vigilância e tratamento dos profissionais envolvidos, sendo mantido registro por escrito destes episódios e das providências adotadas.

10- O profissional responsável deve garantir que o projeto da instalação e todos os procedimentos operacionais do NB-3 estejam documentados; que os parâmetros

operacionais e as instalações tenham sido verificados e estejam funcionando adequadamente antes que as atividades laboratoriais sejam iniciadas; que as instalações sejam inspecionadas no mínimo uma vez por ano e os equipamentos verificados, inclusive os sistemas de segurança, quanto ao seu funcionamento, calibração e eficiência, de acordo com as especificações do fabricante ou com as BPLs.

Equipamentos de contenção para o NB-3

1- Todos os procedimentos envolvendo a manipulação de material infeccioso, culturas, material clínico ou ambiental de agentes classificados como classe de risco 3 deve ser conduzido dentro de CSB classe II ou III. Além disso, deve-se estabelecer a combinação apropriada de EPIs e dispositivos de contenção física.

2- Recomenda-se a instalação de autoclave, de preferência de dupla porta e de fluxo único, estando a abertura no interior do laboratório NB-3 e a saída na área de apoio das instalações de contenção.

3- É obrigatório o uso de roupas de proteção apropriadas, bem como o uso de máscaras, gorros, luvas, propés ou sapatilhas. Os profissionais que fazem uso de lentes de contato deverão também utilizar óculos de proteção ou protetores faciais.

4- O trabalho em salas contendo animais infectados deve ser realizado com a utilização de equipamentos de proteção respiratória e para os olhos.

5- Quanto ao uso de luvas, estas devem ser trocadas quando necessário ou quando sua integridade estiver comprometida. Pode-se fazer uso de dois pares para evitar o contato com os agentes manipulados nos casos de ruptura. Quando o trabalho com agentes biológicos de risco estiver finalizado e antes de sair do laboratório, as luvas devem ser removidas desprezadas juntamente com o lixo laboratorial contaminado, sem que haja a necessidade de lavá-las.

6- Após qualquer procedimento em um laboratório NB-3, os protocolos de lavagem de mãos devem ser rigorosamente seguidos.

Instalações laboratoriais NB-3

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

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

12- Equipamentos como chuveiro, lava-olhos de emergência e lavatório com dispositivos de acionamento por controles automáticos devem estar presentes nas áreas em contenção e adjacentes à área do laboratório.

13- O laboratório deve ter um sistema de ar independente, com ventilação unidirecional, garantindo que o fluxo de ar seja sempre direcionado das áreas de menor risco potencial para as áreas de maior risco de contaminação. O ar de exaustão não deve recircular para qualquer outra área da edificação, devendo ser filtrado por meio de filtro HEPA, antes de ser eliminado para o exterior do laboratório, longe de áreas ocupadas e de entradas de ar. Os filtros HEPA devem ser instalados no ponto de descarga do sistema de exaustão.

14- O fluxo de ar no laboratório deve ser constantemente monitorado. Recomenda-se que um monitor visual seja instalado para indicar e confirmar a entrada direcionada do ar para o laboratório. Deve-se considerar a instalação de um sistema de automação para monitoramento do sistema de ar.

15- Recomenda-se que o mobiliário seja modular e flexível de forma a facilitar sua mobilidade.

16- O piso deve ser revestido de materiais contínuos e impermeáveis.

17- Todas as esquadrias devem ser de material de fácil limpeza e manutenção.

18- As tubulações devem estar preferencialmente nos espaços de fácil acesso à equipe de manutenção. Quando as tubulações das instalações prediais atravessarem pisos, paredes ou teto da área de contenção, os orifícios de entrada e saída devem ser vedados com materiais que garantam o isolamento. Os registros devem estar localizados fora da área de contenção do laboratório para interrupção do fluxo de água pela equipe de manutenção quando necessário. Deve haver sifões nas cubas e lavatórios e não devem ser utilizados ralos nas áreas laboratoriais.

19- As linhas de suprimento de gases comprimidos e as linhas de vácuo devem ser dotadas de filtros de alta eficiência ou de sistema equivalente, para proteção de inversão do fluxo (dispositivo antirrefluxo). Uma alternativa no caso das linhas de vácuo é o uso de bombas de vácuo portáteis, não conectadas ao exterior da instalação e também dotadas de filtro de alta eficiência.

20- Os disjuntores e quadros de comando devem estar localizados fora da área de contenção do laboratório. Todos os circuitos de alimentação de energia elétrica devem ser independentes das demais áreas da edificação.

21- O perímetro de contenção do laboratório deve ser dotado de sistema que permita sua vedação para procedimentos de descontaminação dos ambientes.

22- Os laboratórios NB-3 devem possuir sistema de emergência constituído de grupo motor-gerador e chave automática de transferência, para alimentar os circuitos da iluminação de emergência, dos alarmes de incêndio e de segurança predial, dos equipamentos essenciais, tais como CSBs, freezers, refrigeradores e incubadoras, e do ar condicionado de ambientes que necessitam de temperatura e fluxo unidirecional constante do ar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ Classificação de Risco dos Agentes Biológicos. Série A. Normas e Manuais Técnicos, Ministério da Saúde, 2.ª edição – 2010.
- ✓ Diretrizes Gerais para o Trabalho em Contenção com Agentes Biológicos. Série A. Normas e Manuais Técnicos, Ministério da Saúde, 3.ª edição – 2010.
- ✓ Riscos Biológicos - Guia Técnico. Os riscos biológicos no âmbito da Norma Regulamentadora Nº. 32. Ministério de Trabalho - 2008.
- ✓ Sangioni, LA; Pereira, DI; Vogel, FS; Botton, SA. Princípios de biossegurança aplicados aos laboratórios de ensino universitário de microbiologia e parasitologia. Ciência Rural, Santa Maria, v.43, n.1, p 91-99 (2013).

PROCESSOS DE DESCONTAMINAÇÃO E ESTERILIZAÇÃO

PRINCÍPIOS BÁSICOS

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

Nas práticas laboratoriais, os princípios da assepsia devem ser seguidos à risca. Assepsia é a ausência de matérias sépticas (bactérias infecciosas ou patogênicas, por exemplo) em determinados ambientes, realizada por meio de um conjunto de procedimentos que visam impedir a introdução de germes patogênicos em determinado organismo, ambiente e objetos. É o cuidado com a limpeza e higiene de tudo que nos cerca.

Portanto, é obrigatória a lavagem das mãos no início e no fim do trabalho em laboratório, independente da utilização de luvas. Além disso, bancadas e equipamentos devem ser sempre limpos e higienizados.

No caso de possíveis contaminações em equipamentos, bancadas, entre outros, devemos realizar os procedimentos de desinfecção.

LIMPEZA

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

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

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

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

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

DESINFECÇÃO

Desinfecção é o processo de eliminação de formas vegetativas, existentes em superfícies inanimadas, por agentes químicos e/ou físicos. Não deve ser confundido com a esterilização, pois não elimina **esporos bacterianos**. Para procedimentos de desinfecção, são utilizados os desinfetantes, substâncias que destroem ou inibem o crescimento de micro-organismos em objetos e materiais inanimados. Diferente dos antissépticos, que agem em tecidos vivos.

Esporos bacterianos

Esporo é uma camada que protege a bactéria e é responsável pela resistência e ao ataque dos agentes físicos e químicos da desinfecção. Na fase esporulada, as bactérias não realizam atividade biossintética e reduzem sua atividade respiratória.

Nesta fase também não ocorre a multiplicação e crescimento bacteriano. As bactérias podem permanecer vivas na forma de esporos durante anos, se mantidos a temperaturas usuais e em estado seco. Entretanto, assim que o ambiente se torna favorável, estes esporos podem voltar a se reproduzir e multiplicar.

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

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

resistentes como bacilo da tuberculose e esporos bacterianos. Como exemplo: compostos fenólicos 0,5-3%, compostos de iodo, quaternário de amônia.

Tipos de desinfetantes

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

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

O desinfetante ideal deve ter as seguintes características:

- ✓ Germicida;
- ✓ penetrabilidade: apresentar alto poder de penetração e rapidez de ação;
- ✓ ser de baixo custo e de aplicação econômica (relação custo x benefício);
- ✓ baixa toxicidade: ser atóxico ou apresentar o mínimo de toxicidade para o ser humano e outros animais, não devendo irritar a pele e mucosas;
- ✓ estabilidade: ser estável frente a matéria orgânica, pH, luz;
- ✓ solubilidade: ser solúvel em água;
- ✓ odor: não apresentar odor desagradável;
- ✓ ter poder residual;
- ✓ ser de fácil aplicação;
- ✓ não ser corrosivo;
- ✓ ser biodegradável;
- ✓ ser fácil de usar.

Dentre os diversos tipos de desinfetantes e antissépticos disponíveis, podemos citar:

✓ **Álcool**

O álcool é amplamente utilizado como desinfetante, tanto o álcool etílico a 70% (p/v), como o isopropílico a 92% (p/v), por terem atividade germicida, menor custo e pouca toxicidade. O seu uso é restrito pela falta de atividade esporicida, rápida evaporação e inabilidade em penetrar na matéria proteica. É recomendável para desinfecção de nível médio, com tempo de exposição de 10 minutos, sendo recomendáveis três aplicações intercaladas pela secagem natural. A concentração ideal é na faixa de 60% a 90%. O mecanismo de ação do

álcool depende de sua concentração. O Álcool 70% é um dos desinfetantes e antisépticos mais comumente utilizados na rotina por todos os profissionais de saúde. Tem como vantagem sua ação bactericida rápida. É levemente irritante à pele e econômico. Porém, suas desvantagens consistem em não eliminar esporos, danificar materiais como a borracha e plástico e rápida evaporação. Diferentemente de outros desinfetantes, o álcool mais concentrado ou absoluto não exerce maior poder de desinfecção. A água é necessária para a denaturação das proteínas e, portanto, a concentração ideal para a atividade microbicida é de 70%. O álcool não é esporicida à temperatura ambiente, no entanto é eficaz contra formas vegetativas de muitas bactérias e esporos de fungos.

✓ **Formaldeído**

A formalina, solução em água a 10% ou em álcool a 8%, é mais comumente utilizada como desinfetante, sendo bactericida, tuberculicida, fungicida e viruscida após exposição de 30 minutos e esporicida após 18 horas. Não pode ser utilizado como antisséptico, pois é corrosivo, tóxico, irritante de vias aéreas, pele e olhos.

✓ **Cloro**

O hipoclorito é indicado para desinfecção e descontaminação de superfícies e de artigos plásticos e borracha. Também é utilizado em superfícies de áreas como lavanderia, lactário, copa, cozinha, balcões de laboratório, banco de sangue, pisos etc. É um agente desinfetante de amplo espectro, barato, não tóxico dentro de suas especificações (utilizar equipamento de proteção individual como máscara, óculos, luvas e aventais). Em sua concentração de 10.000 ppm com aproximadamente 20 minutos de exposição, é considerado um desinfetante de alto nível. Os desinfetantes clorados também possuem ação rápida (5-10 min) e são econômicos, além de possuírem largo espectro de ação. Entretanto, não são esterilizantes e podem ser fotossensíveis e termossensíveis. A grande maioria é corrosiva e pode ser inativada por água e álcool.

Observações: Para a desinfecção de máscaras de nebulização é recomendado hipoclorito a 0,5%. O hipoclorito a 1% é indicado para limpeza de superfícies.

✓ **Iodo**

Além do uso como antisséptico, pode ser usado na desinfecção de vidros, ampolas, metais resistentes à oxidação e bancadas. A formulação pode ser de álcool iodado, contendo de 0,5 a 1,0 % de iodo livre em álcool etílico a 77% (v/v), que corresponde a 70% em peso ou iodóforos na concentração de 30 a 50 mg/L de iodo livre. A iodopovidona ou povidona-iodo (PVPI) pode ser utilizada na assepsia das mãos, regiões para injeção, campos cirúrgicos, etc. Não se recomenda o uso em mucosas (ex: boca, olhos, ânus).

✓ **Clorexidina**

O composto clorexidina (Hibiclens, Hibitane) é um complexo orgânico contendo cloro e anéis fenólicos. Seu mecanismo de ação ocorre nas duas membranas celulares pela diminuição da tensão superficial e da estrutura proteica através de desnaturação. Em concentrações moderado-altas é um bactericida para bactérias tanto gram-positivas quanto gram-negativas, porém ineficaz contra esporos. Sua ação em fungos e vírus é variável. A clorexidina tem vantagens sobre outros antissépticos devido seu caráter suave/benigno, baixa toxicidade, ação rápida e baixa absorção tecidual. É o antisséptico mais utilizado no controle de *Staphylococcus MRSA* (cepas bacterianas resistentes a antibióticos) em hospitais. Dentre as suas principais aplicações, destacam-se: degermação das mãos e antebraço da equipe; preparo da pele (pré-operatório e procedimentos invasivos); lavagem simples das mãos.

✓ **Triclosan**

Apresenta ação contra bactérias gram-positivas e a maioria das gram-negativas, exceto para a *Pseudomonas aeruginosa*, e apresenta pouca ação contra fungos. O triclosan pode ser absorvido através da pele íntegra, mas sem consequências sistêmicas relevantes. A sua ação antimicrobiana se faz num período intermediário e tem uma excelente ação residual. Sua atividade é minimamente afetada pela presença de matéria orgânica. O triclosan é encontrado em formulações de sabonetes em barra e líquidos e é um dos agentes utilizados na degermação de médicos cirurgiões em muitos hospitais.

ESTERILIZAÇÃO

Esterilização é o processo que promove completa eliminação ou destruição de todas as formas de micro-organismos presentes: vírus, bactérias, fungos, protozoários e esporos. O número, tipo e localização dos micro-organismos influenciam os processos de esterilização, bem como a presença de matéria orgânica, concentração, tempo de exposição e fatores físicos, como temperatura e umidade relativa.

O processo de esterilização é geralmente utilizado como um complemento mais eficaz para a eliminação de todas as formas de vida presentes nos materiais de laboratório, finalizando a limpeza de maneira eficaz.

Para tal, são utilizados agentes químicos, físicos e físico-químicos de acordo como o tipo de material laboratorial e sua resistência ao vapor ou calor. A esterilização física é feita por meio de autoclaves, radiação ultravioleta, flambagem, estufas, raios gama e pasteurizadoras. Já a esterilização química é obtida com aldeídos como glutaraldeído e formaldeído, ou com ácido peracético.

A escolha e organização dos métodos de desinfecção e esterilização deve ser baseada em recomendações de cunho científico e reconhecidas a nível nacional e internacional.

Sempre tenha em mente que:

Tudo que não pode ser esterilizado deve ser desinfetado.
Tudo o que pode ser esterilizado, não deve ser apenas desinfetado.

Métodos físicos de esterilização

✓ **Vapor**

O vapor quente sob pressão é o método mais usado para esterilização de materiais médico-hospitalares e materiais de laboratório. É não tóxico, de baixo custo e esporidica. Por esses motivos, deve ser usado para todos os itens que não sejam sensíveis ao calor e à umidade. O calor úmido destrói os micro-organismos por coagulação e desnaturação irreversível de suas enzimas e proteínas estruturais. Este tipo de processo é realizado em autoclaves. Autoclavação é o método mais antigo e eficiente de esterilização (sec. XVII).

A água aquecida em recipiente fechado, onde o vapor fica retido sob pressão, atinge a temperatura mais elevada do que seu ponto de ebulição, sem entrar em ebulição. Na autoclave o que realmente esteriliza é o calor úmido e não a pressão.

Na maior parte dos casos, os ciclos a seguir indicados assegurarão a esterilização de materiais corretamente dispostos na autoclave:

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

As principais vantagens deste método são a rapidez, a eficiência e o baixo custo. Apresenta como desvantagem, não permitir abertura da autoclave quando o ciclo de esterilização já foi iniciado.

✓ **Calor seco**

Método bastante empregado, mais barato e efetivo para instrumentos metálicos. Este método é recomendado apenas aos materiais sensíveis ao calor úmido. As principais vantagens estão na capacidade de penetração do calor e na não corrosão dos metais e dos instrumentos cortantes sendo, porém, um método que exige maior tempo de exposição para alcançar seus objetivos, agindo por oxidação dos componentes celulares.

Dentre as desvantagens do método, podemos citar:

- Falha pessoal: na marcação correta do tempo de esterilização.

- Abertura da estufa para colocação do material: a estufa requer tempo adicional para atingir novamente a temperatura de esterilização.
- Requer longo tempo de esterilização.
- Pequena penetração de calor.
- Pode descolorir ou queimar papel ou tecido.

Abaixo, alguns exemplos de temperatura e respectivo tempo de exposição necessário para uma esterilização efetiva:

Temperatura	Tempo
171°C	60 minutos
160°C	120 minutos
149°C	150 minutos
141°C	180 minutos
121°C	12 horas

✓ **Radiação ionizante**

É um método extremamente caro de esterilização, sendo muito utilizado para tecidos destinados a transplantes, drogas, entre outros. Sua principal desvantagem é, portanto, seu alto custo.

As vantagens do processo estão em permitir aos produtos serem tratados na sua embalagem de transporte, além dos prestadores de serviço possuírem irradiadores de grande porte, onde *pallets* inteiros são processados ao mesmo tempo sem a necessidade de desconfigurar a carga. Os produtos não necessitam retornar ao fabricante inicial para serem reembalados e podem ser despachados diretamente para o consumidor final reduzindo substancialmente os custos de logística.

✓ **Flambagem**

A flambagem ou incineração por calor seco é realizada com a chama de um bico de Bunsen (1100 – 1,870° C) ou vela (em média 1000° C). Dependendo do gás usado como combustível é eficaz na redução de micro-organismos e outras substâncias ao nível de cinzas e gás. A incineração de alças bacteriológicas, pinças, agulhas utilizando um bico de Bunsen é uma prática muito comum em laboratórios de microbiologia. Esse método é considerado rápido e efetivo, no entanto é limitado a metais e vidros resistentes ao calor. Uma desvantagem nesse método é que o gás resultante da queima pode conter partículas virais (ativas, ou não), bem como gases tóxicos resultantes da queima de certos materiais. Isto pode ser contornado utilizando máscaras ou cabines de segurança biológica.

O trabalho com o bico de Bunsen associado ao álcool 70% ou álcool absoluto (95% - 100%) é de grande utilidade. O procedimento é simples:

1. Mergulhar a alça na solução alcoólica;
2. Flambar a alça na chama (parte apical, mais azulada do bico, ou topo da vela) até incandescência;
3. Esfriar a alça antes de colocá-la em contato com material biológico;
4. Repetir o procedimento a cada troca de material biológico.

ATENÇÃO: Mantenha o recipiente com álcool longe do bico/vela. Tome bastante cuidado com a manipulação do fogo próximo ao álcool.

✓ **Radiação ultravioleta**

A radiação ultravioleta (UV) possui um comprimento de onda de aproximadamente 100 nm a 400 nm, sendo mais letal de 240 nm a 280 nm (com pico em 260 nm). Na prática cotidiana, a fonte de raios ultravioleta é a lâmpada germicida, que gera radiação a 254 nm.

A radiação ultravioleta não é tão penetrante quanto a radiação ionizante, pois passa livremente pelo ar, relativamente pela água, e muito pouco por sólidos; portanto os objetos a serem desinfetados necessitam estar diretamente expostos para ação completa. A radiação UV é absorvida pelo DNA, causando ligações anormais nas bases pirimidínicas e interferindo com a normal replicação e transcrição do DNA. Além das mutações genéticas, a radiação UV também gera substâncias tóxicas fotoquímicas conhecidas como radicais livres. É bastante eficiente na destruição de células e esporos de fungos, formas vegetativas de bactérias, protozoários e vírus. Os esporos bacterianos são 10 vezes mais resistentes que as bactérias em sua forma vegetativa, mas podem ser destruídos se o tempo de exposição for maior.

As principais desvantagens do método incluem a baixa penetração em materiais sólidos como vidro, tecidos, massas, meios difusos, objetos densos, de forma que os materiais precisam ser espalhados para que maior quantidade de luz possível incida sobre eles. Outro ponto negativo é que a radiação UV é prejudicial aos tecidos humanos, além de causar queimaduras, danos na retina, câncer e rugas na pele (envelhecimento celular).

É muito utilizado para desinfecção do ar, ambientes, alguns líquidos, redução de micro-organismos do ar, desinfecção de alimentos e água.

Dicas: As lâmpadas germicidas são de valor acessível, entretanto possuem uma vida-útil sendo necessária sua troca após um determinado período de utilização. Recomenda-se a instalação da lâmpada e, no momento de funcionamento, isolar o ambiente de pessoas e animais. O tempo de exposição varia com o nível de contaminação.

Métodos físico-químicos de esterilização

✓ **Vapor a baixa temperatura com formaldeído (VBTF) ou gás de vapor de formaldeído (FO)**

O vapor a baixa temperatura com formaldeído (VBTF) ou gás de vapor de formaldeído (FO) é uma alternativa à esterilização por óxido de etileno para a esterilização de equipamentos e materiais que não resistem a altas temperaturas. As vantagens são sua rapidez, ausência de resíduos tóxicos e fácil instalação. As desvantagens são a incompatibilidade com materiais sensíveis a umidade e sua toxicidade, sendo considerado potencialmente cancerígeno e mutagênico.

✓ **Plasma de peróxido de hidrogênio**

Esse método usa peróxido de hidrogênio como precursor de plasma. O plasma, que é considerado como um quarto estado da matéria, diferente do líquido, sólido e gasoso, é composto por íons reativos, elétrons e partículas atômicas neutras. As vantagens do método são a ausência de resíduos tóxicos, fácil instalação, rapidez do processo e compatibilidade com materiais sensíveis a umidade. As desvantagens são o reduzido poder de penetração, a impossibilidade de esterilizar materiais derivados da celulose, e a necessidade de emprego de pacotes especiais sem celulose em sua composição.

Métodos químicos de esterilização

✓ **Glutaraldeído 2%, formaldeído alcoólico 8% e formaldeído aquoso 10%**

Para realização destes métodos, é utilizada a técnica de imersão em recipiente plástico fechado. Para desinfecção são necessários 30 minutos de imersão e para esterilização, 10 horas. A solução perde a sua capacidade germicida com o uso e começa a se contaminar. Após o tempo de imersão, os materiais devem ser lavados com água estéril ou álcool 70% (apenas para uso imediato). Deve ser utilizado apenas quando o método físico (estufa / autoclave) não for possível.

As principais desvantagens do método são:

- corrosão dos instrumentos;
- odor das soluções;
- poder irritante das soluções (usar pinças e luvas);
- descoloração das superfícies.

✓ **Óxido de etileno**

O óxido de etileno é quase que exclusivamente utilizado para esterilização de equipamentos que não podem ser autoclavados. A efetividade do processo depende da concentração do gás, da temperatura, da umidade e do

tempo de exposição. É bastante utilizado em clínicas, hospitais e instituições. O ciclo aproximado de esterilização é de 8 horas, variando com a temperatura ambiente. Age por alcalinização de proteínas, DNA e RNA. As desvantagens para sua aplicação são o tempo necessário para efetivar o processo, o custo operacional e os possíveis riscos aos pacientes e aos profissionais envolvidos. Apresenta potencial carcinogênico e mutagênico, genotoxicidade, podendo atingir sistema reprodutor e nervoso e, ainda, causar sensibilização dos profissionais envolvidos no processo, devendo haver supervisão médica constante nos mesmos.

Controle de qualidade dos processos de esterilização

Para o monitoramento e validação dos processos de esterilização, tanto realizados com estufas quanto autoclave a vapor, podem ser utilizados marcadores físicos, marcadores químicos e testes biológicos.

Os marcadores físicos são aqueles encontrados em fitas adesivas específicas para esterilização a vapor ou calor seco (que ficam listradas após a esterilização), ou papéis de embalagem com marcadores específicos (que mudam de cor após a esterilização). Seu uso é recomendado em todos os pacotes ou caixas, uma vez que indicam pelo menos se o material passou pelo processo. As fitas adesivas marcadoras são distintas para estufa e para autoclave a vapor. Outro método físico de monitoramento de esterilização, específico para estufas, são os termômetros, que devem ser colocados dentro da estufa, para controle da temperatura. Os termostatos e relógios que se encontram na parte externa da estufa nem sempre representam uma real avaliação do processo.

Os métodos químicos consistem em pequenas tiras ou pedaços de papel, contendo um componente químico, que se alastra pelo papel ou modifica sua coloração, tornando o papel 'marcado' após o processo. É recomendada a colocação desses marcadores dentro dos pacotes, com periodicidade sistematicamente estabelecida (em cada ciclo de esterilização, diariamente ou semanalmente). Representam maior segurança em relação aos métodos físicos.

Os testes biológicos são, sem sombra de dúvida, aqueles que fornecem maior segurança em relação à qualidade de esterilização. Consistem na colocação de micro-organismos vivos dentro da autoclave e seu posterior cultivo, para controle de sua eliminação. Os bacilos utilizados para esterilização a vapor são *Bacillus stearothermophilus* e para esterilização por calor seco são *Bacillus subtilis*. Alguns testes comerciais de fácil verificação (cuja cor do meio de cultura se altera na presença do bacilo vivo) já podem ser utilizados por profissionais não especialistas em microbiologia. Estes testes fornecem resultados em 48 horas, pelo método tradicional, e em apenas 6 horas,

através de método rápido. As recomendações quanto à periodicidade de realização desses testes biológicos variam de acordo com a legislação de cada estado ou país. As recomendações americanas, por exemplo, indicam periodicidade semanal. As recomendações canadenses são de periodicidade mensal, enquanto as recomendações nos diferentes estados brasileiros nem sempre estabelecem essa periodicidade.

As autoclaves a vapor também devem sofrer um processo de validação, por meio da realização de testes biológicos em todos os pontos internos da máquina, antes de sua primeira utilização e após cada manutenção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ Associação Paulista de estudos e controle de infecção hospitalar. Esterilização de artigos em unidades de saúde. 2a ed. revisada e ampliada. São Paulo: Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar; 2003.
- ✓ BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Departamento de Assistência e Promoção à Saúde. Coordenação de controle de Infecção Hospitalar. Processamento de artigos e superfícies em estabelecimentos de Saúde. 2a ed. Brasília: Ministério da Saúde; 1994.
- ✓ Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Orientações gerais para Central de Esterilização. Brasília; Ministério da Saúde; 2001. (Série A Normas e Manuais Técnicos, No. 108).
- ✓ Rutala, WA. APIC guideline for selection and use of disinfectants. Am J Infect Control.1996;24:313-42.
- ✓ Kalil, EM; Costa, AJF. Desinfecção e esterilização. Acta Ortop Bras 2(4) (1994).
- ✓ Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies. – Brasília: Anvisa, 1a ed. 2010.

ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

ASPECTOS ÉTICOS

Por muito tempo, a ciência viveu sob a influência filosófica de René Descartes, que acreditava que os animais eram incapazes de sentir ou sofrer, uma vez que não tinham alma. Com a teoria da evolução, Charles Darwin ajudou a demonstrar que o ser humano é um animal e, portanto, as preocupações morais para com os seres humanos deveriam se estender aos animais.

Em 1959, Willian Russell e Rex Burch, por meio da publicação dos Princípios das Técnicas Experimentais Humanas (The principles of Humane Experimental Technique) difundem o Princípio dos 3Rs. O princípio dos 3Rs (Reduction, Refinement, Replacement) tem por objetivo diminuir o número de animais utilizados na pesquisa, minimizar a dor e o desconforto e buscar alternativas, além de fomentar a substituição dos testes in vivo. Esta publicação estimulou a fundação do Fundo para Alternativas ao Uso de Animais em Experimentação (FRAME, UK), em 1969, com o objetivo de selecionar novas técnicas para a substituição dos animais em pesquisas.



“O problema não consiste em saber se os animais podem raciocinar; tampouco interessa se eles falam ou não; o verdadeiro problema é este: podem eles sofrer?”
(BENTHAM, Jeremy. An Introduction to the Principles and Morals and Legislation, 1789)

REPLACEMENT / SUBSTITUIÇÃO

O princípio da substituição refere-se a qualquer método científico capaz de substituir o uso de animais vertebrados vivos por materiais sem sensibilidade ou por animais com sistema nervoso menos desenvolvido. Representa a utilização de modelos alternativos de investigação.

Segundo o Fundo de Alternativas ao Uso de Animais em Experimentação (FRAME), os métodos alternativos podem ser:

- Uso de pesquisa bibliográfica visando a compilação de resultados pré-existentes;
- Uso de modelos matemáticos e computacionais, simulando processos fisiológicos;

- Uso de técnicas físico-químicas mimetizando funções biológicas;
- Uso de técnicas *in vitro*;
- Acompanhamento de humanos pós-comercialização de drogas e compilação de dados epidemiológicos.

É importante apontar que a substituição apresenta duas direções: a substituição total e a substituição parcial.

A substituição total não utiliza animal em nenhuma das etapas do experimento. Como exemplo podemos citar a utilização de sistemas físico-químicos que mimetizam funções biológicas e a simulação de processos fisiológicos utilizando programas de computadores.

A substituição parcial utiliza animais em alguma etapa da pesquisa, embora exista uma redução expressiva do número de animais usados. Como exemplo de substituição parcial é possível citar pesquisas que utilizam células de animais, que por sua vez são mantidas em cultivo, para utilização em ensaios de toxicidade que antes eram realizados diretamente nos animais.

REDUCTION / REDUÇÃO

Redução é a capacidade de obter melhor qualidade da informação, usando um número menor de animais. Podem ser citados como métodos de redução:

- Tratamentos estatísticos: experimentos baseados em cálculos experimentais para definir o melhor número amostral que proporcionam a geração de resultados mais confiáveis e evitam o uso desnecessário de animais.
- Escolha da espécie ou linhagem: definir a linhagem mais apropriada para o experimento que se deseja realizar, possibilitando a redução do número de animais utilizados. Nas diferentes linhagens existem variações intrínsecas que podem influenciar a qualidade dos dados obtidos, bem como o número de animais utilizados. O uso de linhagens isogênicas, isto é, com homozigose de alelos próxima de 98,6% diminuem o fator da variabilidade genética.
- Realização de estudos-piloto: permitem verificar a viabilidade do experimento e estimar qual seria o efeito do estudo para fins de cálculo do n amostral.
- Estimular o uso de animais de boa procedência: qualidade genética, sanitária e ambiental dos animais possibilita uma dispersão menor dos resultados e, portanto, diminuição do número de animais utilizados.

REFINEMENT / REFINAMENTO

O refinamento compreende todas as modificações feitas no protocolo de pesquisa capazes de reduzir a incidência ou a gravidade do medo, dor e desconforto dos animais durante as situações experimentais. Segundo o FRAME, refinamento é qualquer alteração de procedimento capaz de minimizar a dor ou sofrimento do animal desde o seu nascimento até sua morte.

Como exemplos de métodos de refinamento temos:

- Educação e treinamento: é importante que a equipe envolvida no experimento esteja treinada a conhecer a biologia e os hábitos do animal, as técnicas de contenção adequadas para cada espécie, as metodologias mais adequadas, tais como tamanho das agulhas, adjuvantes, o grau de irritação que estes podem provocar ao animal, com que frequência os animais podem ser manipulados, entre outros.
- Procedimentos experimentais: uso de métodos anestésicos e analgésicos no pré, trans e pós-operatório, análise prévia detalhada dos procedimentos experimentais, adequação de fármacos ao modelo do estudo, realização de cirurgias de forma asséptica, evitando infecções, cuidados pós-cirúrgicos adequados, entre outros.
- Enriquecimento ambiental: evidências científicas demonstram que modificações no ambiente dos animais podem resultar em benefícios, não só para o bem estar do animal, como também para o melhor desenvolvimento de suas funções biológicas.

LEI AROUCA

A aprovação da Lei Arouca (Lei no 11.794) em 8 de outubro de 2008, com consequente estabelecimento do CONCEA, iniciou uma nova fase na regulamentação da utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa científica no Brasil.

Você sabe quem foi Sergio Arouca?

Sérgio Arouca nasceu na cidade Ribeirão Preto (SP) em 1941. Formou-se médico em 1966 e se dividia entre plantões e trabalhos no combate à doença de Chagas. Sempre defendeu o acesso de toda população às informações científicas. Foi presidente da Fundação Oswaldo Cruz e abriu as portas da instituição para a sociedade. Acreditava que os cientistas deviam participar da vida social e divulgar para a imprensa suas atividades, muitas vezes financiadas pelos impostos dos próprios cidadãos.

Um dos pilares da Lei Arouca é o princípio dos 3Rs, difundido por Willian Russell e Rex Burch, em 1959. Nesta lei, são estabelecidos os princípios para o uso científico e didático de animais.

A Lei Arouca estabelece:

- No CAPÍTULO II-Art. 4o- Fica criado o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.
- No CAPÍTULO III-Art. 8o- É condição indispensável para o credenciamento das instituições com atividades de ensino ou pesquisa com animais a constituição prévia de Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUA).

Em 2016, o CONCEA, por meio de uma resolução normativa, publica a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), contendo as instruções para a produção, manutenção e utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica.

Segundo a DBCA, "Atividades científicas ou didáticas que façam uso de animais não podem ser iniciadas antes da aprovação formal da CEUA da instituição em que os animais estarão sob análise experimental, ou das CEUAs quando os animais a serem utilizados estiverem localizados em mais de uma instituição".

Art. 2º A CEUA tem por finalidade analisar, emitir e expedir certificados sobre os protocolos de ensino e pesquisa que envolvam o uso de animais.

§1º Entende-se, para efeitos deste Regimento, por animais, qualquer vertebrado vivo e não humano.

§2º A Comissão desempenhará papel consultivo e educativo, estimulando a reflexão em torno da ética na ciência.

Para maiores informações, acesse o site da CEUA/UNIFESP e o "Guia Prático da legislação vigente sobre experimentação animal CEUA/UNIFESP".

MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS DE LABORATÓRIO

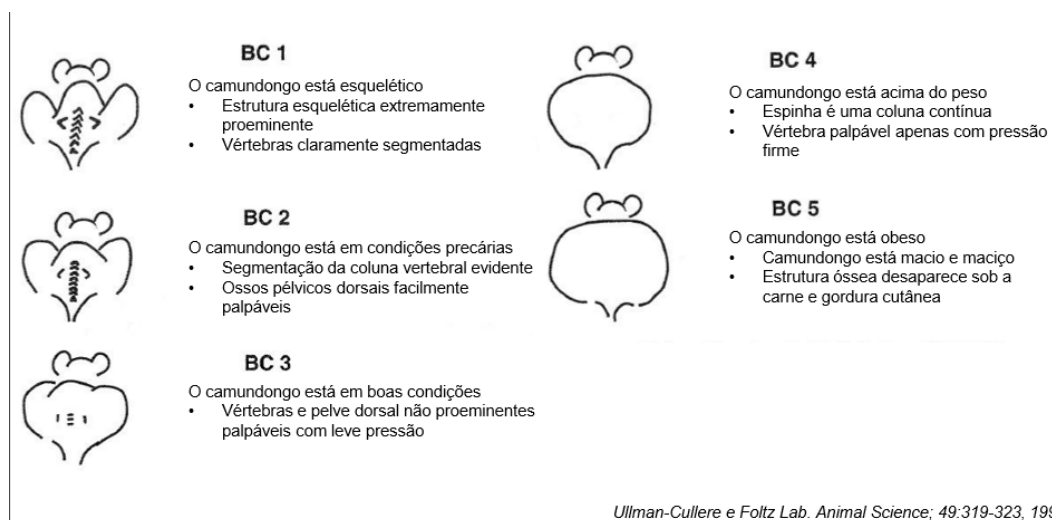
A fim de obter confiabilidade e reprodutibilidade dos resultados é essencial que os animais de laboratório apresentem boas condições de saúde. Neste caso, o animal de laboratório é o principal elemento na pesquisa e a sua saúde e bem-estar devem ser assegurados.

Vários fatores orgânicos e ambientais podem interferir com a saúde animal, como condições sanitárias (higiene), alimentação, água, luz, ruído ambiental, entre outros. É fundamental que sejam realizadas avaliações diárias das colônias de animais, identificando comportamentos sociais anormais e avaliando o estado de saúde dos animais que vai desde análise clínica até métodos diagnósticos.

Diversos fatores podem influenciar a homeostase dos animais de laboratório:

- Fatores intrínsecos: Predisposição genética, sexo, idade, sensibilidade individual e estado de saúde.
- Fatores extrínsecos: Alterações no ambiente e luminosidade, acesso à água e comida, desconforto, dor, barulho, manuseio inadequado.
- Fatores dietéticos: Qualidade da ração e água, disponibilidade de água e alimento.
- Fatores experimentais: Odor dos manipuladores, estímulos (ruídos, contenção física, administração de drogas).

Fique atento aos parâmetros estipulados na Escala de Condição Corpórea a fim de identificar possíveis alterações nos animais de experimentação.



ALOJAMENTO

Os animais de pesquisa passam mais de 95% de suas vidas em alojamentos, que são responsáveis por grande impacto no seu bem-estar. O sofrimento causado pelo alojamento incorreto pode superar em muitas vezes o causado pelos procedimentos experimentais.

Portanto, é fundamental:

- Respeitar o número máximo de animais por gaiola/caixa;
- Checar diariamente a disponibilidade de água e ração;
- Trocar pelo menos 2 vezes por semana o material utilizado como forração, que deverá absorver a urina e servir de esconderijo para os animais.
- Manter temperatura, luminosidade, umidade e sons controlados.

Evidências demonstram que modificações no ambiente dos animais podem resultar em benefícios, não só para o bem-estar do animal, como também para o melhor desenvolvimento de suas funções biológicas. O enriquecimento ambiental pode ser feito por dispositivos artificiais, controle ambiental, entre outros.

MANIPULAÇÃO DOS ANIMAIS

Para os animais, a manipulação é um procedimento que gera estresse. Já foi comprovado cientificamente o aumento dos níveis de corticosterona em ratos quando manipulados (PITMAN et al., 1990).

Os animais devem ser manuseados cuidadosamente, de maneira firme e gentil, a fim de assegurar o seu bem-estar e a confiabilidade dos resultados. Portanto, é muito importante que o operador receba treinamento adequado, aja sempre com calma e mantenha silêncio durante a manipulação animal.

O ritmo circadiano dos animais deve ser respeitado.

É fundamental o uso de luvas durante o manuseio, evitando o contato direto com fezes e urina dos animais e impedindo a disseminação de agentes contaminantes. As luvas devem ser descartadas após o uso.

IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS

A identificação do animal, quando necessária, deverá ser feita por meio de métodos indolores. Métodos temporários deverão ser aplicados utilizando tintas não tóxicas. Se for necessária a utilização de métodos permanentes (tatuagem, brincos, código através de perfuração na orelha) deve-se respeitar as especificidades de cada espécie.

Todas as gaiolas/caixas devem estar devidamente identificadas. As seguintes informações são consideradas essenciais para animais em experimentação:

- 1- Nome do Departamento
- 2- Instituição
- 3- Número da gaiola/caixa;
- 4- Espécie e linhagem;
- 5- Quantidade, sexo e data de nascimento dos animais;
- 6- Data do início e término do experimento;
- 7- Identificação do experimento;
- 8- Identificação e contato do pesquisador responsável;
- 9- Restrições ou tratamentos especiais.

TRANSPORTE DOS ANIMAIS

O transporte de animais intracampus e intercampus é de responsabilidade do pesquisador principal e deve ser realizado de forma segura, higiênica e confortável,

garantindo o bem estar animal, evitando o estresse e respeitando o número máximo de animais por gaiola/caixa de acordo com a espécie.

Procure realizar o transporte em horários com climas mais amenos, evitando períodos de sol intenso, chuva, etc.

As gaiolas/caixas devem estar bem fechadas para evitar fugas e o bebedouro deve estar voltado para cima, a fim de evitar que os animais se molhem, bem como a forração da gaiola.

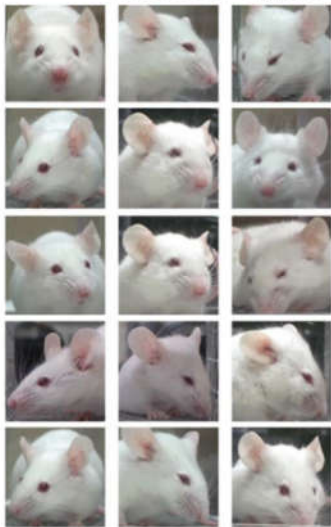
DETECÇÃO DE DOR E ESTRESSE

É de fundamental importância saber reconhecer sinais de dor e/ou estresse nos animais de experimentação e determinar a natureza e gravidade destes fenômenos. Fique atento quando observar as seguintes condições:

- Alterações em parâmetros bioquímicos, hematológicos e hormonais;
- Alterações cardiovasculares, respiratórias, digestivas e comportamentais;
- Alterações de temperatura;
- Piloereção;
- Diminuição do consumo de alimento e água com consequente perda de peso;
- Diminuição da atividade;
- Isolamento;
- Postura arqueada;
- Movimentos estereotipados.

A Escala Grimace de expressão de dor também deve ser aplicada para identificar o sofrimento animal.

AUSENTE MODERADO GRAVE



Estreitamento dos olhos

Dilatação nasal

Saliência das bochechas

Movimentação das orelhas para trás e para frente

Mudanças nas vibrissas

Langford et al. Nature Methods 7:447:449, 2010

Fique atento aos sinais enumerados acima e quando forem realizados procedimentos invasivos ou que impliquem em dor, sempre faça uso de substâncias anestésicas e/ou analgésicas no animal de experimentação. O tipo de anestesia a ser adotado dependerá do grau de invasividade do procedimento a ser realizado. Para mais informações, consulte o “Guia de anestesia e analgesia em animais de laboratório” da CEUA.

PONTO FINAL HUMANITÁRIO (ENDPOINTS)

O ponto final humanitário é o momento no qual a dor, desconforto ou sofrimento de um animal é evitado, terminado ou reduzido por ações como:

- ✓ Adoção de tratamento para aliviar a dor, o desconforto ou o sofrimento;
- ✓ Interrupção de um procedimento doloroso;
- ✓ Exclusão do animal do estudo;
- ✓ Morte humanitária do animal.

Os principais critérios utilizados para a execução do ponto final humanitário são:

- Perda de peso (15-20%)
- Desidratação
- Fraturas
- Ulceração de feridas
- Dificuldade de respiração e/ou movimentação
- Incapacidade de subir na gaiola dificultando acesso à água e alimento
- Aumento do tamanho do tumor

O pesquisador deverá ter conhecimento prévio do modelo experimental utilizado e, portanto, determinar as medidas que assegurem o bem estar animal e o ponto final humanitário.

EUTANÁSIA

Eutanásia, do grego “eu”–bom e “thanatos”–morte, constitui todo procedimento cujo fim propicie a finalização humanitária dos animais de experimentação, com mínimo de dor, sofrimento ou ansiedade.

Neste caso, a eutanásia se justifica, para o bem do próprio indivíduo, em casos de dor ou sofrimento, a partir de um determinado nível, que não podem ser mitigados de imediato, com analgésicos, sedativos ou outros métodos ou quando o estado de saúde ou bem-estar do animal impossibilite o tratamento ou socorro (§1º do art. 14 da Lei nº 11.794, de 2008).

Um método adequado de eutanásia deve:

1. Tratar o animal com o máximo de respeito;
2. O manejo pré-eutanásia deve ser baseado nas características comportamentais de cada espécie, no sentido de minimizar o risco de ansiedade, dor ou lesões, antes da perda da consciência;
3. O método deve ser selecionado para que a morte ocorra com mínimo de dor e sofrimento físico e mental;
4. O método de eutanásia deve produzir imediata perda da consciência, seguido de parada respiratória e cardíaca e perda da função cerebral;
5. O método de eutanásia deve ser apropriado para a espécie, idade e estado de saúde do animal;
6. Deve-se confirmar a morte após a eutanásia e antes do descarte do cadáver;
7. As pessoas envolvidas na eutanásia devem ser treinadas e capacitadas para realizar o método de forma efetiva e humanitária, reconhecer a dor e o sofrimento nas espécies em que atua, reconhecer e confirmar a inconsciência e morte do animal;
8. Ao selecionar um método de eutanásia, deve-se levar em consideração o impacto psicológico do pessoal envolvido, mas a prioridade é sempre o bem-estar do animal;
9. As Comissões de Ética das Instituições de Ensino e Pesquisa são responsáveis pela aprovação ou não do método de eutanásia em todas as pesquisas e aulas que envolvam o uso de animais;
10. Deve-se consultar profissional(is) com experiência na área e nos grupos taxonômicos em questão, para selecionar o melhor método de eutanásia, particularmente, se houver pouca informação para a espécie animal envolvida; ou no caso de Biotérios, de acordo com a Resolução Normativa no 6, de 10 de julho de 2012, os procedimentos de eutanásia devem ser supervisionados, mesmo que não de forma presencial, pelo

Responsável Técnico pelo Biotério, que deve ter o título de Médico Veterinário com registro ativo no Conselho Regional de Medicina Veterinária da Unidade Federativa em que o estabelecimento esteja localizado.

11. Quando do uso de anestésicos inalatórios, as condições devem ser bem controladas e o equipamento submetido à manutenção e calibração regulares;

12. Como forma de se assegurar que o procedimento seja realizado de forma eficiente e humanitária, sempre que possível, deve-se realizar um rodízio entre profissionais treinados para este fim.

Métodos de eutanásia

Os agentes usados para a eutanásia podem ser divididos nas seguintes categorias:

Químicos injetáveis: Dentre os agentes químicos injetáveis disponíveis, podemos citar: Xilazina, Cetamina, KCl, pentobarbital, tiopental, entre outros. Quando bem empregados, os anestésicos injetáveis constituem o método mais rápido e confiável para eutanásia. Para sobredose anestésica, geralmente utiliza-se 3 vezes a dose necessária para alcançar o plano anestésico. O uso de barbitúricos é o mais amplamente aceito. Atuam depressindo o Sistema Nervoso Central e causam parada cardiorespiratória. São capazes de levar a eutanásia rapidamente com mínimo desconforto. Exemplos: Pentobarbital sódico, Tiopental. De acordo com as Diretrizes Práticas de Eutanásia do CONCEA, a utilização de cloreto de potássio deve ser precedida de anestesia geral sendo sua utilização isolada considerada inaceitável.

Químicos inalatórios: Os agentes químicos inalatórios mais utilizados são: halotano e isoflurano. Os agentes inalatórios devem ser utilizados em aparelhos apropriados como em câmaras nas quais a sua liberação é controlada e adequada. Neonatos são mais resistentes a ação dos agentes inalatórios sendo, portanto, necessário a associação com outro método de eutanásia. São de fácil administração.

Físicos: Os métodos físicos mais utilizados são decapitação, deslocamento cervical e hipotermia. Devem causar perda de consciência imediata através de trauma físico e precisam ser executados somente por pessoas treinadas e capacitadas. De acordo com as Diretrizes Práticas de Eutanásia do CONCEA, o deslocamento cervical e a decapitação sem anestesia prévia são classificados como métodos restritos e, portanto, só poderão ser utilizados quando os métodos químicos interferirem no resultado do experimento.

A eutanásia não se limita apenas ao momento da morte. Todo o processo desde o alojamento dos animais à contenção física deve ser cuidadoso para minimizar ao máximo o sofrimento, o medo, a ansiedade e a apreensão. A escolha do método de eutanásia depende da espécie animal envolvida, da idade do animal, dos meios de contenção disponíveis, da habilidade do executor que realizará o procedimento, do

número de animais a serem submetidos à eutanásia e do objetivo do protocolo. Antes de escolher o método de eutanásia, consulte as Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA que contém os métodos de eutanásia de acordo com a espécie, sendo classificados como "recomendados", "aceitos com restrições" ou "inaceitáveis".

Não deixe de observar com atenção os métodos de eutanásia aceitos sob restrição e não aceitos para roedores.

Métodos de eutanásia aceitos sob restrição
Utilização de câmara de CO ₂
Decapitação sem anestesia prévia
Deslocamento cervical sem anestesia prévia

Métodos de eutanásia NÃO ACEITOS
Exsanguinação sem inconsciência prévia
Hipotermia em roedores adultos
Embolismo gasoso
Uso de agentes que levam à morte por hipóxia (asfixia)
Uso de cloreto de potássio sem anestesia geral prévia
Clorofórmio ou Éter
Hidrato de cloral
Afogamento

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ BRASIL, Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Normativas do CONCEA para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica. 3o ed., 2016.
- ✓ BRASIL, Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Diretrizes da prática de eutanásia do CONCEA. 2011
- ✓ Langford DJ, Bailey AL, Chanda ML, Clarke SE, Drummond TE, Echols S, Glick S, Ingrao J, Klassen-Ross T, Lacroix-Fralish ML, Matsumiya L, Sorge RE, Sotocinal SG, Tabaka JM, Wong D, van den Maagdenberg AM, Ferrari MD, Craig KD, Mogil JS. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. Nat Methods. 2010; 7(6):447-9.

- ✓ Ullman-Culleré MH, Foltz CJ. Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice. *Lab Anim Sci.* 1999; 49(3):319-23.
- ✓ Miller AL, Flecknell PA, Leach MC, Roughan JV. A comparison of a manual and an automated behavioural analysis method for assessing post-operative pain in mice. *Appl Anim Behav Sci.* 2011; 131(3-4): 138-144.

TRANSPORTE DE MATERIAL BIOLÓGICO

INTRODUÇÃO

A maioria das atividades de transporte de material biológico no Brasil envolve a rotina de trânsito de amostras entre laboratórios, hospitais, clínicas e centros de pesquisas. Esse transporte pode ser realizado dentro de uma instituição (intrainstitucional) ou entre diferentes instituições (interinstitucional) na mesma cidade, podendo também ser direcionado para outros estados e países.

Durante o transporte destes materiais, podem ocorrer situações de risco, considerando a natureza do material transportado e as possíveis consequências, em caso de acidentes, durante o deslocamento. A fim de minimizar os riscos, é importante que o material apresente documentação contendo a indicação do que está sendo transportado, bem como os procedimentos para controle dos agentes e do material biológico em trânsito, da origem até o destino final.

Veja a seguir todos os procedimentos para realização do transporte terrestre e aéreo de materiais biológicos definidos pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 20/2014 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), além das normas de outros órgãos reguladores do setor de transporte, tais como a Agência Nacional de Aviação Civil (ANAC), a Agência Nacional de Transportes Terrestres (ANTT), o Conselho Nacional de Trânsito (Contran) e outros.

CLASSIFICAÇÃO

De acordo com a classificação internacional, produtos perigosos são aqueles que apresentam riscos durante o transporte. Existem nove classes de materiais perigosos e três delas são importantes para o transporte de material biológico.

Classe 2: Gases

Subclasse de risco 2.2
Não inflamáveis e não tóxicos
Exemplo: nitrogênio, líquido refrigerado (UN 1977)



Classe 6: Substâncias tóxicas e substâncias infectantes

Subclasse de risco 6.2
Substâncias infectantes
Substâncias infectantes da categoria A
Substâncias infectantes da categoria B



Classe 9: Substâncias e artigos perigosos diversos
Exemplo: gelo seco (UN 1845)



Para fins de transporte, entende-se por substâncias infecciosas ou infectantes os materiais biológicos que se sabe ou se suspeita, de forma fundamentada, que contenham agentes patógenos, ou seja, que contenham patógenos ou estejam sob suspeita razoável de contê-los. Os agentes patógenos são microrganismos (tais como bactérias, vírus, rickettsias, parasitas e fungos) e outros agentes, tais como príons, que podem causar enfermidades nos animais e nos seres humanos.

Para fins de transporte, entende-se por substâncias infecciosas ou infectantes os materiais biológicos que se sabe ou se suspeita, de forma fundamentada, que contenham agentes patógenos, ou seja, que contenham patógenos ou estejam sob suspeita razoável de contê-los. Os agentes patógenos são microrganismos (tais como bactérias, vírus, rickettsias, parasitas e fungos) e outros agentes, tais como príons, que podem causar enfermidades nos animais e nos seres humanos.

Para efeito de transporte, as substâncias infecciosas são divididas em duas categorias, além de receber uma numeração específica precedida pela sigla UN (United Nations):

- Categoria A: substâncias infecciosas que podem causar incapacidade permanente, com risco de morte ou doença fatal em humanos saudáveis ou animais, caso ocorra exposição durante o transporte. São classificados como UN 2814 (quando afeta humanos, como *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum* e *Mycobacterium tuberculosis*) ou UN 2900 (afeta apenas animais, como *Mycoplasma mycoides* e os vírus da gripe suína e aviária); e

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

NORMAS DE TRANSPORTE

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

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

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

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

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

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

ACONDICIONAMENTO PARA TRANSPORTE

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

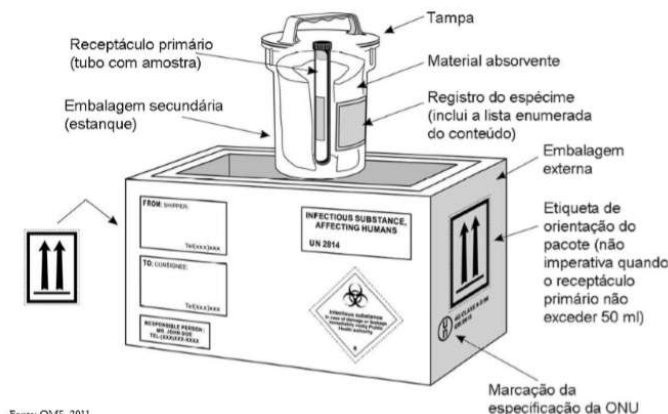
Substância Categoria A

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

Embalagem primária: recipiente rotulado, resistente, rosqueável, à prova de vazamento, que conterá o produto a ser transportado;

Embalagem secundária: compartimento no qual será acondicionado o recipiente primário. Deve também ser estanque e à prova de vazamento. Recomenda-se preencher, com material absorvente, todos os espaços entre o recipiente primário e as paredes do secundário; e

Embalagem externa: último compartimento (externo), no qual será acondicionado o recipiente secundário. Deve ser resistente e proteger o conteúdo de influências externas como da exposição à água e danos físicos durante o transporte. Este sistema de embalagem é recomendado sempre que houver a necessidade de transporte do material biológico, seja entre diferentes prédios dentro de uma mesma instituição, ou entre diferentes laboratórios em um mesmo município, no transporte intermunicipal, interestadual e internacional. A embalagem externa deve conter a simbologia internacional para indicar o tipo de substância transportada e a posição obrigatória da caixa de transporte.



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

- ✓ Nome e endereço do remetente.
- ✓ Nome e endereço do destinatário.
- ✓ Nome e número de telefone da pessoa responsável (que deverá ficar em prontidão 24 horas por dia, até a remessa chegar). Esta pessoa deve ser capaz de fornecer informações técnicas sobre o material biológico transportado.
- ✓ Designação correta da remessa (nome apropriado para transporte: substância infecciosa que afeta seres humanos).
- ✓ Código numérico da ONU (ex: UN 2814).

- ✓ Marca de embalagem homologada (ANAC)/certificada (Inmetro – ANTT).
- ✓ Setas de orientação (obrigatórias somente quando a embalagem primária contiver mais de 50 mL).

Substância Categoria B

É um material biológico infeccioso ou potencialmente infeccioso que não se enquadra nos critérios de inclusão na categoria A.

Na categoria B estão incluídas as amostras para diagnóstico clínico que se sabe ou se suspeita que contenham agentes infecciosos causadores de doenças em humanos, como amostras de pacientes com suspeita de estarem infectados com microrganismos patogênicos ou amostras conhecidamente positivas/reativas.

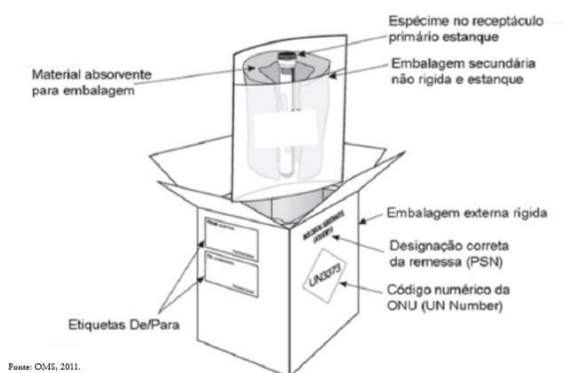
Atenção! As culturas que têm como objetivo a reprodução de agentes microbiológicos podem ser classificadas como categoria A ou B, dependendo do microrganismo cultivado. O material biológico classificado nesta categoria deve receber a marcação UN 3373.

O sistema de embalagens deve ser constituído por três componentes:

Embalagem(ns) primária(s): recipientes que entram em contato direto com o material biológico; podem ser fabricados com vidro, plástico, metal e outros. Ex.: tubos de coleta;

Embalagem secundária: com capacidade para envolver e conter a(s) embalagem(ns) primária(s). Pode ser constituída por saco plástico, saco plástico tipo bag, caixa de PVC, metal e outros;

Embalagem externa: recipientes com rigidez adequada. Pode ser constituída por papelão, PVC, metal e outros. No transporte terrestre, uma das embalagens – secundária ou externa – deve ser rígida. Já para o transporte aéreo, a embalagem externa deve ser obrigatoriamente rígida.



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

- ✓ Nome e endereço do remetente e do destinatário.
- ✓ Nome e número de telefone da pessoa responsável (que deverá ficar em prontidão 24 horas por dia, até a remessa chegar) pelo conteúdo transportado, fornecidos em um documento escrito ou inscritos na embalagem externa.
- ✓ Classificação correta do material que será transportado: substância biológica da categoria B.
- ✓ Código numérico da ONU (UN 3373).
- ✓ Se for utilizado gelo seco como material refrigerante, a etiqueta de risco da Classe 9 deve ser sempre afixada na embalagem externa.

DOCUMENTAÇÃO

Substância Categoria A

O expedidor e/ou transportador de material infeccioso da categoria A deve preencher documentos e formulários específicos relacionados aos artigos/produtos perigosos que serão exigidos para embarque/despacho deste tipo de material.

Para o transporte terrestre (resoluções e outros dispositivos da ANTT), os documentos devem conter:

- ✓ Endereço completo do destinatário e nome e número do telefone de um responsável pelas informações técnicas do material biológico.
- ✓ Informações que identifiquem o veículo ou modo de transporte a ser utilizado, a data da realização do transporte e o nome dos aeroportos, das estações de transbordo e dos locais de descarga.
- ✓ Advertências apropriadas, quando necessário, como por exemplo: “Manter resfriado entre +2°C e +4°C” ou “Manter congelado” ou “Não congelar” ou outras advertências.

Para o transporte aéreo (normas da Anac), os documentos devem conter:

- ✓ Conhecimento de Transporte Eletrônico (CTe) para transporte doméstico ou Air Waybill (AWB) para transporte internacional.
- ✓ Declaração do Expedidor de Artigos Perigosos (Dangerous Goods Declaration – DGD).
- ✓ Notificação ao Comandante (Notification to Captain – Notoc);
- ✓ Lista detalhada do conteúdo colocado entre a embalagem secundária e a embalagem externa.
- ✓ Certificado de Conformidade original da embalagem, emitido pelo fabricante.
- ✓ Documento de aprovação da Anac, para as embalagens nacionais, ou documento da embalagem aprovada por outra autoridade de aviação civil ou órgão competente para tal aprovação, para as embalagens importadas.

Para fins de documentação, o nome apropriado para transporte (substância infecciosa que afeta seres humanos) deve vir acompanhado do nome técnico (identificação do microrganismo) entre parênteses.

Substância Categoria B

Trata-se de documentos fiscais da carga a ser transportada. A RDC 20/2014 estabelece que o material biológico deve ser transportado com documentação que permita a rastreabilidade da expedição/carga transportada. Assim, qualquer documento fiscal que assegure a origem (remetente) e o destino (destinatário) do material que está sendo transportado, juntamente com as etiquetas de identificação de risco da carga, facilitará a rastreabilidade e a segurança do material.

Para o transporte aéreo (normas da Anac), os documentos devem conter:

- ✓ O transporte de substância biológica da categoria B necessita do CT-e para transporte doméstico ou do AWB para transporte internacional.

Para o transporte terrestre (resoluções e outros dispositivos ANTT), os documentos devem conter:

- ✓ Endereço completo do destinatário e nome e número do telefone de um responsável pelas informações técnicas do material biológico.
- ✓ Informações que identifiquem o veículo ou modo de transporte a ser utilizado, a data da realização do transporte e o nome do(s) aeroporto(s), da(s) estação(ões) de transbordo e do(s) local(is) de descarga (caso couber).
- ✓ Outras informações que o remetente e o destinatário julgarem necessárias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ Aires, CAM; et al. Biossegurança em transporte de material biológico no âmbito nacional: um guia breve. Rev Pan-Amaz Saude 2015; 6(2):73-81.
- ✓ Guidance on Regulations for the Transport of Infectious Substances – Organização Mundial da Saúde (OMS).
- ✓ Manual de vigilância sanitária sobre o transporte de material biológico humano para fins de diagnóstico clínico. 2015 – ANVISA

INTRODUÇÃO

Proteção radiológica é o conjunto de medidas que visa proteger o ser humano e o meio ambiente de possíveis efeitos indevidos causados pela radiação ionizante. No Brasil, as normas para utilização de radiação ionizante são definidas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) por meio das Normas e Diretrizes de Radioproteção. As normas vigentes são aplicáveis ao manuseio, a produção, a posse e a utilização de fontes, bem como o transporte, o armazenamento e a deposição de materiais radioativos, abrangendo todas as atividades relacionadas que envolvam ou possam envolver exposição à radiação.

A manipulação de substâncias radioativas só pode ser realizada em uma estrutura de proteção radiológica dimensionada de acordo com o porte da instalação, conforme estabelecido pela CNEN. Além disso, esta estrutura deve contar com, pelo menos, um indivíduo habilitado pela CNEN como supervisor de proteção radiológica e conter o Plano de Proteção Radiológica.

Na UNIFESP, os pesquisadores devem entrar em contato com o Núcleo de Proteção Radiológica antes de iniciarem qualquer atividade com substâncias radioativas.

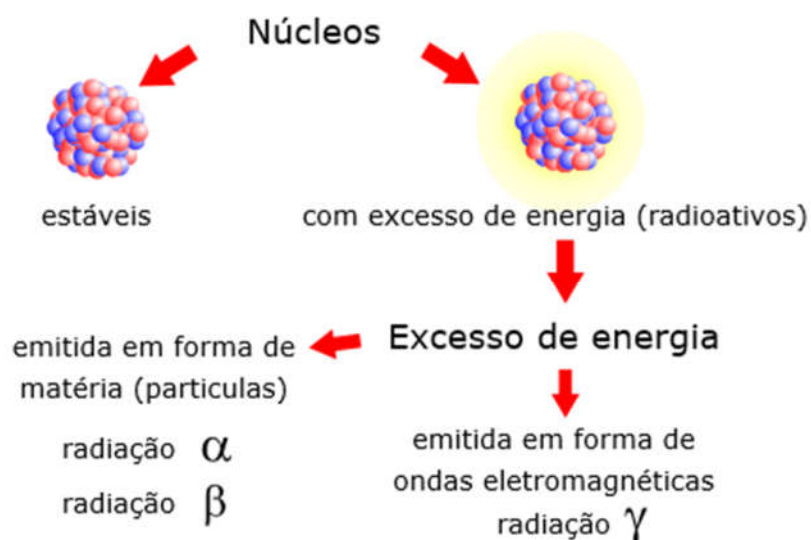
RADIOATIVIDADE

A descoberta da radioatividade ocorreu quando uma rocha de urânio foi esquecida sobre um filme fotográfico virgem, que após revelado, apresentou uma marcação por algo que saía da rocha, na época denominado raios ou radiação.

Não apenas o urânio apresenta propriedades radioativas; outros elementos pesados com massas próximas ao urânio, como o rádio e o polônio também são elementos radioativos.

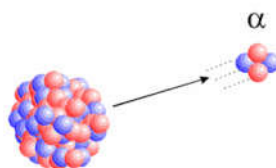
Comprovou-se que um núcleo muito energético, por ter excesso de partículas ou de carga, tende a estabilizar-se, emitindo algumas partículas.

Considera-se radiação ionizante qualquer partícula ou radiação eletromagnética que, ao interagir com a matéria, "arranca" elétrons dos átomos ou de moléculas, transformando-os em íons, direta ou indiretamente. Assim, as partículas *alfa*, as partículas *beta* e a radiação *gama*, emitidas por fontes radioativas, bem como os raios X, emitidos pelos respectivos aparelhos, são radiações ionizantes.



Radiação alfa

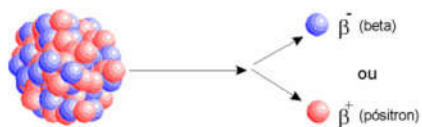
Um dos processos de estabilização de um núcleo com excesso de energia é o da emissão de um grupo de partículas, constituídas por dois prótons e dois nêutrons, e da energia a elas associada. São as radiações alfa ou partículas alfa, na realidade núcleos de hélio (He), um gás chamado “nobre”, por não reagir quimicamente com os demais elementos. As partículas possuem carga +2.



Radiação beta

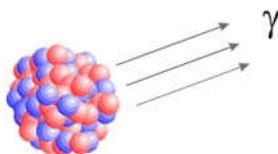
Outra forma de estabilização, quando existe no núcleo um excesso de nêutrons em relação a prótons, é através da emissão de uma partícula negativa, um elétron, com carga -1, resultante da conversão de um nêutron em um próton. É a partícula beta negativa ou, simplesmente, partícula beta.

No caso de existir excesso de cargas positivas (prótons), é emitida uma partícula beta positiva, chamada pósitron, resultante da conversão de um próton em um nêutron. Portanto, a radiação beta é constituída de partículas emitidas por um núcleo, quando da transformação de nêutrons em prótons (partículas beta) ou de prótons em nêutrons (pósitrons).



Radiação gama

Geralmente, após a emissão de uma partícula alfa (α) ou beta (β), o núcleo resultante desse processo, ainda com excesso de energia, procura estabilizar-se, emitindo esse excesso em forma de onda eletromagnética, da mesma natureza da luz, sem carga elétrica, mas com energia muito maior, denominada radiação gama (γ).



CONCEITOS DE RADIOATIVIDADE

É fundamental aprender os conceitos básicos a respeito dos elementos radioativos.

Decaimento radioativo

Como foi visto, um núcleo com excesso de energia tende a estabilizar-se, emitindo partículas alfa ou beta. Em cada emissão de uma dessas partículas, há uma variação do número de prótons no núcleo, isto é, o elemento se transforma ou se transmuta em outro, de comportamento químico diferente.

Essa transmutação também é conhecida como desintegração radioativa, designação não muito adequada, porque dá a ideia de desagregação total do átomo e não apenas da perda de sua integridade. Um termo mais apropriado é decaimento radioativo, que sugere a diminuição gradual de massa e atividade.

Atividade

Os núcleos instáveis de uma mesma espécie (mesmo elemento químico) e de massas diferentes, denominados radioisótopos, não realizam todas as mudanças ao mesmo tempo. As emissões de radiação são feitas de modo imprevisível e não se pode adivinhar o momento em que um determinado núcleo irá emitir radiação. Entretanto, para a

grande quantidade de átomos existente em uma amostra de material radioativo é razoável esperar-se um certo número de emissões ou transformações em cada segundo. Essa “taxa” de transformações é denominada atividade da amostra.

A atividade de uma amostra com átomos radioativos (ou fonte radioativa) é medida em:

Bq (Becquerel) = uma desintegração por segundo

Ci (Curie) = $3,7 \times 10^{10}$ Bq

Meia-vida

Cada elemento radioativo, seja natural ou obtido artificialmente, se transmuta (se desintegra ou decai) a uma velocidade que lhe é característica. Para se acompanhar a duração (ou a “vida”) de um elemento radioativo foi preciso estabelecer uma forma de comparação. Por exemplo, quanto tempo leva para um elemento radioativo ter sua atividade reduzida à metade da atividade inicial? Esse tempo foi denominado meia-vida do elemento.

Meia-vida, portanto, é o tempo necessário para a atividade de um elemento radioativo ser reduzida à metade da atividade inicial.

Isso significa que, para cada meia-vida que passa, a atividade vai sendo reduzida à metade da anterior, até atingir um valor insignificante, que não permite mais distinguir suas radiações daquelas presentes no meio ambiente. Dependendo do valor inicial, em muitas fontes radioativas utilizadas em laboratórios de análise e pesquisa, após 10 (dez) meias-vidas, atinge-se esse nível. Entretanto, não se pode confiar totalmente nessa “receita”, pois, em várias fontes usadas na indústria e na medicina, mesmo após 10 meias-vidas, a atividade dessas fontes ainda é alta.

DIRETRIZES BÁSICAS DA PROTEÇÃO RADIOLÓGICA

A Norma CNEN-NE-3.01, redigida pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, regulamenta as diretrizes básicas de radioproteção e os limites permissíveis para a devida manipulação de material radioativo em território brasileiro.

Esta norma encontra-se fundamentada nos seguintes princípios:

Princípio da justificacão: a atividade deverá ser justificável perante outras alternativas, com benefício positivo para a sociedade. Envolve a relação custo-benefício do uso de substâncias radioativas.

Princípio da otimização: o planejamento e as operações devem garantir exposições mínimas possíveis (Princípio ALARA - *As Low As Reasonably Achievable*, acrônimo para a expressão “tão baixo quanto razoavelmente exequível”).

Princípio da limitação da dose individual: a dose individual não deve exceder os limites estabelecidos em norma ou, no caso de exposições potenciais, deve estar sujeita a algum controle de risco.

EXPOSIÇÃO A MATERIAIS RADIOATIVOS

A exposição a materiais radioativos pode ser classificada em:

Externa: quando a fonte radioativa se encontra fora do corpo (radioterapia, raio x odontológico, entre outros). É um processo de irradiação da fonte radioativa; irradiar não significa contaminar.

Interna: quando o material radioativo entra no corpo através de ingestão, inalação ou cortes na pele. Contaminar com material radioativo, implica em irradiar o local, onde esse material estiver.

Irradiação não contamina, mas contaminação irradia.



As exposições externas à radiação ionizante podem ser:

A distância: esta é a forma mais comum, pois mesmo distanciado das substâncias radioativas, todas as partes do corpo do manipulador estão geralmente expostas à radiação, exceto quando da utilização de acessórios de proteção (avental de chumbo, protetor de tireoide, etc.).

Por contato: a manipulação de substâncias radioativas leva o pesquisador a entrar em contato com recipientes (pipetas, seringas, beakers, provetas, etc.) contendo essas substâncias, podendo ocasionar o depósito do material radioativo sobre a pele.

Por imersão: ocorre durante a manipulação de fontes radioativas gasosas, em particular em atividades envolvendo elementos radioativos de meia-vida curta.

Por outro lado, as formas mais comuns de exposição interna (ou incorporação) de substâncias radioativas são:

Inalação: ocorre após disseminação de aerossóis, vapores e gases na atmosfera.

Ingestão: resultado da contaminação das mãos, objetos e alimentos levados à boca.

Difusão através da pele: seja através de cortes associados a uma contaminação corporal, seja pelo contato com substâncias químicas agressivas, tais como soluções ácidas e solventes contendo material radioativo.

CONTROLE DE EXPOSIÇÃO

O controle da exposição à radiação, necessário para garantir o atendimento aos requisitos estabelecidos em normas de radioproteção, fundamenta-se em três fatores principais:

Tempo de exposição

Prevenção de acúmulo desnecessário de Dose, pela redução do tempo de permanência na proximidade de fontes de radiação.

A redução, tanto quanto possível, do tempo de permanência em áreas onde estão presentes fontes de radiação ionizante é uma maneira simples de evitar exposições desnecessárias, uma vez que a Dose acumulada é diretamente proporcional ao tempo de exposição a essa radiação ($Dose = Taxa \text{ de Dose} \times Tempo$).

Distância da fonte

Atenuação da radiação, baseada na lei do inverso do quadrado da distância.

O aumento da distância entre uma fonte de radiação ionizante e um indivíduo é, também, uma solução simples para minimizar a Exposição, e, conseqüentemente, o acúmulo de Dose. No caso de fontes puntiformes, é válida a Lei do Inverso do Quadrado da Distância, qual seja:

$$D1 / D2 = (d1 / d2)^2$$

Onde D1 e D2 são as Taxas de Dose nas distâncias d1 e d2 da fonte, respectivamente.

Por exemplo, quando a distância de um indivíduo à fonte dobra, a Dose é reduzida a um quarto do seu valor inicial.

Blindagem

Atenuação da radiação, por meio de anteparos de concreto, chumbo, aço, alumínio, entre outros materiais.

Quando os níveis de radiação permanecem altos, mesmo que, dentro do viável, seja mínimo o tempo de permanência em locais que possuam fontes emissoras de radiação e máxima a distância mantida dessa fonte, é necessário introduzir o fator blindagem, para fins de limitação de dose. Acessórios como colimadores, biombo, aventais e óculos de proteção são exemplos de dispositivos empregados para minimizar a Exposição à radiação. A determinação da espessura e material adequado para confecção desses dispositivos depende do tipo (raios α , raios gama, partículas alfa ou beta, nêutrons) e da intensidade da radiação (por exemplo, atividade do material radioativo ou potência do equipamento emissor de raios-X), bem como do valor de dose aceitável, após a atenuação pela blindagem.

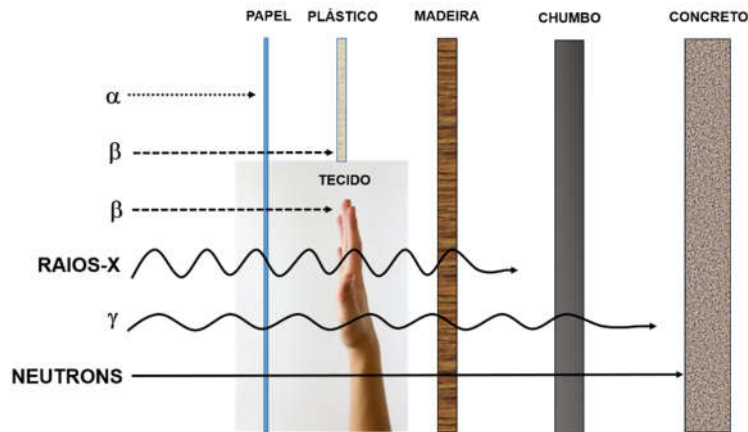
Da mesma forma, para o cálculo da blindagem de uma instalação, são considerados os fatores mencionados anteriormente, sendo que, após a escolha dos materiais de construção, tanto da instalação em si como da blindagem adicional, calculam-se as espessuras, levando em conta, também, a localização dos equipamentos ou fontes emissores de radiação, as direções de incidência do feixe, o tempo de operação dos equipamentos ou manuseio das fontes radioativas bem como os fatores de ocupação da instalação e das áreas vizinhas, entre outros aspectos.

Penetração das radiações na matéria

As partículas alfa são as radiações mais ionizantes por terem carga +2, mas, exatamente por esse motivo, além de ter maior massa, sua penetração na matéria é pequena, não conseguindo atravessar uma simples folha de papel e percorrendo poucos centímetros no ar.

Dependendo de sua energia, a maioria das partículas beta, que são elétrons de origem nuclear, podem percorrer até poucos metros no ar e têm um poder ionizante bem menor do que as partículas alfa.

Embora a radiação gama e os raios-x sejam as radiações mais penetrantes, seu poder de ionização é baixo em relação às partículas alfa e beta.



DETECTORES DE RADIAÇÃO

São dispositivos (aparelhos) capazes de indicar a presença de radiação, convertendo a energia da radiação em um sinal elétrico, luz ou reação química. A utilização de um detector depende do tipo da radiação presente: um detector muito eficiente para radiação gama é inadequado para partículas alfa.

Monitores de radiação são detectores construídos e adaptados para um determinado tipo de radiação.

Dosímetros são monitores que medem uma grandeza radiológica com resultados relacionados ao corpo humano inteiro ou a um órgão ou tecido.

Detector/Contador Geiger-Muller (GM) é um dos dispositivos mais antigos para detectar e medir radiação, desenvolvido por Geiger e Muller em 1928 e muito usado ainda atualmente por sua simplicidade, baixo custo e facilidade de operação. Os detectores GM podem ser usados para medir grandezas como dose e exposição, através de artifícios de instrumentação e metrologia. Para a taxa de exposição a escala é normalmente calibrada para a energia do Co-60.

Alguns fatores que influenciam na escolha do detector de radiação mais apropriado para a realização de uma determinada medida são:

Tipo de radiação: em função dos diferentes modos de interação com a matéria das radiações eletromagnéticas, partículas carregadas leves, partículas carregadas pesadas e nêutrons;

Intervalo de tempo de medida: em função do interesse em realizar uma medida instantânea ou registrar a radiação acumulada durante um período de tempo;

Precisão, exatidão, resolução: em função das incertezas aceitáveis para um dado processo de medição;

Condições de trabalho: em função do trabalho de detecção a ser realizado, propriedades como robustez, portabilidade e autonomia e

Tipo de informação desejada: em função da finalidade da medida, como por exemplo, determinar, apenas, o número de contagens ou a energia da radiação.

Ademais, além de outros fatores como facilidade de operação, facilidade de manutenção e custos, são preferíveis os detectores cujas respostas sejam menos afetadas por variações de temperatura e umidade a que a eletrônica associada é suscetível.

REJEITOS RADIOATIVOS

Os rejeitos radioativos precisam ser tratados antes de serem liberados para o meio ambiente, se for o caso. Eles podem ser liberados quando o nível de radiação é igual ao do meio ambiente e quando não apresentam contaminação química.

Rejeitos sólidos, líquidos ou gasosos podem ser classificados, quanto à atividade, em rejeitos de baixa, média e alta atividade.

Rejeitos sólidos de baixa atividade, como partes de maquinaria contaminadas, luvas usadas, sapatilhas e aventais contaminados, são colocados em sacos plásticos e guardados em tambores ou caixas de aço, após classificação e respectiva identificação. Dependendo da meia-vida, alguns rejeitos podem permanecer radioativos por dezenas, centenas ou até milhares de anos.

Os rejeitos com meias-vidas superiores a 30 anos são considerados rejeitos de meia-vida longa. Os rejeitos de meia-vida curta são armazenados em locais apropriados (preparados), até sua atividade atingir um valor semelhante à do meio ambiente, podendo, então, ser liberados.

É evidente que materiais de atividade ao nível ambiental, mas que apresentam contaminação química para o ser humano ou que são prejudiciais ao ecossistema, não podem ser liberados sem um tratamento químico adequado.

CUIDADOS BÁSICOS

Algumas regras práticas para evitar exposição desnecessária à radiação em práticas envolvendo o uso de materiais radioativos são apresentadas a seguir.

- ✓ não comer, beber, fumar, se maquiar ou mesmo se pentear no laboratório;
- ✓ usar vestimenta de proteção (jaleco) e, se necessário, sapatilhas em áreas onde experimentos com radionuclídeos estão sendo conduzidos, mas removê-los antes de ter acesso a áreas livres;
- ✓ usar luvas cirúrgicas em caso de risco significativo de contaminação das mãos. A colocação e remoção dessas luvas devem ser feitas de tal forma que sua parte interna não entre em contato com a parte externa, de modo a prevenir contaminação da pele. Quando não mais necessário sua utilização, as luvas devem ser removidas uma vez que elas passam a constituir uma fonte de contaminação de vidrarias, equipamentos, maçanetas, etc;
- ✓ não pipetar soluções radioativas com a boca;
- ✓ óculos protetores devem ser sempre usados em áreas de altas doses de radiação, para prevenir que emissões β atinjam o cristalino;
- ✓ lenços de papel devem estar sempre disponíveis para serem usados como um meio preliminar de descontaminação;
- ✓ todas as práticas que envolvam o emprego de materiais radioativos voláteis, aquecimento ou decomposição devem ser conduzidas em capelas com velocidade de sucção de ar da ordem de 1m/s;
- ✓ quaisquer práticas envolvendo material radioativo que possam gerar poeira devem ser conduzidas em ambientes especiais, preferencialmente mantidas a uma pressão um pouco inferior à pressão atmosférica. O sistema de exaustão deve ser provido de filtro para coletar partículas radioativas, especialmente no caso de materiais emissores α ;
- ✓ todas as práticas laboratoriais devem ser conduzidas sobre bandejas forradas com material absorvente;
- ✓ recipientes devem estar disponíveis para armazenamento de rejeitos líquidos e sólidos;
- ✓ não se deve usar as mesmas vidrarias, pinças, tesouras, etc. para manusear diferentes radionuclídeos, evitando, assim, a contaminação cruzada;
- ✓ um detector de radiação deve estar sempre disponível para monitoração freqüente do laboratório. No caso de emissores alfa, trício ou outros emissores beta de baixa energia, pode ser necessária a realização de esfregaços em áreas sob suspeita de contaminação;
- ✓ antes de sair do laboratório, mãos, solas de sapatos e vestimentas devem ser monitorados por detector de contaminação superficial.

PROCEDIMENTOS DE EMERGÊNCIA

Em caso de acidentes, avisar imediatamente o responsável (Supervisor de Radioproteção) e o Núcleo de Proteção Radiológica da UNIFESP (NPR-UNIFESP).

Em caso de contaminação de pessoas: monitorar todas as pessoas suspeitas.

Pele

- ✓ Lavar com sabão / detergente neutro e água em abundância (cuidado para não espalhar a contaminação);
- ✓ Monitorar com detector (máximo: 0,1 mrem/h a 2 cm);
- ✓ Repetir o procedimento com escova macia, se necessário usar sabão mais abrasivo (cuidados para não arranhar, descamar ou lesionar a pele);
- ✓ Cortar as unhas; aplicar creme para as mãos (para evitar rachaduras);
- ✓ Narinas ou canais auriculares: usar cotonetes;
- ✓ Nariz e boca: lavar com água em abundância;
- ✓ Olhos: lavar com solução salina (NaCl 0,9% (p/v)).

Roupas e sapatos

- ✓ Identificar o material radioativo, nível de exposição e data;
- ✓ Guardar em sacos plásticos até decair para 200 dpm/100 cm² (ou dose medida a 2 cm, menor que 0,1 mrem/h).

Superfície de trabalho

- ✓ Delimitar a área e impedir o tráfego de pessoas;
- ✓ Cobrir a área contaminada com papel absorvente;
- ✓ Promover a descontaminação com detergentes (da periferia para área central) até que o nível de contaminação seja inferior a 0,1 mrem/h, medido a 2 cm;
- ✓ Recolher o material contaminado e usado na descontaminação para sacos plásticos devidamente etiquetados (deixar decair).

Outras superfícies

- ✓ Superfícies pintadas: citrato de amônio, bifluoreto de amônio;
- ✓ Madeira e cimento: difícil descontaminação, promover remoção;
- ✓ Vidraria: HCl 10% e carreador, antes da lavagem com muita água;
- ✓ Alumínio: HNO₃ 10%;
- ✓ Chumbo: HCl 4N;
- ✓ Aço: H₃PO₄ e agente dispersante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ <http://www.cnen.gov.br/>
- ✓ <https://fisicamedica.webnode.com.br/>

ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS

LEI DE BIOSSEGURANÇA

A Lei nº 11.105 de 24 de março de 2005 denominada Lei de Biossegurança estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização sobre a construção, o cultivo, a produção, a manipulação, o transporte, a transferência, a importação, a exportação, o armazenamento, a pesquisa, a comercialização, o consumo, a liberação no meio ambiente e o descarte de organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, tendo como diretrizes o estímulo ao avanço científico na área de biossegurança e biotecnologia, a proteção à vida e à saúde humana, animal e vegetal, e a observância do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente.

Todas as diretrizes para o trabalho com OGMs estão determinados nesta lei.

Organismo geneticamente modificado - OGM é todo organismo cujo material genético – DNA/RNA tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética.

- Não se inclui na categoria de OGM o resultante de técnicas que impliquem a introdução direta, num organismo, de material hereditário, desde que não envolvam a utilização de moléculas de DNA/RNA recombinante ou OGM, inclusive fecundação in vitro, conjugação, transdução, transformação, indução poliplóide e qualquer outro processo natural.

- Não se inclui na categoria de derivado de OGM a substância pura, quimicamente definida, obtida por meio de processos biológicos e que não contenha OGM, proteína heteróloga ou DNA recombinante.

Esta Lei não se aplica quando a modificação genética for obtida por meio das seguintes técnicas, desde que não impliquem a utilização de OGM como receptor ou doador:

- I – mutagênese;
- II – formação e utilização de células somáticas de hibridoma animal;
- III – fusão celular, inclusive a de protoplasma, de células vegetais, que possa ser produzida mediante métodos tradicionais de cultivo;
- IV – autoclonação de organismos não-patogênicos que se processe de maneira natural.

É permitida, para fins de pesquisa e terapia, a utilização de células-tronco embrionárias obtidas de embriões humanos produzidos por fertilização in vitro e não utilizados no respectivo procedimento, atendidas as seguintes condições:

- I – sejam embriões inviáveis; ou

II – sejam embriões congelados há 3 (três) anos ou mais, na data da publicação desta Lei, ou que, já congelados na data da publicação desta Lei, depois de completarem 3 (três) anos, contados a partir da data de congelamento.

ÓRGÃOS COMPETENTES

A lei cria os seguintes órgãos responsáveis pelos processos envolvendo OGMs:

Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS): é composto por representantes de diversos ministérios e é responsável por deliberar e decidir a respeito do uso comercial e outros aspectos socioeconômicos dos OGMs.

Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio): possui caráter consultivo e deliberativo, e presta apoio técnico e de assessoramento ao Governo Federal na formulação, atualização e implementação da Política Nacional de Biossegurança de OGM e seus derivados, bem como no estabelecimento de normas técnicas de segurança e de pareceres técnicos referentes à autorização para atividades que envolvam pesquisa e uso comercial de OGM e seus derivados, com base na avaliação de seu risco zootossanitário, à saúde humana e ao meio ambiente.

A CTNBio é composta por membros especialistas de notório saber científico e técnico, além de representantes de diversos ministérios, e é responsável dentre outras coisas, por:

- ✓ estabelecer normas para as pesquisas com OGM e derivados de OGM;
- ✓ autorizar, cadastrar e acompanhar as atividades de pesquisa com OGM ou derivado de OGM, nos termos da legislação em vigor;
- ✓ autorizar a importação de OGM e seus derivados para atividade de pesquisa;
- ✓ emitir Certificado de Qualidade em Biossegurança – CQB para o desenvolvimento de atividades com OGM e seus derivados em laboratório, instituição ou empresa e enviar cópia do processo aos órgãos de registro e fiscalização.

Para mais informações, acesse o site da CTNBio.

Comissão Interna de Biossegurança (CIBio): é encarregada de obter licenças junto à CTNBio, para o desenvolvimento de atividades de qualquer natureza relacionadas a Organismos Geneticamente Modificados (OGMs), assim como de monitorar essas atividades, no âmbito desta instituição. Toda instituição que utilizar técnicas e métodos de engenharia genética ou realizar pesquisas com OGM e seus derivados deverá criar uma Comissão Interna de Biossegurança, além de indicar um técnico principal responsável para cada projeto específico.

Qualquer projeto com OGM dentro da universidade só pode ser realizado com a prévia aprovação da CIBio.

Para obter todas as informações para a realização de projetos com OGM na UNIFESP, acesse o site da CIBio.

CLASSES DE RISCO

Os OGM são 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.

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. Além disso, todo organismo geneticamente modificado deverá possuir um marcador capaz de identificá-lo dentro uma população da mesma espécie.

As classes de risco dos OGM são definidas da seguinte maneira:

Classe de Risco 1 (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade)

OGM que contém sequências de DNA/RNA de organismo doador e receptor que não causem agravos à saúde humana e animal e efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente.

Classe de Risco 2 (moderado risco individual e baixo risco para a coletividade)

OGM que contém sequências de DNA/RNA de organismo doador ou receptor 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.

Classe de Risco 3 (alto risco individual e risco moderado para a coletividade)

OGM que contém sequências de DNA/RNA de organismo doador ou receptor, 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.

Classe de Risco 4 (alto risco individual e alto risco para a coletividade)

OGM que contém sequências de DNA/RNA de organismo doador ou receptor 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.

Atenção aos seguintes casos:

- 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.
- O OGM que contenha sequências de DNA/RNA 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.
- O OGM que contenha sequências de DNA/RNA 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.
- Para a classificação de risco, deve-se também considerar:
 - ✓ a possibilidade de recombinação de sequências inseridas no OGM, levando à reconstituição completa e funcional de genomas de agentes infecciosos;
 - ✓ outros processos que gerem um genoma infeccioso;
genes que codifiquem substâncias tóxicas aos seres humanos, aos outros animais, aos vegetais ou que causem efeitos adversos ao meio ambiente;
 - ✓ genes de resistência a antibióticos de amplo uso clínico.
- O OGM que se torne mais apto à sobrevivência no meio ambiente que os organismos nativos e que, a critério da CTNBio, represente uma ameaça potencial à biodiversidade, pode ter sua classe de risco aumentada.
- Será utilizada como base de informação dos agentes infecciosos para humanos e outros animais por classe de risco, a lista publicada pelo Ministério da Saúde, a lista de pragas quarentenárias de plantas por classe de risco, publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e a lista de plantas invasoras publicada pelo Ministério do Meio Ambiente.
- 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.

NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA

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.

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 ou casa de vegetação;
- b) a equipe técnica e de apoio deverá ter treinamento específico nos procedimentos realizados nas instalações e deverá ser supervisionada pelo técnico principal;
- 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 a ácidos, álcalis, solventes orgânicos e a calor moderado;
- 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 uma vez ao dia ou sempre que ocorrer contaminação;
- h) todo resíduo líquido ou sólido contaminado deve ser descontaminado 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 nas áreas de trabalho;
- k) antes de deixar as instalações, as mãos devem ser lavadas sempre que tiver havido manipulação de organismos contendo ADN/ARN recombinante;
- l) pias para lavagem das mãos e equipamentos de proteção individual e coletiva devem ser utilizados para minimizar o risco de exposição ao OGM;

m) é proibida a admissão de animais que não estejam relacionados ao trabalho em execução nas instalações;

n) 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;

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

p) 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;

q) um Manual de Biossegurança deve ser preparado de acordo com as especificidades das atividades realizadas. Todo o pessoal deve ser orientado sobre os possíveis riscos e para a necessidade de seguir as especificações de cada rotina de trabalho, procedimentos de biossegurança e práticas estabelecidas no Manual;

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

s) 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;

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

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;

b) deve-se sempre utilizar cabines de segurança biológica (Classe I ou II);

c) cabe ao Técnico 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 Técnico Principal, endereço completo e diferentes possibilidades de sua localização ou de outra pessoa responsável e o contato com a CIBio;

e) o Técnico 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, luvas, gorros, máscaras, óculos, protetores pró-pé, entre outros, os quais devem ser retirados antes da pessoa deixar as instalações credenciadas;

g) após o uso, os equipamentos de proteção individual não descartáveis devem ser limpos e guardados fora da área contaminada e as pessoas devem ser treinadas para seu manuseio e guarda apropriados;

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 experimento de menor risco realizado concomitantemente no mesmo local, deverá ser adotado o nível NB-2;

k) quando apropriado, a equipe técnica e de apoio deve estar vacinada contra os agentes infecciosos relacionados aos experimentos conduzidos nas instalações NB2;

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.

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, acrescidos de:

- 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 de roupas, chuveiros, bloqueio de ar 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 e fluxo unidirecional de modo a assegurar diferencial de pressão 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 não deve, portanto, ser recirculado e deverá ser filtrado através de filtro HEPA antes de ser eliminado para o exterior das instalações, devendo haver verificação constante do fluxo de ar nas instalações;
- 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 de cada instalação NB-3 deve haver pelo menos uma pia para lavar as mãos. A torneira deve ter um sistema automático de acionamento ou sistema de pedais. Todos 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;
- 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) toda equipe técnica deverá tomar banho ao entrar e sair das instalações NB-3;
- q) 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;
- r) devem ser usadas máscaras faciais ou respiradores apropriados nas instalações NB3;
- s) nenhum material biológico com capacidade de propagação poderá deixar as instalações;
- t) Sistema de comunicação apropriado com o exterior deve estar disponível;
- u) devem ser colocadas câmeras de vídeo na entrada e na saída das instalações;
- v) devem ser mantidas amostras-referência de soro da equipe técnica colhidas anualmente para vigilância à saúde;

w) devem ser feitos, anualmente, exames médicos para os trabalhadores das instalações onde são conduzidos atividades e projetos com OGM incluindo avaliação clínica laboratorial de acordo com o OGM envolvido, levando-se em consideração as medidas de proteção e prevenção cabíveis;

x) 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;

y) para experimento de menor risco realizado concomitantemente no mesmo local, deverá ser adotado o nível NB-3.

Nível de Biossegurança 4 (NB-4)

Adequado às atividades e projetos que envolvam OGM de classe de risco 4. As instalações e procedimentos exigidos para o NB-4 devem atender as especificações estabelecidas para o NB-1, NB-2 e NB-3 acrescidos de:

a) a instalação NB-4 deve estar localizada em prédio separado ou em área claramente demarcada e isolada das demais instalações da instituição e dispor de vigilância 24 horas por dia;

b) devem ser previstas câmaras de entrada e saída de pessoal, separadas por chuveiro;

c) as manipulações com OGM de classe de risco 4 devem ser realizadas em cabine de segurança biológica Classe II ou III, em associação com roupas de proteção pessoal com pressão positiva, ventiladas por sistema de suporte de vida;

d) deve ser previsto um sistema de autoclave de dupla porta, câmara de fumigação, ou sistema de ventilação com antecâmara pressurizada para o fluxo de materiais para o interior do laboratório;

e) o sistema de drenagem do solo deve conter depósito com desinfetante químico eficaz para o agente em questão, conectado diretamente a um sistema coletor de descontaminação de líquidos;

f) o sistema de esgoto e ventilação deve estar acoplado a filtros HEPA de elevada eficiência. As instalações de filtros e esgotos devem estar confinadas à área de contenção;

g) sistemas de suprimento de luz, dutos de ar e linhas utilitárias devem ser, preferencialmente, embutidos para evitar o acúmulo de poeira;

- h) materiais e equipamentos que não possam ser descontaminados na autoclave devem passar por tanque de imersão com desinfetante, ou câmara de fumigação;
- i) o líquido efluente, antes de ser liberado das instalações, deve ser descontaminado com tratamento por calor;
- j) os líquidos liberados de chuveiros ou de sanitários devem ser descontaminados com produtos químicos ou pelo calor;
- k) as instalações devem ter antessala para a equipe vestir roupas específicas (escafandro) com pressão positiva e sistema de suporte de vida. O sistema deve prever alarmes e tanques de respiração de emergência;
- l) as instalações devem ter chuveiro para a descontaminação química das superfícies da roupa antes da saída da área;
- m) a entrada de ar de insuflamento deverá estar protegida com filtro HEPA e sua eliminação para o exterior deve ser feita através de dutos de exaustão, cada um com dois filtros HEPA colocados em série e com alternância de circuito de exaustão automatizado;
- n) o sistema de ar deverá ser revisado e validado anualmente por firma com experiência comprovada;
- o) nenhum material deverá ser removido das instalações a menos que tenha sido autoclavado ou descontaminado, exceção feita aos materiais biológicos que necessariamente tenham que ser retirados na forma viável ou intacta;
- p) o material biológico viável, ao ser removido de cabines Classe II ou III ou das instalações NB-4, deve ser acondicionado em recipiente de contenção inquebrável e selado. Este, por sua vez, deve ser acondicionado dentro de um segundo recipiente também inquebrável e selado que passe por um tanque de imersão contendo desinfetante ou por uma câmara de fumigação ou, ainda, por um sistema de barreira de ar;
- q) equipamentos ou materiais que não resistam a temperaturas elevadas devem ser descontaminados utilizando-se gás ou vapor em câmara específica;
- r) acesso às instalações deve ser bloqueado por portas hermeticamente fechadas, contendo internamente um sistema de monitoramento visual;

- s) a entrada deve ser controlada pelo Técnico Principal, ou pessoa qualificada, por ele indicada. Além do sistema de acesso por cartão magnético ou códigos digitais, o responsável deverá solicitar identificação institucional de cada usuário;
- t) as pessoas autorizadas devem cumprir com rigor as instruções de procedimento para entrada e saída das instalações;
- u) deve haver um registro de entrada e saída de pessoal, com data, horário e assinaturas;
- v) devem ser definidos protocolos para situações de emergência;
- w) o responsável pela segurança da área de acesso às instalações deverá estar apto a acionar o esquema de emergência, se necessário;
- x) todas estas informações devem ser registradas e arquivadas por um período de 5 anos;
- y) antes de adentrar as instalações, as pessoas devem ser avisadas sobre o potencial de risco e capacitadas para o atendimento das medidas apropriadas de segurança;
- z) a entrada e a saída da equipe das instalações devem ocorrer somente após uso de chuveiro e troca de roupa;
- aa) a entrada e saída da equipe por antecâmara pressurizada somente deve ocorrer em situações de emergência;
- bb) para adentrar as instalações, a roupa comum deve ser trocada por roupa protetora completa e descartável. Antes de sair das instalações para a área de banho, a roupa protetora deve ser deixada em área específica para descontaminação antes do descarte;
- cc) deve ser organizado um sistema de notificação de acidentes, exposição e absenteísmo da equipe das instalações, bem como um sistema de vigilância médica. Deve-se ainda, prever uma unidade de quarentena, isolamento e cuidados médicos para os suspeitos de contaminação.

ANIMAIS GENETICAMENTE MODIFICADOS

As instalações de contenção para atividades e projetos com animais geneticamente modificados incluem biotério, insetário, tanque de aquicultura, curral, aviário, infectório, entre outros.

Biotério NB-1

As atividades e projetos em contenção envolvendo animais geneticamente modificados da classe de risco 1 deverão atender às normas de biossegurança exigidas para o NB-1, acrescidas de:

- ✓ as instalações para manutenção e manipulação dos animais geneticamente modificados devem estar fisicamente separadas do resto do laboratório e ter acesso controlado;
- ✓ a entrada das instalações deve ser mantida trancada, sendo o acesso restrito às pessoas credenciadas pela CIBio da instituição;
- ✓ a construção das instalações deverá levar em conta o tipo de animal geneticamente modificado a ser mantido e manipulado, mas sempre tomando-se os cuidados necessários para impedir o escape;
- ✓ 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; V - ralos ou outros dispositivos similares, se existentes, deverão ter barreiras para evitar a possibilidade de escape ou entrada de material contaminado;
- ✓ animais de diferentes espécies e não envolvidos no mesmo experimento deverão estar alojados em áreas físicas separadas;
- ✓ recomenda-se a instalação de cortinas de ar com fluxo de cima para baixo nas portas de acesso aos insetários;
- ✓ 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;
- ✓ currais para inspeção e colheita de amostras deverão conter infraestrutura 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;
- ✓ 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;
- ✓ todo material contaminado deverá ser apropriadamente acondicionado para desinfecção ou inativação, que poderá ocorrer fora das instalações;
- ✓ devem ser estabelecidas normas de procedimentos amplamente divulgadas às pessoas com acesso autorizado;
- ✓ cópias das normas de procedimentos, inclusive daqueles referentes a situações de emergência, devem ser mantidas no interior das instalações;
- ✓ no caso de manutenção de um banco de embriões geneticamente modificados criopreservados, este deve localizar-se nas instalações credenciadas pela CTNBio.

Biotério NB-2

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, acrescidas de:

- ✓ é necessário que haja uma antessala entre a área de livre circulação e a área onde os animais estão alojados;
- ✓ a antessala deve estar separada por sistema de dupla porta com intertravamento;
- ✓ 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;
- ✓ as janelas devem ter vidros fixos e hermeticamente fechados e, quando necessário, serem duplas;
- ✓ as instalações devem ter luzes de emergência e serem ligadas a geradores, se possível;
- ✓ é necessária a troca de vestimenta antes da passagem da antessala para a sala de animais. Se possível, deve ser utilizada vestimenta descartável no interior da sala de animais;
- ✓ as vestimentas devem, após rigorosa inspeção para verificar a presença de insetos, ser acondicionadas em recipiente próprio fechado e autoclavado;
- ✓ serragem, ração ou qualquer outro alimento ou material a ser utilizado com os animais devem ser submetido a autoclavagem ou irradiação;
- ✓ a saída do material deve ser efetuada através de câmaras de passagem de dupla porta para esterilização ou inativação;
- ✓ em biotérios, a água a ser ingerida pelos animais deve ser filtrada, acidificada ou autoclavada;
- ✓ em biotérios, o fluxo de ar deve sofrer cerca de 20 renovações por hora;
- ✓ recomenda-se que haja controle sanitário, parasitológico, microbiológico, de micoplasmas e virológico dos animais;
- ✓ controle genético dos animais deve ser realizado, se possível, a cada nova geração;
- ✓ infectórios com animais geneticamente modificados devem localizar-se em áreas especialmente isoladas e devidamente credenciadas pela CTNBio.

Biotério NB-3

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-, acrescidas de:

- ✓ as instalações deverão conter, no mínimo, as seguintes áreas distintas: antessala, sala de materiais, sala para animais e sala de experimentação;

- ✓ a antessala 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;
- ✓ 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;
- ✓ as salas dos animais e de experimentação devem, necessariamente, conter pressão de ar negativa em relação às demais salas;
- ✓ as instalações devem possuir sistema de controle automático para detectar alterações na pressão atmosférica e capaz de acionar alarme;
- ✓ os animais devem estar alojados, quando pertinente, em sistema de microisoladores ou em sistemas equivalentes;
- ✓ quando houver torneiras, estas devem permitir acionamento sem o uso das mãos;
- ✓ todo material a ser descartado deverá ser previamente descontaminado dentro das instalações. Isto deverá ocorrer pelo uso de autoclave de dupla porta;
- ✓ os animais mortos e os dejetos deverão ser incinerados.

TRANSPORTE DE OGM

Cabe à CTNBio a normatização de atividades referentes ao transporte de OGMs no país.

1 - A permissão para transporte depende da classificação do OGM e do destino do mesmo. Para sua emissão, tanto a entidade remetente quanto aquela de destino, localizadas em território nacional, devem possuir o Certificado de Qualidade em Biossegurança -CQB.

2 - Para OGMs do Grupo I, o Pesquisador principal deverá notificar, anteriormente à remessa do material, às Comissões Internas de Biossegurança, tanto de sua instituição, quanto da instituição de destino (observar fluxograma). A CIBio poderá autorizar atividades de importação, exportação e transporte de derivados de OGM da classe de risco 1 para uso exclusivo em pesquisa em regime de contenção.

3 - No caso de OGMs do Grupo II, o Pesquisador Principal interessado notificará a CIBio de sua instituição, que solicitará o acordo da CIBio da instituição de origem ou de destino e submeterá a solicitação de autorização para o transporte à CTNBio. A Secretaria Executiva da CTNBio comunicará o parecer final às CIBios envolvidas (observar fluxograma).

4 - O Pesquisador Principal remetente informará a CIBio de sua entidade e àquela da entidade de destino sobre o conteúdo, o volume, o local e as condições de embalagem, para OGMs dos Grupos I e II.

5 - O Pesquisador Principal remetente informará à CIBio e ao transportador sobre os cuidados no transporte e sobre os procedimentos de emergência no caso de escape ou acidente durante o mesmo.

6 - O Pesquisador Principal remetente deve assegurar que o OGM a ser transportado estará contido em embalagens firmemente fechadas ou vedadas, para prevenir o escape do mesmo. Serão utilizados sempre dois recipientes, ambos claramente identificados: um interno (tubo de ensaio, placa de Petri, envelope com sementes), o qual conterá o OGM a ser transportado, dentro de um segundo recipiente inquebrável. O recipiente externo deverá ser cuidadosamente embalado para a remessa, em caixa de papelão, madeira ou outro material que ofereça resistência durante o transporte.

7 - Para o transporte de OGMs do Grupo II, o recipiente interno deverá ser inquebrável, claramente identificado e fechado, de forma a evitar o escape do material. Caso sejam enviados vários recipientes com OGM, a embalagem externa deverá conter material absorvente e protetores de impacto, dispostos entre aqueles que contêm o OGM. A embalagem exterior deve possuir proteção adequada conforme descrito no item 6.

8 - Para transporte conjunto de OGMs em vários volumes, cada recipiente deverá ser envolvido com material apropriado para proteção contra impacto, além das considerações referidas nos itens 6 e 7.

9 - Líquidos em volume total até 50 mL: o recipiente interno (tubo de ensaio, frasco) deverá ser cuidadosamente fechado e estar contido dentro de um segundo recipiente, inquebrável e resistente à impactos. Ambos deverão ser adequadamente vedados, de modo a impedir a entrada e/ou a saída de líquidos. Caso necessário, o recipiente interno poderá ser envolvido por mais de um recipiente externo, visando maior segurança. O recipiente externo deverá conter material para absorção de líquido que possa escapar do recipiente interno. O conjunto deverá ser adequadamente embalado, conforme descrito no item 6.

10 - Líquidos em volume maior do que 50 mL: além das exigências descritas no item 9, deverá ser utilizado material absorvente e protetor de impactos entre os conjuntos. Cada recipiente interno não poderá conter mais do que 1000 mL de material e o volume total da remessa não poderá ser superior a 4000 mL.

11 - Transporte de espécime congelado - gelo seco: o recipiente externo contendo gelo seco deverá permitir escape de gás CO₂.

12 - Transporte de espécime congelado - nitrogênio líquido: deverão ser utilizados recipientes ou botijões apropriados para utilização de nitrogênio líquido. Devem ser obedecidas as regras convencionais para o transporte de botijões de nitrogênio líquido.

13 - Para todos os casos acima, as embalagens devem ser claramente identificadas com o símbolo de biossegurança e de "frágil" com a seguinte mensagem: "Cuidado: abertura autorizada apenas no interior do laboratório por técnico especializado". A embalagem externa deverá conter o nome, endereço completo e telefone, tanto do destinatário quanto do remetente.

14 - No caso de transporte para fora do país, a CIBio da entidade remetente será responsável pelo cumprimento das exigências destas normas, inclusive encaminhando à CTNBio a solicitação de autorização para o transporte de OGMs do grupo II.

15 - Após a chegada do material, o destinatário deverá notificar o remetente sobre o seu recebimento e sobre as condições do mesmo.

16 - No caso de importação ou exportação, o Pesquisador Principal deverá informar à CIBio local sobre a intenção do recebimento ou envio do material, bem como enviar ao remetente ou destinatário as informações relevantes sobre o transporte, contidas nestas normas. A importação de OGMs, tanto de grupo I quanto de grupo II, deverá obedecer a normas específicas elaboradas para este fim pela CTNBio.

17 - Casos não previstos nestas normas deverão ser levados à consideração da CTNBio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ BRASIL. Lei n.º 11.105, de 24 de março de 2005. Lei da Biossegurança. Brasília, DF, mar 2005. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/l11105.htm>. Acesso em: 10 jan. 2018.

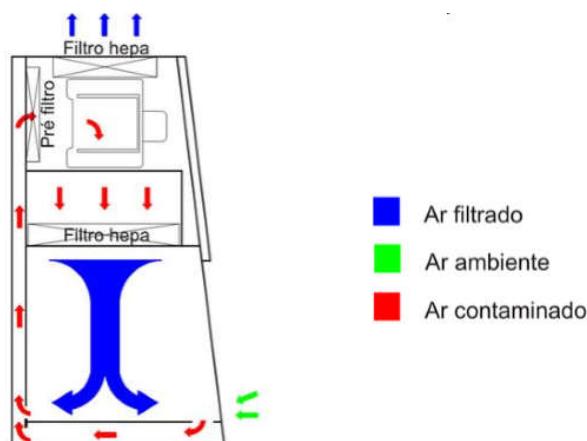
CABINES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

As cabines de segurança biológica (CSB) são utilizadas para o trabalho em contenção com agentes que oferecem risco biológico e oferecem proteção ao produto manipulado, ao operador e ao meio ambiente. Existem diversos tipos de CSB e a escolha do tipo adequado depende do agente a ser manipulado.

As Cabines de Segurança Biológica classificam-se em:

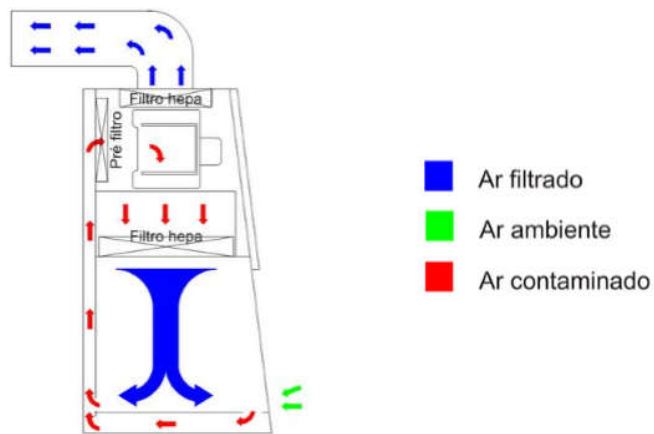
✓ **Classe II A1/A2**

Ocorre recirculação de 70% do ar e renovação de 30%, equipadas com dois filtros HEPA – um para recirculação e outro para renovação. Os 30% de ar renovado são exauridos para o interior do laboratório. O tipo A1 mantém o contaminante pressurizado positivamente e, portanto, é menos seguro do que o tipo A2, que tem uma pressão negativa em torno do contaminante pressurizado positivamente. O tipo A1 é considerado obsoleto e praticamente não é mais fabricado. São adequadas para manipulação de agentes biológicos de classe I, II e III.



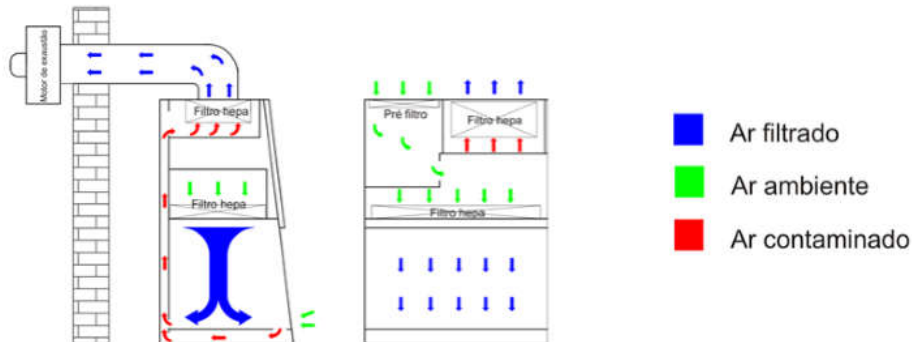
✓ **Classe II B1**

Ocorre recirculação de 70% do ar e renovação de 30%, equipadas com dois filtros HEPA – um para recirculação e outro para renovação. No entanto, os 30% de ar renovado são exauridos para fora do laboratório por meio de um sistema de dutos. São adequadas para manipulação de agentes biológicos de classe I, II e III.



✓ **Classe II B2**

100% do ar é renovado. 100% do ar insuflado são somados aos 30% do ar que formam uma cortina de proteção na parte frontal do equipamento. Dessa forma, impede que haja fuga do ar contaminado para o laboratório. Este ar é exaurido para fora do laboratório por meio de um sistema de duto. O tipo B2 é ainda adequado para manipulações de produtos químicos tóxicos em adição a operações microbiológicas, considerando que não ocorre uma nova circulação de ar. São adequadas para manipulação de agentes biológicos de classe I, II e III.



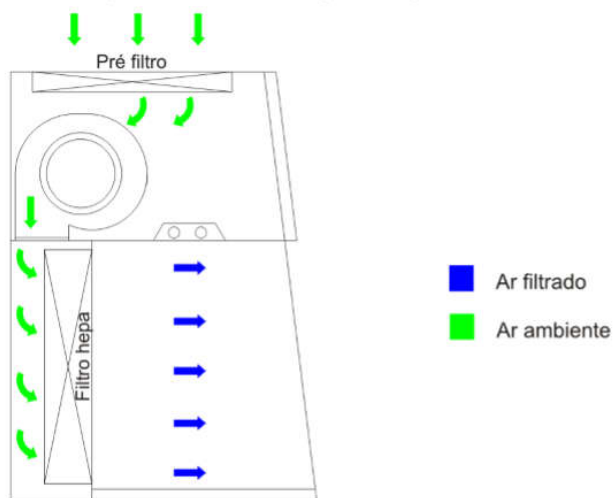
✓ **Classe III**

Fornece um nível absoluto de segurança ao operador, ao produto, proteção ambiental contra agentes biológicos de Classe I, II, III e IV. São geralmente produzidas com material soldado e projetadas com sistema de estanqueidade de gases. A manipulação é realizada com luvas na frente da cabine, que criam uma barreira física entre a amostra e o operador. Dentro da cabina é mantida a pressão negativa em relação ao ambiente, fornecendo um mecanismo adicional de proteção contra falhas, caso a contenção física seja comprometida. Os materiais são transferidos para o interior da cabine por uma unidade de passagem instalada na parte lateral. São adequadas para trabalho com agentes biológicos de Classe I, II, III e IV.

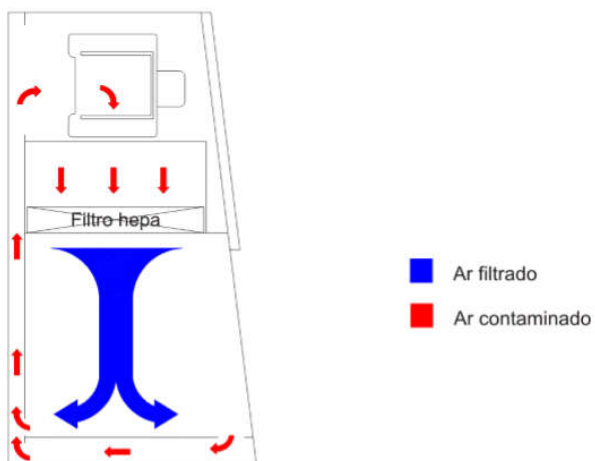


Atenção: Não confunda cabine de segurança biológica com capela de fluxo laminar. A capela de fluxo laminar protege somente os produtos a serem manipulados em seu interior e é subdividida em **fluxo laminar horizontal** e **fluxo laminar vertical**.

- ✓ **Fluxo laminar horizontal:** ocorre 100% da renovação do ar, equipada com filtro HEPA para essa renovação.



- ✓ **Fluxo laminar vertical:** ocorre 100% da recirculação do ar, equipada com filtro HEPA para essa recirculação.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ Cabines de Segurança Biológica – site Biomedicina Brasil em 02/01-2018 - <http://www.biomedicinabrasil.com/2017/06/cabines-de-seguranca-biologica.html>
- ✓ Capelas de fluxo laminar e Cabines de Segurança Biológica. SPLabor Equipamentos para laboratório. Cartilha desenvolvida por Alisson Linard.

Importante: é permitida a reprodução (parcial ou total) deste material, desde que não seja para fins comerciais e que seja citada a fonte.