

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

BIOSSEGURANÇA EM LABORATÓRIOS BIOMÉDICOS E DE MICROBIOLOGIA

Título original: Biosafety in Microbiological and
Biomedical Laboratories – 4th edition – May of 1999

3.^a edição revista e atualizada

Série A. Normas e Manuais Técnicos



Brasília – DF
2004

© 2000 Ministério da Saúde.
É permitida a reprodução total ou parcial desta obra, desde que citada a fonte.

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

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

Série A. Normas e Manuais Técnicos

Tiragem: 3.^a edição em português – revista e atualizada– 2004 – 200 exemplares

Organização, distribuição e informações
3.^a edição revista e atualizada – 2004:

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de Vigilância Epidemiológica
Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública
Setor de Autarquias Sul, quadra 4, bloco N, sala 712
CEP: 70070-040, Brasília – DF
Tels.: (61) 314 6352 / 314 6550 / 314 6556
E-mail: svs@saude.gov.br
Home page: www.saude.gov.br/svs

Responsável técnico:
Mário Cesar Althoff

1.^a edição em português – 2001:
MINISTÉRIO DA SAÚDE
Fundação Nacional de Saúde
Centro Nacional de Epidemiologia
Coordenação Nacional de Laboratórios de Saúde Pública
Setor de Autarquias Sul, quadra 4, bloco N, 6.^o andar, sala 619
CEP: 70070-040, Brasília – DF
Tels: (61) 314 6550 / 314 6556

Revisão técnica da tradução:
Núcleo de Biossegurança (NuBio)
Vice-Presidência de Tecnologia
Fundação Oswaldo Cruz
Av. Brasil, n.º 4.036 – 7.^o andar, sala 716
CEP: 21040-961, Rio de Janeiro – RJ
Tels.: (21) 590 9122 – ramal 257/258
Fax: (21) 590 9122

Impresso no Brasil / Printed in Brazil

Ficha Catalográfica

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

Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 2. ed. em português rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

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

ISBN 85-334-0777-7

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

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

NLM QY 25

Catálogo na fonte – Editora MS

Título para indexação:

Em espanhol: Bioseguridad en laboratorios biomédicos y de microbiología

EDITORA MS

Documentação e Informação
SIA, trecho 4, lotes 540 / 610
CEP: 71200-040, Brasília – DF
Tels.: (61) 233 1774 / 233 2020
Fax: (61) 233 9558

E-mail: editora.ms@saude.gov.br

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

Equipe editorial:

Normalização: Leninha Silvério
Revisão: Mara Pamplona, Paulo Henrique de Castro
Capa e projeto gráfico: Fabiano Bastos

DEDICATÓRIA

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

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

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

* Dedicatória transcrita *ipsis litteris* do original, em inglês.

SUMÁRIO

RELAÇÃO DE TABELAS, FIGURAS E LISTAS.....	7
APRESENTAÇÃO.....	9
PREFÁCIO.....	11
SEÇÃO I.....	13
Introdução.....	13
SEÇÃO II.....	19
Princípios de Biossegurança.....	19
SEÇÃO III.....	29
Níveis de Biossegurança Laboratorial.....	29
SEÇÃO IV.....	65
Critérios para os Níveis de Biossegurança para Animais Vertebrados.....	65
SEÇÃO V.....	89
Avaliação dos Riscos.....	89
SEÇÃO VI.....	97
Níveis de Biossegurança Recomendados para Agentes Infecciosos e Animais Infectados.....	97
SEÇÃO VII.....	101
Relação dos Agentes.....	101
Seção VII-A: Agentes Bacterianos.....	101
Seção VII-B: Agentes Fúngicos.....	127
Seção VII-C: Agentes Parasitários.....	132
Seção VII-D: Príons.....	138
Seção VII-E: Agentes Rickettsiais.....	149
Seção VII-F: Agentes Virais (Não Incluindo o Arbovírus).....	153
Seção VII-G: Arbovírus e Vírus Zoonóticos Relacionados.....	178

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	195
Referências e Lista de Notas.....	195
APÊNDICE A	235
Contenção Primária: Cabines de Segurança Biológica.....	235
APÊNDICE B	247
Imunoprofilaxia.....	247
APÊNDICE C	249
Transporte e Transferência de Agentes Biológicos.....	249
APÊNDICE D	255
Patógenos Animais.....	255
APÊNDICE E	257
Fontes de Informações.....	257
APÊNDICE F	259
Segurança do Laboratório e Resposta de Emergência para Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia.....	259
APÊNDICE G	265
Gerenciamento Integrado de Roedores e de Insetos.....	265
APÊNDICE H	271
Trabalhos com Células e Tecidos Humanos e de Outros Primatas.....	271
APÊNDICE I	273
Normas para o Trabalho com Toxinas de Origem Biológica.....	273
ÍNDICE REMISSIVO	279
EQUIPE TÉCNICA E EDITORIAL	287

RELAÇÃO DE TABELAS, FIGURAS E LISTAS

RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela 1. Resumo dos níveis de biossegurança recomendados para agentes infecciosos	64
Tabela 2. Resumo dos níveis de biossegurança recomendados para as atividades nas quais animais vertebrados infectados naturalmente ou experimentalmente são utilizados	88
Tabela 3. As doenças causadas por príons	139
Tabela 4. Agentes causadores de infecções adquiridas em laboratório	179
Tabela 5. Cepas vacinais de vírus do NB-3/4 que podem ser manipuladas em um nível de biossegurança 2	185
Tabela 6. Infecções associadas ao laboratório ou ao laboratório animal (1)	186
Tabela 7. Infecções associadas ao laboratório ou ao laboratório animal (2)	192
Tabela 8. Comparação entre as cabines de segurança biológica	239
Tabela 9. Patógenos animais	255

RELAÇÃO DE FIGURAS

Figura 1. Cabine de segurança biológica classe I	241
Figura 2a. Cabine de segurança biológica classe II, tipo A	242

Figura 2b. Cabine de segurança biológica classe II, tipo B1	243
Figura 2c. Cabine de segurança biológica classe II, tipo B2	244
Figura 2d. Cabine de segurança biológica classe II, tipo B3	245
Figura 3. Cabine de segurança biológica classe III.....	246
Figura 4. Embalagem e rotulagem de substâncias infecciosas.....	254
Figura 5. Embalagem e rotulagem de amostras clínicas	254

RELAÇÃO DE LISTAS

Lista 1. Precauções padrão para autópsias de pacientes com suspeita de doença por príons	145
Lista 2. Procedimentos de descontaminação da sala de autópsia	146
Lista 3. Procedimentos de corte do cérebro.....	147
Lista 4. Preparação do tecido.....	147
Lista 5. Arbovírus e arenavírus designados para o nível de biossegurança 2.....	182
Lista 6. Arbovírus e alguns outros vírus designados para o nível de biossegurança 3 (com base em experiência insuficiente)	189
Lista 7. Arbovírus e alguns outros vírus designados para o nível de biossegurança 3	190
Lista 8. Arbovírus, arenavírus e filovírus designados para o nível de biossegurança 4	193

APRESENTAÇÃO

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

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

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

Ao apresentar este livro, tradução autorizada do original em inglês “*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – 4th Edition – CDC-INH, 1999*”, esperamos atender às necessidades de conhecimento básico de biossegurança laboratorial dos profissionais participantes do Programa Nacional de Capacitação em Biossegurança Laboratorial, que está sendo desenvolvido pelo Centro Nacional de Epidemiologia da Fundação Nacional de Saúde (Cenepi/Funasa), e constituir um roteiro atualizado de condutas gerais de segurança para os profissionais que atuam na Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública.

Brasília (DF), abril de 2004.

Jarbas Barbosa da Silva Junior
Secretário de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde

PREFÁCIO

Esta publicação descreve as combinações das práticas padrão de microbiologia e as especiais dos equipamentos de segurança e das instalações que constituem os níveis de biossegurança de 1-4 recomendados para um trabalho que envolva uma variedade de agentes infecciosos em vários estabelecimentos laboratoriais.

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

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

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

- Em resposta à preocupação global referente às doenças infecciosas emergentes e às reemergentes, a seção de Avaliação de Riscos foi ampliada para proporcionar ao laboratorista informações adicionais para facilitar a implantação de tais determinações.

- Devido à grande demanda de projetos e construções de laboratórios biomédicos e microbiológicos, particularmente nos níveis de biossegurança 3, foram incorporados esclarecimentos e acréscimos às seções “Instalações”, em particular às seções III e IV. O objetivo é a expansão da abordagem baseada na atuação, com o objetivo de se obter uma contenção apropriada.
- Com a identificação da encefalopatia espongiforme bovina (EEB) na Inglaterra, houve um aumento significativo do interesse sobre doenças provocadas por príons. Por essa razão, foi acrescentado um apêndice para direcionar as várias preocupações associadas ao trabalho com tais agentes.
- Como têm ocorrido várias infecções associadas a laboratórios envolvendo agentes previamente conhecidos e desconhecidos, foram modificados ou acrescentados vários resumos das características de agentes nesta edição.
- Os resumos de agentes agora contêm informações sobre os requisitos necessários para a obtenção de licenças para o transporte de microorganismos infecciosos. O motivo para essa modificação foi a preocupação em relação ao crescente transporte nacional e internacional de microorganismos infecciosos.
- E, finalmente, nestes últimos anos, houve uma preocupação crescente em relação ao bioterrorismo, o que tem provocado um considerável interesse nas questões que envolvem a biossegurança. Portanto, foi acrescentado um apêndice para ajudar na concentração das atenções sobre as necessidades de se aumentar a segurança nos laboratórios de microbiologia.

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

SEÇÃO I

INTRODUÇÃO

Laboratórios de microbiologia são, com frequência, ambientes singulares de trabalho que podem expor as pessoas próximas a eles, ou que neles trabalham, a riscos de doenças infecciosas identificáveis. As infecções contraídas em um laboratório têm sido descritas por meio da história da microbiologia. Os relatórios de microbiologia publicados na virada do século descreveram casos de tifo, cólera, mormo, brucelose e tétano associados a laboratórios.¹ Em 1941, Meyer e Eddie² publicaram uma pesquisa de 74 casos de brucelose associados a laboratório ocorridos nos Estados Unidos e concluíram que “a manipulação de culturas ou espécies e a inalação da poeira contendo a bactéria *Brucella* são eminentemente perigosas para os trabalhadores de um laboratório”. Inúmeros casos foram atribuídos à falta de cuidados ou a uma técnica de manuseio ruim de materiais infecciosos.

Em 1949, Sulkin e Pike³ publicaram a primeira de uma série de pesquisas sobre infecções associadas a laboratórios. Eles constataram 222 infecções virais, sendo 21 delas fatais. Em pelo menos um terço dos casos, a provável fonte de infecção estava associada ao manuseio de animais e tecidos infectados. Acidentes conhecidos foram registrados em 27 (12%) dos casos relatados.

Em 1951, Sulkin e Pike⁴ publicaram a segunda de uma série de pesquisas baseada em um questionário enviado a 5.000 laboratórios. Somente um terço dos 1.342 casos citados foi relatado na literatura. A brucelose era a infecção mais frequentemente encontrada nos relatórios em relação às infecções contraídas em um

laboratório e, juntamente com a tuberculose, a tularemia, o tifo e a infecção estreptocócica, contribuía para 72% de todas as infecções bacterianas e 31% das infecções causadas por outros agentes. O índice total de mortalidade era de 3%. Somente 16% de todas as infecções relatadas estavam associados a um acidente documentado. A maioria desses estava relacionada ao uso de pipetas, seringas e agulhas.

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

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

Em 1974, Skinholj⁸ publicou os resultados de uma pesquisa segundo a qual os funcionários dos laboratórios clínicos dinamarqueses apresentavam uma relatada incidência de hepatite (2,3 casos ao ano por 1.000 funcionários) sete vezes maior que a população em geral. De maneira semelhante, uma pesquisa de 1976, realizada por Harrington e Shannon,⁹ indicou que os trabalhadores de laboratórios médicos na Inglaterra apresentavam um risco cinco vezes maior de adquirir uma tuberculose do que a população em geral. A hepatite B e a shigelose também eram conhecidas por serem um contínuo risco ocupacional. Junto com a tuberculose, essas eram as três causas mais comuns de infecções associadas a laboratório relatadas na Grã-Bretanha.

Embora esses relatórios sugerissem que os funcionários de laboratórios corriam um elevado risco de se contaminar pelos agentes que eles próprios manipulavam, os índices atuais de infecção não se encontram disponíveis. Porém, os estudos de Harrington e Shannon e os de Skinholj¹⁰ indicam que as equipes laboratoriais apresentavam maiores índices de tuberculose, shigelose e de hepatite B do que a maioria da população em geral.

Ao contrário das ocorrências documentadas de infecções contraídas por funcionários de laboratórios, esses laboratórios que trabalham com agentes infecciosos não representam uma ameaça à sociedade. Por exemplo, embora 109 casos de infecções associadas a laboratórios tenham sido registrados nos Centros de Prevenção e Controle de Doenças, de 1947 a 1973,¹¹ nenhum caso secundário foi relatado nos membros da família ou em contatos comunitários. O Centro Nacional de Doença Animal relatou uma experiência¹² semelhante, sem nenhum caso secundário ocorrido nos contatos laboratoriais e não-laboratoriais em relação aos 18 casos de infecções associadas a laboratório no período de 1960 a 1975. Por meio de um caso secundário da doença de Marburg, contraído pela esposa de um paciente de caso primário, concluiu-se que a infecção havia sido sexualmente transmitida dois meses após o marido ter recebido alta do hospital.¹³ Três casos secundários de varíola foram relatados em dois surtos associados a laboratório, na Inglaterra, em 1973¹⁴ e 1978.¹⁵ Relatos anteriores de seis casos de febre Q entre os funcionários de uma lavanderia comercial que lavava os uniformes e as roupas de um laboratório que manipulava o agente,¹⁶ um caso de uma pessoa que visitava o laboratório¹⁷ e dois casos de febre Q em contatos domiciliares de um rickettsiologista¹⁸ também foram constatados. Existe o relato de um caso de transmissão do vírus B de um macaco para um tratador de animais infectados e deste para sua esposa, aparentemente provocado pelo contato do vírus com a pele lesionada do indivíduo.¹⁹ Esses casos são representativos da natureza esporádica e da pouca frequência das infecções na comunidade de trabalhadores de laboratório que lidam com agentes infecciosos.

Na revisão de 1979,²⁰ Pike chegou à conclusão de que o conhecimento, as técnicas e o equipamento para a prevenção das infecções laboratoriais já estavam disponíveis. Nos Estados Uni-

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

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

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

guro de sangue e de fluidos corporais, como descrito na recente publicação da OSHA, intitulada *Padrão de Patógenos Sangüíneos*.²⁶

No final dos anos 80, havia uma grande preocupação com o lixo médico-hospitalar, o que levou à publicação do *Ato de Rastreamento de Lixo Hospitalar*, de 1988.²⁷ Os princípios estabelecidos nos volumes anteriores do BLBM, para o manuseio de dejetos potencialmente infecciosos como um risco ocupacional, foi reforçado pela Pesquisa do Conselho Nacional intitulada *Biossegurança em Laboratórios: Práticas Prudentes para o Manuseio e Remoção de Materiais Infecciosos*.²⁸

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

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

SEÇÃO II

PRINCÍPIOS DE BIOSSEGURANÇA

O termo *contenção* é usado para descrever os métodos de segurança utilizados na manipulação de materiais infecciosos em um meio laboratorial onde estão sendo manejados ou mantidos. O objetivo da contenção é reduzir ou eliminar a exposição da equipe de um laboratório, de outras pessoas e do meio ambiente em geral aos agentes potencialmente perigosos.

A contenção primária, a proteção da equipe do laboratório e do meio de trabalho contra a exposição aos agentes infecciosos, é proporcionada por uma boa técnica de microbiologia e pelo uso de um equipamento de segurança adequado. O uso de vacinas pode fornecer um elevado nível de proteção pessoal. Já a *contenção secundária*, a proteção do meio ambiente externo ao laboratório contra a exposição aos materiais infecciosos, é proporcionada pela combinação de um projeto das instalações e das práticas operacionais. Dessa forma, os três elementos de contenção incluem a prática e a técnica laboratorial, o equipamento de segurança e o projeto da instalação. A avaliação do risco do trabalho a ser realizado com um agente específico determinará a combinação adequada desses três elementos.

PRÁTICA E TÉCNICA LABORATORIAL: O elemento de contenção mais importante é a adesão rígida às práticas e às técnicas padrão de microbiologia. As pessoas que trabalham com agentes infecciosos ou com materiais potencialmente contaminados devem se conscientizar dos riscos potenciais, devem ser treinadas e estar aptas a exercer as técnicas e práticas necessárias para o manuseio seguro dos materiais. Cabe ao diretor ou à pessoa responsável

pelo laboratório a função de fornecer ou elaborar um treinamento adequado para os funcionários.

Cada laboratório deverá desenvolver ou adotar um manual de biossegurança ou de operações que identifique os riscos que podem ser encontrados e que especifique também as práticas e os procedimentos específicos para minimizar ou eliminar as exposições aos perigos. Os funcionários devem receber informações sobre os riscos especiais, devem ler e seguir todas as práticas e os procedimentos solicitados. Um cientista treinado e com grande conhecimento das técnicas laboratoriais apropriadas, dos procedimentos de segurança e dos perigos associados ao manuseio de agentes infecciosos deve ser o responsável pela condução do trabalho envolvendo quaisquer agentes ou materiais infecciosos.

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

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

EQUIPAMENTO DE SEGURANÇA (BARREIRAS PRIMÁRIAS): O equipamento de segurança inclui as cabines de segurança biológica (CSB), os recipientes adequados e outros controles da engenharia de segurança projetados para remover ou minimizar exposições aos materiais biológicos perigosos. A CSB é o dispositivo principal utilizado para proporcionar a contenção de borrifos ou aerossóis infecciosos provocados por inúmeros procedimentos microbiológicos. Três tipos de cabines de segurança biológica (classes I, II e III) usados em laboratórios de microbiologia estão descritos e ilustrados no apêndice A. As cabines de segurança biológica classes I e II, que possuem a frente aberta, são barreiras primárias que oferecem níveis significativos de proteção para a equipe do laboratório e para o meio ambiente quando utilizados com boas técnicas microbiológicas. A cabine de segurança biológica classe II também

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

Um outro exemplo de barreira primária é o copo de segurança da centrífuga, um recipiente conectado à centrífuga projetado para evitar que aerossóis sejam liberados durante uma centrifugação. Para minimizarmos esse perigo, controles de contenção como as cabines de segurança biológica ou os copos da centrífuga deverão ser utilizados na manipulação de agentes infecciosos que possam ser transmitidos com a exposição aos aerossóis.

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

PROJETO E CONSTRUÇÃO DAS INSTALAÇÕES (BARREIRAS SECUNDÁRIAS): O planejamento e a construção das instalações contribuem para a proteção da equipe do laboratório, proporcionando uma barreira de proteção para as pessoas que se encontram fora do laboratório e para as pessoas ou os animais da comunidade contra agentes infecciosos que podem ser liberados acidentalmente pelo laboratório. A gerência do laboratório deve zelar para que as instalações estejam de acordo com o funcionamento do mesmo e com o nível de biossegurança recomendado para os agentes que forem ali manipulados.

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

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

NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA: Os quatro níveis de biossegurança (NB) estão descritos na seção III e consistem em combinações de práticas e técnicas de laboratório, equipamentos de segurança e instalações do laboratório. Cada combinação é especificamente adequada para operações realizadas, vias de transmissões documentadas ou suspeitas de agentes infecciosos e funcionamento ou atividade do laboratório.

Os níveis de biossegurança recomendados para os organismos da seção VII (Resumo dos Agentes) representam as condições nas quais o agente pode ser manuseado com segurança. O diretor do

laboratório é o responsável pela avaliação dos riscos e pela aplicação adequada dos níveis de biossegurança recomendados. Geralmente, o trabalho com agentes desconhecidos deve ser conduzido em um nível de biossegurança recomendado pela seção VII. Práticas mais (ou menos) rígidas poderão ser adotadas quando temos uma informação específica disponível que possa sugerir a virulência, a patogenicidade, os padrões de resistência aos antibióticos e às vacinas e a disponibilidade de tratamento ou outros fatores significativamente alterados.

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

O nível de biossegurança 1 representa um nível básico de contenção que se baseia nas práticas padrão de microbiologia sem uma indicação de barreiras primárias ou secundárias, com exceção de uma pia para a higienização das mãos.

NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA 2: As práticas, os equipamentos, a planta e a construção das instalações são aplicáveis aos laboratórios clínicos, de diagnóstico, laboratórios-escola e outros laboratórios onde o trabalho é realizado com um maior espectro de agentes nativos de risco moderado, presentes na comunidade e que estejam associados a uma patologia humana de gravidade variável. Com boas técnicas de microbiologia, esses agentes podem ser

usados de maneira segura em atividades conduzidas sobre uma bancada aberta, uma vez que o potencial para a produção de borrifos e aerossóis é baixo. O vírus da hepatite B, o HIV, a salmonela e o *Toxoplasma spp.* são exemplos de microorganismos designados para esse nível de contenção. O nível de biossegurança 2 é adequado para qualquer trabalho que envolva sangue humano, líquidos corporais, tecidos ou linhas de células humanas primárias em que a presença de um agente infeccioso pode ser desconhecida. Os laboratoristas que trabalham com materiais humanos devem consultar o livro *Padrão de Patógenos Transmitidos pelo Sangue, da OSHA (OSHA Bloodborne Pathogen Standard)*,² para as precauções específicas necessárias.

Os perigos primários em relação aos funcionários que trabalham com esses agentes estão relacionados com acidentes percussivos das exposições da membrana mucosa ou com a ingestão de materiais infecciosos. Deve-se tomar um extremo cuidado com agulhas contaminadas ou com instrumentos cortantes. Embora os organismos rotineiramente manipulados em um nível de biossegurança 2 não sejam transmitidos por aerossóis, os procedimentos envolvendo um alto potencial para a produção de salpicos ou aerossóis que possam aumentar o risco de exposição desses funcionários devem ser conduzidos com um equipamento de contenção primária ou com dispositivos como a CSB ou os copos de segurança da centrífuga. Outras barreiras primárias, como os escudos para borrifos, as proteções faciais, os aventais e as luvas, devem ser utilizadas de maneira adequada.

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

NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA 3: As práticas, os equipamentos de segurança, o planejamento e a construção das dependências são aplicáveis para laboratórios clínicos, de diagnósticos, laboratórios-escola, de pesquisa ou de produções. Nesses locais, realiza-se o trabalho com agentes nativos ou exóticos que possuam um potencial de transmissão via respiratória e que podem causar infecções sérias e potencialmente fatais. O *Mycobacterium tuberculosis*, o vírus da encefalite de St. Louis e a *Coxiella burnetii* são exemplos de mi-

croorganismos determinados para esse nível. Os riscos primários causados aos trabalhadores que lidam com esses agentes incluem a auto-inoculação, a ingestão e a exposição aos aerossóis infecciosos.

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

NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA 4: As práticas, os equipamentos de segurança, o planejamento e a construção das dependências são aplicáveis para trabalhos que envolvam agentes exóticos perigosos, que representam um alto risco por provocarem doenças fatais em indivíduos. Esses agentes podem ser transmitidos via aerossóis e, até o momento, não há nenhuma vacina ou terapia disponível. Os agentes que possuem uma relação antigênica próxima ou idêntica aos dos agentes do nível de biossegurança 4 também deverão ser manuseados nesse nível. Quando possuímos dados suficientes, o trabalho com os agentes deve continuar neste nível ou em um nível inferior. Os vírus, como os de Marburg ou da febre hemorrágica Criméia-Congo, são manipulados no nível de biossegurança 4.

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

O completo isolamento dos trabalhadores de laboratório em relação aos materiais infecciosos aerossolizados é realizado primariamente em cabines de segurança biológica classe III ou com

um macacão individual suprido com pressão de ar positivo. A instalação do nível de biossegurança 4 é geralmente construída em um prédio separado ou em uma zona completamente isolada com uma complexa e especializada ventilação e sistemas de gerenciamento de lixo que evitem uma liberação de agentes viáveis no meio ambiente.

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

DEPENDÊNCIAS PARA ANIMAIS: Os quatro níveis de biossegurança também são descritos para as atividades que envolvem o trabalho de doenças infecciosas com animais experimentais. Essas quatro combinações de práticas, equipamentos de segurança e de instalações são denominadas de níveis de biossegurança animal 1, 2, 3 e 4 e proporcionam níveis crescentes de proteção aos funcionários e ao meio ambiente.

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

Com exceção de circunstâncias extraordinárias (por exemplo, suspeita de uma febre hemorrágica), o processamento inicial de uma amostra clínica e a identificação sorológica de substâncias

isoladas poderão ser realizados de forma segura em um nível de biossegurança 2, o nível recomendado para o trabalho com patógeno do sangue, como o vírus da hepatite B e o HIV. Os elementos de contenção descritos no nível de biossegurança 2 deverão estar de acordo com o padrão da OSHA, “*Exposição Ocupacional aos Patógenos Transmitidos através do Sangue*”,^{3,4} publicado pela Administração de Saúde e Segurança Ocupacional. Isso requer o uso de precauções específicas para todas as amostras clínicas de sangue ou outros materiais potencialmente infecciosos (Precauções ou Padrões Universais).⁵ Além disso, outras recomendações específicas para laboratórios clínicos podem ser obtidas com o Comitê Nacional de Padrões para Laboratórios Clínicos (National Committee for Clinical Laboratory Standard).⁶

As recomendações para o nível de biossegurança 2 e os requerimentos da OSHA enfocam a prevenção à exposição por contato da pele e das mucosas com materiais clínicos. Barreiras primárias, como as cabines de segurança biológica (classes I e II), devem ser usadas em procedimentos que causam gotejamento, pulverização e salpicos de gotas. As cabines de segurança biológica também devem ser usadas no início da manipulação de espécimes clínicos, cuja natureza do teste o requerer, ou em presença de um agente que reconhecidamente transmita infecções por aerossóis (por exemplo, *M. tuberculosis*) ou quando o uso de uma cabine de segurança biológica (classe II) for indicado para proteger a integridade do espécime.

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

IMPORTAÇÃO E EXPEDIÇÃO INTERESTADUAL DE CERTOS MATERIAIS BIOMÉDICOS: A importação de vetores e agentes etiológicos de patologias humanas está sujeita aos regulamentos da *Public Health Service Foreign Quarentine*. Os regulamentos do Serviço de Saúde Pública e do Departamento de Transportes especificam os requisitos necessários para a embalagem, a rotulagem e o embar-

que de agentes etiológicos e amostras para diagnósticos expedidos para o comércio interestadual (veja o apêndice C).

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

SEÇÃO III

NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA LABORATORIAL

Os principais requisitos exigidos para os quatro níveis de biossegurança em atividades que envolvam microorganismos infecciosos e animais de laboratório estão resumidos na tabela 1 desta seção e na tabela 2 da seção IV. Os níveis são designados em ordem crescente, pelo grau de proteção proporcionado ao pessoal do laboratório, ao meio ambiente e à comunidade.

Nível de Biossegurança (NB-1)

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

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

A. Práticas Padrão em Microbiologia

1. O acesso ao laboratório deverá ser limitado ou restrito de acordo com a definição do diretor do laboratório quando estiverem sendo realizados experimentos ou trabalhos com culturas e amostras.

2. As pessoas deverão lavar as mãos após o manuseio de materiais viáveis, após a remoção das luvas e antes de saírem do laboratório.
3. Não é permitido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato, aplicar cosméticos ou armazenar alimentos para consumo nas áreas de trabalho. As pessoas que usam lentes de contato em laboratórios deverão usar também óculos de proteção ou protetores faciais. Os alimentos deverão ser guardados fora das áreas de trabalho em armários ou geladeiras específicos para tal fim.
4. É proibida a pipetagem com a boca; devem ser utilizados dispositivos mecânicos.
5. Devem ser instituídas normas para o manuseio de agulhas.
6. Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de borrfios ou aerossóis.
7. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas, pelo menos, uma vez ao dia e sempre depois de qualquer derramamento de material viável.
8. Todas as culturas, colônias e outros resíduos deverão ser descontaminados antes de serem descartados com um método de descontaminação aprovado, como, por exemplo, esterilização por calor úmido (autoclave). Os materiais que forem ser descontaminados fora do laboratório deverão ser colocados em recipientes inquebráveis, à prova de vazamentos e hermeticamente fechados para serem transportados ao local desejado. Os materiais que forem enviados para descontaminação fora da instituição deverão também ser embalados de acordo com os regulamentos locais, estaduais e federais, antes de serem removidos das dependências do laboratório.
9. O símbolo de “Risco Biológico” deverá ser colocado na entrada do laboratório em qualquer momento em que o agente infeccioso estiver presente no local. Este sinal de alerta deverá indicar o(s) agente(s) manipulado(s) e o nome e o número do telefone do pesquisador.
10. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle de roedores e insetos (veja o apêndice G).

B. Práticas Especiais

Nenhuma.

C. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias)

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

D. Instalações Laboratoriais (Barreiras Secundárias)

1. Os laboratórios deverão possuir portas para o controle do acesso.
2. Cada laboratório deverá conter uma pia para lavagem das mãos.
3. O laboratório deve ser projetado de modo a permitir fácil limpeza. Carpetes e tapetes não são apropriados para laboratórios.
4. É recomendável que a superfície das bancadas seja impermeável à água e resistente ao calor moderado e aos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e químicos usados para a descontaminação da superfície de trabalho e do equipamento.
5. Os móveis do laboratório deverão ser capazes de suportar cargas e usos previstos. Os espaços entre bancadas, cabines e equipamentos deverão ser suficientes de modo a permitir fácil acesso para limpeza.
6. Se o laboratório possuir janelas que se abram para o exterior, estas deverão conter telas de proteção contra insetos.

Níveis de Biossegurança 2 (NB-2)

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

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

A. Práticas Padrão de Microbiologia

1. O acesso ao laboratório deverá ser limitado ou restrito de acordo com a definição do diretor do laboratório quando estiver sendo realizado o experimento.
2. As pessoas devem lavar as mãos após a manipulação de materiais viáveis, após a remoção das luvas e antes de saírem do laboratório.
3. É proibido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato e aplicar cosméticos nas áreas de trabalho. Os alimentos deverão ser guardados fora das áreas de trabalho em armários ou geladeiras específicas para tal fim.
4. É proibida a pipetagem com a boca; devem ser utilizados dispositivos mecânicos.
5. Devem ser instituídas normas para o manuseio de agulhas.
6. Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de borrifos ou aerossóis.
7. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas com desinfetantes que sejam eficazes contra os agentes manipulados, ao final do trabalho ou no final do dia e após qualquer vazamento ou borrifada de material viável.

8. Todas as culturas, colônias e outros resíduos deverão ser descontaminados antes de serem descartados com um método de descontaminação aprovado, como, por exemplo, esterilização por calor úmido (autoclave). Os materiais descontaminados fora do próprio laboratório deverão ser colocados em recipientes inquebráveis, à prova de vazamentos e hermeticamente fechados para serem transportados ao local desejado.
9. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle contra roedores e insetos (veja o apêndice G).

B. Práticas Especiais

1. O acesso ao laboratório deverá ser limitado ou restrito de acordo com a definição do diretor, quando o trabalho com agentes infecciosos estiver sendo realizado. Em geral, pessoas susceptíveis às infecções ou pessoas que quando infectadas possam apresentar sérias complicações não serão permitidas no laboratório ou nas salas dos animais. Por exemplo, pessoas que estejam imunocomprometidas ou imunodeprimidas poderão estar correndo um sério risco de se contaminarem. Cabe ao diretor a decisão final quanto à avaliação de cada circunstância e a determinação de quem deve entrar ou trabalhar no laboratório ou na sala de animais.
2. O diretor do laboratório deverá estabelecer normas e procedimentos com ampla informação a todos que trabalharão no laboratório sobre o potencial de risco associado ao trabalho, bem como sobre os requisitos específicos (por exemplo, imunização) para entrada em laboratório.
3. O símbolo de “Risco Biológico” deverá ser colocado na entrada do laboratório onde agentes etiológicos estiverem sendo utilizados. Este sinal de alerta deverá conter informações como o(s) nome(s) do(s) agente(s) manipulado(s), o nível de biossegurança, as imunizações necessárias, o nome e o número do telefone do pesquisador, o tipo de equipamento de proteção individual que deverá ser usado no laboratório e os procedimentos necessários para sair do laboratório.

4. O pessoal do laboratório deve estar apropriadamente imunizado ou examinado quanto aos agentes manipulados ou potencialmente presentes no laboratório (por exemplo, vacina contra a hepatite B ou teste cutâneo para a tuberculose).
5. Quando apropriado, dependendo do(s) agente(s) manipulado(s), para referência futura, devem ser mantidas amostras sorológicas da equipe do laboratório e de outras pessoas possivelmente expostas aos riscos. Amostras sorológicas adicionais devem ser colhidas periodicamente, dependendo dos agentes manipulados ou da função das instalações laboratoriais.
6. Os procedimentos de biossegurança devem ser incorporados aos procedimentos padrão operacionais ou a um manual de biossegurança específico do laboratório, adotado ou preparado pelo diretor do laboratório. Todo pessoal deve ser orientado sobre os riscos e devem ler e seguir as instruções sobre as práticas e os procedimentos requeridos.
7. O diretor do laboratório deverá assegurar que o laboratório e a equipe de apoio recebam um treinamento apropriado sobre os riscos potenciais associados ao trabalho desenvolvido, as precauções necessárias para prevenção de exposição e os procedimentos para avaliação das exposições. A equipe de funcionários deverá receber cursos anuais de atualização ou treinamento adicional, quando necessários e também no caso de mudanças de normas ou procedimentos.
8. Deve-se sempre tomar uma enorme precaução em relação a qualquer objeto cortante, incluindo seringas e agulhas, lâminas, pipetas, tubos capilares e bisturis.
 - a. Agulhas e seringas hipodérmicas ou outros instrumentos cortantes devem ficar restritos ao laboratório e ser usados somente quando não houver outra alternativa para inoculação parenteral, flebotomia ou aspiração de fluidos de animais de laboratório e de garrafas com diafragma. Recipientes plásticos devem ser substituídos por recipientes de vidro sempre que possível.

- b. Devem ser usadas somente seringas com agulha fixa ou agulha e seringa em uma unidade única descartável usada para injeção ou aspiração de materiais infecciosos. As agulhas descartáveis usadas não deverão ser dobradas, quebradas, reutilizadas, removidas das seringas ou manipuladas antes de desprezadas. Ao contrário, elas deverão ser cuidadosamente colocadas em recipiente resistente a perfurações localizado convenientemente e utilizado para recolhimento de objetos cortantes desprezados. Objetos cortantes não-descartáveis devem ser colocados em um recipiente cuja parede seja bem resistente para o transporte até a área para descontaminação, de preferência por meio de uma autoclave.
 - c. As seringas que possuam um envoltório para a agulha ou sistemas sem agulha e outros dispositivos de segurança deverão ser utilizadas quando necessário.
 - d. Vidros quebrados não devem ser manipulados diretamente com a mão, devem ser removidos por outros meios, tais como vassoura e pá de lixo, pinças ou fórceps. Os recipientes que contêm agulhas, equipamentos cortantes e vidros quebrados contaminados deverão passar por um processo de descontaminação antes de serem desprezados, de acordo com os regulamentos locais, estaduais ou federais.
9. Culturas, tecidos e amostras de fluidos corpóreos ou dejetos potencialmente infecciosos devem ser colocados em um recipiente com uma tampa que evite o vazamento durante a coleta, o manuseio, o processamento, o armazenamento, o transporte ou o embarque.
 10. O equipamento laboratorial e as superfícies de trabalho deverão ser descontaminados rotineiramente com um desinfetante eficaz, após a conclusão do trabalho, com materiais infecciosos e especialmente após borrifos e derramamentos ou depois que outras contaminações por materiais infecciosos tenham ocorrido. O equipamento contaminado deverá ser descontaminado de acordo com as normas locais, estaduais ou federais, antes de ser en-

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

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

C. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias)

1. Devem ser usadas cabines de segurança biológica mantidas de maneira adequada, de preferência de classe II, ou outro equipamento de proteção individual adequado ou dispositivos de contenção física sempre que:
 - a. Sejam realizados procedimentos com elevado potencial de criação de aerossóis ou borrifos infecciosos, como centrifugação, trituração, homogeneização, agitação vigorosa, misturas, ruptura por sonificação, abertura de recipientes contendo materiais infecciosos em que a pressão interna possa ser diferente da pressão ambiental, inoculação intranasal em animais e em cultura de tecidos infectados de animais ou de ovos embrionados.
 - b. Altas concentrações ou grandes volumes de agentes infecciosos forem utilizados. Tais materiais só poderão ser centrifugados fora das cabines de segurança se forem utilizadas centrífugas de segurança e frascos lacrados. Estes só deverão ser abertos no interior de uma cabine de segurança biológica.
2. Proteção para o rosto (máscaras de proteção, protetor facial, óculos de proteção ou outra proteção para respingos) deve ser usada para prevenir respingos ou *sprays* proveniente de materiais infecciosos ou de outros materiais perigosos, quando for necessária a manipulação de microrganismos fora das cabines de segurança biológica.

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

D. Instalações Laboratoriais (Barreiras Secundárias)

1. É exigido um sistema de portas com trancas em dependências que abrigarem agentes restritos (como o definido em 42 CFR 72.6).
2. Considere a construção de novos laboratórios longe de áreas públicas.
3. Cada laboratório deverá conter uma pia para a lavagem das mãos. Recomendamos a construção de pias que funcionem automaticamente ou que sejam acionadas com o pé ou com o joelho.
4. O laboratório deverá ser projetado de modo a permitir fácil limpeza e descontaminação. Carpetes e tapetes não são apropriados para laboratório.
5. As bancadas deverão ser impermeáveis à água e resistentes ao calor moderado e aos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e solventes químicos utilizados na descontaminação das superfícies de trabalho e do equipamento.

6. Os móveis do laboratório devem suportar cargas e usos previstos com espaçamento suficiente entre bancadas, cabines e equipamentos, para permitir acesso fácil para limpeza. As cadeiras e outros móveis utilizados no trabalho laboratorial devem ser cobertos com um material que não seja tecido e que possa ser facilmente descontaminado.
7. Cabines de segurança biológica devem ser instaladas, de forma que a variação da entrada e da saída de ar da sala não provoque alteração nos padrões de contenção de seu funcionamento. As cabines de segurança biológica devem estar localizadas longe de portas e janelas que possam ser abertas, áreas laboratoriais muito cheias e que possuam outros equipamentos potencialmente dilaceradores, de forma que sejam mantidos os parâmetros de fluxo de ar nessas cabines de segurança biológica.
8. Um lava-olhos deve estar disponível.
9. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e luzes fortes e ofuscantes que possam impedir a visão.
10. Não existem exigências em relação à ventilação. Porém, o planejamento de novas instalações deve considerar sistemas mecânicos de ventilação que proporcionem um fluxo interno de ar sem que haja uma recirculação para os espaços fora do laboratório. Caso o laboratório possua janelas que se abram para o exterior, essas deverão possuir telas para insetos.

Nível de Biossegurança 3 (NB-3)

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

Todos os procedimentos que envolverem a manipulação de materiais infecciosos devem ser conduzidos dentro de cabines de

segurança biológica ou de outro dispositivo de contenção física. Os manipuladores devem usar roupas e equipamentos de proteção individual.

Sabe-se, porém, que algumas instalações existentes podem não possuir todas as características recomendadas para um nível de biossegurança 3 (por exemplo, uma área de acesso com duas portas, selamento das entradas de ar). Nessas circunstâncias, um nível aceitável de segurança para a condução dos procedimentos de rotina (por exemplo, procedimentos para diagnósticos envolvendo a reprodução de um agente para identificação, tipagem, teste de susceptibilidade, etc.) poderá ser conseguido com instalações do nível de biossegurança 2, garantindo-se que o ar liberado do laboratório seja jogado para fora da sala; a ventilação do laboratório seja equilibrada para proporcionar um fluxo de ar direcionado para dentro da sala; o acesso ao laboratório seja restrito quando o trabalho estiver sendo realizado; e as práticas padrão de microbiologia, as práticas especiais e o equipamento de segurança para o nível de biossegurança 3 sejam rigorosamente seguidas. A decisão de implementar essas modificações das recomendações do nível de biossegurança 3 deve ser tomada somente pelo diretor do laboratório.

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

A. Práticas Padrão de Microbiologia

1. O acesso ao laboratório deve ser limitado ou restrito de acordo com a definição do diretor do laboratório quando experimentos estiverem sendo realizados.
2. As pessoas devem lavar as mãos após a manipulação de materiais infecciosos, após a remoção das luvas e antes de saírem do laboratório.
3. É proibido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato e aplicar cosméticos dentro da área de trabalho. As pessoas que usarem lentes de contato em laboratórios deverão também usar óculos de proteção ou protetores faciais. Os alimentos devem ser armazenados fora do

ambiente de trabalho em armários ou geladeiras utilizados somente para tal fim.

4. É proibida a pipetagem com a boca e devem ser utilizados dispositivos mecânicos.
5. Devem ser instituídas normas para o manuseio de agulhas.
6. Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de aerossóis.
7. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas pelo menos uma vez ao dia e depois de qualquer derramamento de material viável.
8. Todas as culturas, colônias e outros resíduos relacionados devem ser descontaminados antes de serem descartados, por meio de um método de descontaminação aprovado, como, por exemplo, a autoclavação. Os materiais descontaminados fora da área próxima ao laboratório deverão ser colocados dentro de um recipiente rígido, à prova de vazamento e hermeticamente fechado para ser transportado do laboratório. O lixo infeccioso de laboratórios de níveis de biossegurança 3 deverá ser descontaminado antes de ser removido para locais fora do laboratório.
9. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle de roedores e insetos (veja o apêndice G).

B. Práticas Especiais

1. As portas do laboratório devem permanecer fechadas quando experimentos estiverem sendo realizados.
2. O diretor do laboratório deverá controlar e limitar o acesso ao laboratório. Somente as pessoas necessárias para que o programa seja executado ou o pessoal de apoio devem ser admitidos no local. As pessoas que apresentarem risco aumentado de contaminação ou que possam ter sérias conseqüências, caso sejam contaminadas, não serão permitidas dentro do laboratório ou na sala de animais. Por exemplo, pessoas imunocomprometidas ou imunodeprimidas podem estar mais susceptíveis a uma contaminação. O diretor deverá ser o responsável final pela avaliação de cada caso e pela determinação de quem

deverá ou não entrar ou trabalhar dentro do laboratório. Não é permitida a entrada de menores no laboratório.

3. O diretor do laboratório deverá estabelecer normas e procedimentos por meio dos quais só serão admitidas no laboratório ou nas salas dos animais pessoas que já tiverem recebido informações sobre o potencial de risco, que atendam todos os requisitos para a entrada no mesmo (por exemplo, imunização) e que obedeçam a todas as regras para entrada e saída no laboratório.
4. Quando materiais infecciosos ou animais infectados estiverem presentes no laboratório ou no módulo de contenção, deve ser colocado em todas as portas de acesso do laboratório e das salas de animais um sinal de alerta contendo o símbolo universal de risco biológico e a identificação do agente, do nome do pesquisador principal ou de outro responsável, com endereço completo. O sinal de alerta também deverá indicar qualquer requisito especial necessário para a entrada no laboratório, tais como a necessidade de imunização, respiradores ou outras medidas de proteção individual.
5. O pessoal do laboratório deve ser apropriadamente imunizado ou examinado quanto aos agentes manipulados ou potencialmente presentes no laboratório (por exemplo, vacina para hepatite B ou teste cutâneo para tuberculose). Exames periódicos também são recomendados.
6. Amostras sorológicas de toda a equipe e das pessoas expostas ao risco deverão ser coletadas e armazenadas adequadamente para futura referência. Amostras sorológicas adicionais poderão ser periodicamente coletadas, dependendo dos agentes manipulados ou do funcionamento do laboratório.
7. Um manual de biossegurança específico deverá ser preparado e adotado pelo diretor do laboratório e os procedimentos de biossegurança devem ser incorporados aos procedimentos padrão operacionais. Todo pessoal deve ser orientado sobre os riscos especiais, deve ler e seguir as instruções sobre as práticas e os procedimentos requeridos.

8. A equipe do laboratório e a equipe de apoio deverão receber treinamento adequado sobre os riscos potenciais associados ao trabalho desenvolvido, os cuidados necessários para evitar uma exposição perigosa ao agente infeccioso e sobre os procedimentos de avaliação da exposição. A equipe do laboratório deverá freqüentar cursos anuais de atualização ou treinamento adicional, quando necessário, e também em caso de mudanças de normas e procedimentos.
9. Caberá ao diretor do laboratório assegurar que, antes que o trabalho com os organismos designados para o nível de biossegurança 3 se inicie, toda a equipe do laboratório demonstre estar apta para práticas e técnicas padrão de microbiologia e esteja habilitada também para práticas e operações específicas do laboratório. Podem estar incluídos experiência anterior em manipulação de patógenos humanos, culturas de células e treinamento específico proporcionado pelo diretor do laboratório ou por outros peritos na área de manejo de práticas e técnicas microbiológicas seguras.
10. Deve-se tomar extrema precaução quando objetos cortantes (incluindo seringas e agulhas, lâminas, pipetas, tubos capilares e bisturis) forem manipulados.
 - a. Agulhas e seringas hipodérmicas ou outros instrumentos cortantes devem ficar restritos ao laboratório e ser usados somente quando não houver outra alternativa para inoculação parenteral, flebotomia ou aspiração de fluidos de animais de laboratório e de garrafas com diafragma. Recipientes plásticos devem ser substituídos por recipientes de vidro sempre que possível.
 - b. Devem ser usadas somente seringas com agulha fixa ou agulha e seringa em uma unidade descartável (por exemplo, quando a agulha é parte integrante da seringa) para injeção ou aspiração de materiais infecciosos. As agulhas descartáveis usadas não deverão ser dobradas, quebradas, reutilizadas, removidas das seringas ou manipuladas antes de serem despreza-

- das. Ao contrário, elas deverão ser cuidadosamente colocadas em um recipiente resistente a perfurações localizado convenientemente e utilizado para recolhimento de objetos cortantes desprezados. Objetos cortantes não-descartáveis deverão ser colocados em um recipiente cuja parede deverá ser bem resistente para o transporte até uma área para descontaminação, de preferência com uma autoclave.
- c. Seringas que possuem um envoltório para a agulha ou sistemas sem agulhas e outros dispositivos de segurança deverão ser utilizados quando necessários.
 - d. Vidros quebrados não devem ser manipulados diretamente com a mão, devem ser removidos por outros meios mecânicos, tais como vassoura e pá de lixo, pinças ou fórceps. Os recipientes que contêm agulhas, equipamentos cortantes e vidros quebrados contaminados deverão passar por um processo de descontaminação antes de serem desprezados, de acordo com os regulamentos locais, estaduais ou federais.
11. Todas as manipulações abertas que envolvam materiais infecciosos deverão ser conduzidas no interior de cabines de segurança biológica ou de outros dispositivos de contenção física dentro de um módulo de contenção. Nenhum trabalho em que haja necessidade de abrir a pele para se alcançar os vasos deverá ser conduzido em bancadas abertas. A limpeza deverá ser facilitada pelo uso de toalhas absorventes com uma face de plástico voltada para baixo, recobrando as superfícies de trabalho não perfuradas das cabines de segurança biológica.
12. O equipamento laboratorial e as superfícies de trabalho deverão ser descontaminados rotineiramente com um desinfetante eficaz após a conclusão do trabalho com materiais infecciosos, especialmente no caso de derramamento, vazamentos ou outras contaminações por materiais infecciosos.
- a. Vazamentos de materiais infecciosos deverão ser descontaminados, contidos e limpos pela equipe de profissionais especializados ou por outras pessoas

adequadamente treinadas e equipadas para trabalhar com material infeccioso concentrado. Os procedimentos para vazamento deverão ser desenvolvidos e notificados.

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

C. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias)

1. Roupas de proteção (como jalecos com uma frente inteira, macacão ou uniforme de limpeza) deverão ser usadas pela equipe quando estiver dentro do laboratório. A roupa de proteção não deverá ser usada fora do laboratório. Antes de ser lavada a roupa deverá ser descontaminada e trocada depois de contaminada.
2. Todos deverão usar luvas quando estiverem manuseando materiais infecciosos, animais infectados e equipamentos contaminados.

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

D. Instalações do Laboratório (Barreiras Secundárias)

1. O laboratório, com acesso restrito, deverá estar separado das áreas de trânsito irrestrito do prédio. É exigido um sistema de dupla porta com sistema de intertravamento automático como requisito para entrada no laboratório a partir de corredores de acesso ou outras áreas contíguas. As portas deverão conter fechaduras (veja o apêndice F). Uma sala para a troca de roupas deverá ser incluída no laboratório.
2. Cada sala do laboratório deverá possuir uma pia para lavagem das mãos. A pia deverá ser acionada automaticamente sem o uso das mãos e estar localizada perto da porta de saída.
3. As superfícies das paredes internas, dos pisos e dos tetos das áreas, em que os agentes de NB-3 são manipulados, deverão ser construídas e mantidas de forma que facilitem a limpeza e a descontaminação. Toda a superfície deve ser selada e sem reentrâncias. As paredes, os tetos e os pisos deverão ser lisos, impermeáveis e resistentes a

substâncias químicas e desinfetantes normalmente usados em laboratórios. Os pisos deverão ser monolíticos e antiderrapantes. O uso de revestimento de piso deverá ser levado em consideração. Orifícios ou aberturas nas superfícies de pisos, paredes e teto deverão ser selados. Dutos e espaços entre portas e esquadrias devem permitir o selamento para facilitar a descontaminação.

4. As bancadas deverão ser impermeáveis e resistentes ao calor moderado e aos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e solventes químicos utilizados para descontaminação de superfícies e equipamentos.
5. Os móveis do laboratório deverão suportar cargas e usos previstos com espaçamento suficiente entre bancadas, cabines e equipamentos para permitir acesso fácil para a limpeza. As cadeiras e outros móveis utilizados em um laboratório deverão ser cobertos por uma material que não seja tecido e possa ser facilmente descontaminado.
6. Todas as janelas do laboratório deverão ser fechadas e lacradas.
7. Um método para descontaminação de todos os dejetos do laboratório deverá estar disponível para a equipe e ser utilizado de preferência dentro do laboratório (por exemplo, autoclave, desinfecção química, incineração ou outros métodos aprovados de descontaminação). Deve-se considerar os meios de descontaminação de equipamentos. Caso o lixo seja transportado para fora do laboratório, ele deverá ser adequadamente lacrado e não deverá ser transportado em corredores públicos.
8. Deverão existir cabines de segurança biológica em todos os laboratórios. Essas cabines deverão estar distantes de portas, de venezianas, do almoxarifado e de áreas do laboratório que possuam um grande movimento.
9. O laboratório deverá ter um sistema de ar independente, com ventilação unidirecional que permita que o fluxo de ar penetre no laboratório através da área de entrada. O sistema de ar deverá tirar o ar “contaminado” para fora do laboratório e jogar o ar de áreas “limpas” para dentro do

mesmo. O ar de exaustão não deverá recircular em outras áreas do prédio. A filtração e outros tratamentos do ar liberado não são necessários, mas poderão ser utilizados dependendo das condições do local, dos agentes específicos manipulados e das condições de uso. O ar liberado deverá ser jogado fora de áreas ocupadas e de entradas de ar ou deverá ser filtrado através de filtro HEPA (*High Efficiency Particulated Air*). A equipe do laboratório deverá verificar constantemente se o fluxo de ar (para dentro do laboratório) está funcionando de forma adequada. Recomenda-se que um monitor visual seja instalado para indicar e confirmar a entrada direcionada do ar para dentro do laboratório. Devemos considerar a instalação de um sistema de controle HVAC para evitar uma pressurização positiva contínua do laboratório. Alarmes audíveis também são recomendados para notificar a equipe de uma possível falha no sistema HVAC.

10. O ar exaurido de uma cabine de segurança biológica classe II, filtrado pelo HEPA, poderá recircular no interior do laboratório se a cabine for testada e certificada anualmente. O ar exaurido das cabines de segurança biológica deve ser retirado diretamente para fora do ambiente de trabalho através do sistema de exaustão do edifício. As cabines deverão estar conectadas de maneira que evitem qualquer interferência no equilíbrio do ar das cabines ou do sistema de exaustão do edifício (por exemplo, uma abertura de ar entre o exaustor das cabines e o duto do exaustor). Quando as cabines de segurança biológica classe III forem utilizadas, estas deverão estar conectadas diretamente ao sistema de exaustores. Se as cabines de classe III estiverem conectadas ao sistema de insuflação do ar, isso deverá ser feito de tal maneira que previna uma pressurização positiva das cabines (veja o apêndice A).
11. Centrífugas de fluxo contínuo ou outros equipamentos que possam produzir aerossóis deverão ser refrutados por dispositivos que liberem o ar através de filtros HEPA antes de serem descarregados no do laboratório. Esses sistemas HEPA deverão ser testados anualmente. Uma

outra alternativa seria jogar o ar de saída das cabines para fora, em locais distantes de áreas ocupadas ou das entradas de ar.

12. As linhas de vácuo deverão ser protegidas por sifões contendo desinfetantes líquidos e filtros HEPA ou o equivalente. Os filtros deverão ser substituídos quando necessário. Uma alternativa é usar uma bomba a vácuo portátil (também adequadamente protegida com sifões e filtros).
13. Um lava-olhos deve estar disponível no laboratório.
14. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e brilhos que possam ofuscar a visão.
15. O projeto da instalação e os procedimentos operacionais do nível de biossegurança 3 devem ser documentados. Os parâmetros operacionais e das instalações deverão ser verificados quanto ao funcionamento ideal antes que o estabelecimento inicie suas atividades. As instalações deverão ser verificadas pelo menos uma vez ao ano.
16. Proteções adicionais ao meio ambiente (por exemplo, chuveiros para a equipe, filtros HEPA para filtração do ar exaurido, contenção de outras linhas de serviços e a descontaminação dos efluentes) deverão ser consideradas em conformidade com as recomendações para manipulação dos agentes, com as normas de avaliação de risco, condições do local ou outras normas locais, estaduais ou federais aplicáveis.

Nível de Biossegurança 4 (NB-4)

O nível de biossegurança 4 é indicado para o trabalho que envolve agentes exóticos e perigosos que exponham o indivíduo a um alto risco de contaminação de infecções que podem ser fatais, além de apresentarem um potencial elevado de transmissão por aerossóis. Os agentes com uma relação antigênica próxima ou idêntica aos dos agentes incluídos no nível de biossegurança 4 deverão ser manipulados neste nível até que se consigam dados suficientes para confirmação do trabalho neste nível ou para o trabalho em um nível inferior. A equipe do laboratório deverá ter um treinamento específico e completo direcionado para a manipulação de agentes infecciosos extremamente perigosos e deverá ser

capaz de entender as funções da contenção primária e secundária, das práticas padrão específicas, do equipamento de contenção e das características do planejamento do laboratório. Os trabalhadores deverão ser supervisionados por cientistas competentes, treinados e com vasta experiência no manuseio dos agentes. O acesso ao laboratório deverá ser rigorosamente controlado pelo diretor. A instalação deverá ser em um edifício separado ou em uma área controlada dentro do edifício que seja totalmente isolada de todas as outras. Um manual de operações específico para as instalações deverá ser preparado ou adotado.

Dentro do ambiente de trabalho, todas as atividades deverão permanecer restritas às cabines de segurança biológica classes III ou II usadas com roupas de proteção com pressão positiva, ventiladas por sistema de suporte de vida. O laboratório do nível de biossegurança 4 deverá possuir características específicas quanto ao projeto e à engenharia para prevenção da disseminação de microorganismos dentro do meio ambiente.

As seguintes práticas padrão de segurança e especiais, bem como as instalações, se aplicam aos agentes pertencentes ao nível de biossegurança 4:

A. Práticas Padrão de Microbiologia

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

B. Práticas Especiais

1. Somente as pessoas envolvidas na programação e no suporte ao programa a ser desenvolvido, cujas presenças forem solicitadas no local ou nas salas do laboratório, deverão ter permissão para entrada no local. As pessoas que estiverem imunocomprometidas ou imunodeprimidas estarão correndo um alto risco de adquirir infecções. Portanto, as pessoas que forem susceptíveis ou as pessoas em que uma eventual contaminação possa provocar sérios danos, como no caso de crianças ou gestantes, não receberão permissão para entrar no laboratório ou nas salas de animais.

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

2. Quando materiais infecciosos ou animais infectados estiverem presentes no laboratório, deve ser colocado em todas as portas de acesso ao laboratório e às salas de animais um sinal de alerta contendo o símbolo universal de risco biológico. O sinal de alerta deverá identificar o agente, relacionar o nome do diretor do laboratório ou outra pessoa responsável e também indicar qualquer requisito especial necessário para a entrada na área (por exemplo, necessidade de imunização, respiradores ou outras medidas de proteção individual).
3. O diretor do laboratório deverá ser o responsável por assegurar que, antes de iniciar o trabalho com organismos

pertencentes ao nível de biossegurança 4, toda a equipe demonstre uma alta competência em relação a práticas e técnicas microbiológicas e a práticas e operações especiais específicas do laboratório. Isso poderá incluir uma experiência anterior no manuseio de patógenos humanos, culturas de células ou em um treinamento específico fornecido pelo diretor do laboratório ou por outro perito com experiência nessas técnicas e práticas microbiológicas singulares.

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

ção a cada saída do laboratório. A entrada e a saída de pessoal por antecâmara pressurizada somente deverão ocorrer em situações de emergência.

9. Para entrar no laboratório, a roupa comum deverá ser trocada (nos vestiários externos) por roupa protetora completa e descartável. Todas as roupas usadas no laboratório (incluindo roupas de baixo, calças e camisas ou macacões, sapatos e luvas) deverão ser fornecidas e utilizadas por todas as pessoas que entrarem no laboratório. Ao deixarem o local e antes de se dirigirem para as áreas de banho, as pessoas deverão retirar a roupa usada no laboratório, no vestiário interno. As roupas sujas deverão passar pela autoclave antes de lavadas.
10. Estoques e materiais necessários para o laboratório deverão ser descontaminados em autoclave de dupla porta, câmara de fumigação ou sistema de antecâmara pressurizada antes de utilizados. Após garantir a segurança das portas externas, a equipe dentro do laboratório deverá retirar os materiais abrindo as portas interiores da autoclave, da câmara de compressão ou da câmara de fumigação. As portas deverão ser trancadas depois da retirada dos materiais.
11. Deve-se sempre tomar extrema precaução com qualquer objeto perfurocortante contaminado, como seringas e agulhas, lâminas, pipetas, tubos capilares e bisturis.
 - a. Agulhas e seringas hipodérmicas ou outros instrumentos cortantes são restritos ao laboratório e usados somente quando não houver outra alternativa para inoculação parenteral, flebotomia ou aspiração de fluidos de animais de laboratório e de garrafas com diafragma. Recipientes plásticos devem ser substituídos por recipientes de vidro sempre que possível.
 - b. Devem ser usadas somente seringas com agulhas fixas ou agulha e seringa em uma unidade única e descartável (por exemplo, quando a agulha é parte integrante da seringa) para injeção ou aspiração de materiais infecciosos. As agulhas descartáveis usa-

- das não deverão ser dobradas, quebradas, reutilizadas, removidas das seringas ou manipuladas antes de desprezadas. Ao contrário, elas deverão ser cuidadosamente acondicionadas em um recipiente resistente a perfurações localizado convenientemente e utilizado para recolhimento de objetos cortantes desprezados. Objetos cortantes não descartáveis deverão ser acondicionados em um recipiente cuja parede deverá ser bem resistente para o transporte até uma área para descontaminação, de preferência por meio de autoclave.
- c. As seringas que possuem um envoltório para a agulha ou sistemas sem agulha e outros dispositivos de segurança deverão ser utilizados quando necessário.
 - d. Vidros quebrados não devem ser manipulados diretamente com a mão, devem ser removidos por meios mecânicos, como vassoura e pá de lixo, pinças ou fórceps. Os recipientes que contêm agulhas, equipamentos cortantes e vidros quebrados contaminados deverão passar por um processo de descontaminação antes de desprezados, de acordo com os regulamentos locais, estaduais ou federais.
12. O material biológico viável ou intacto a ser removido de cabines classe III ou do laboratório de nível de biossegurança deverá ser acondicionado em recipiente de contenção primária lacrado e inquebrável. Este, por sua vez, deverá ser acondicionado em um segundo recipiente também selado e inquebrável que deverá passar por um tanque de imersão contendo desinfetante, uma câmara de fumigação ou por uma câmara de compressão planejada com esse propósito.
13. Nenhum material, com exceção do material biológico, que deverá permanecer intacto ou viável, poderá ser removido de um laboratório de nível de biossegurança 4, sem antes ter sido autoclavado ou descontaminado. Equipamentos ou materiais que não resistam a temperaturas elevadas ou ao vapor deverão ser descontaminados utili-

zando-se gases ou vapor em uma câmara de compressão ou em uma câmara específica para tal fim.

14. O equipamento do laboratório deverá ser descontaminado rotineiramente após o trabalho com materiais infecciosos e especialmente depois de vazamentos, gotejamentos ou outras contaminações por material infeccioso. O equipamento deverá ser descontaminado antes de ser enviado para conserto ou manutenção.
15. Vazamentos de materiais infecciosos deverão ser refrigerados e limpos por profissionais especializados ou outros propriamente treinados e equipados para o trabalho com material infeccioso concentrado. Um procedimento para vazamento deverá ser desenvolvido e adotado pelo laboratório.
16. Um sistema de notificação de acidentes e exposições laboratoriais, absenteísmo de empregados e doenças associadas ao laboratório deverá ser organizado, bem como um sistema de vigilância médica. Relatos por escrito deverão ser preparados e mantidos. Deve-se, ainda, prever uma unidade de quarentena, isolamento e cuidados médicos para o pessoal contaminado por doenças conhecidas ou potencialmente associadas a laboratório.
17. Todos os materiais não relacionados ao experimento que estiver sendo realizado no momento (por exemplo, plantas, animais e roupas) não deverão ser permitidos no laboratório.

C. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias)

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

D. Instalações dos Laboratórios (Barreiras Secundárias)

Existem dois modelos de laboratório de nível de biossegurança 4: (A) é o laboratório cabine, onde todas as manipulações do agente são realizadas em uma cabine de segurança biológica classe III; e (B) é o laboratório escafandro, onde a equipe usa uma roupa de

proteção. Os laboratórios de nível de biossegurança 4 podem se basear em um dos modelos ou em uma combinação dos dois modelos na construção de um só laboratório. Se a combinação for utilizada, cada tipo deverá atender todos os requisitos identificados para o mesmo.

(A) Laboratório Cabine (veja o apêndice A)

1. O laboratório de biossegurança 4 deverá estar separado do prédio ou em uma área claramente demarcada e isolada. As salas do laboratório deverão ser planejadas para assegurar a passagem através de, no mínimo, duas portas antes de se entrar nas salas contendo as cabines de segurança biológica classe III (sala das cabines). Devem estar previstas câmaras de entrada e saída de pessoal, para troca de roupas, separadas por chuveiro. Deve ser previsto, ainda, um sistema de autoclave de duas portas, um tanque de imersão contendo desinfetante, uma câmara de fumigação ou uma ante-sala ventilada para descontaminação na barreira de contenção para o fluxo de materiais, estoques ou equipamentos que não passam pelo interior dos vestiários para chegar até a sala.
2. Inspeções diárias de todos os parâmetros de Contenção (por exemplo, fluxo de ar direcionado) e sistemas de suporte de vida deverão estar concluídos antes que o trabalho se inicie dentro do laboratório, para assegurar que este esteja funcionando de acordo com os parâmetros de operação.
3. As paredes, os pisos e os tetos da sala contendo as cabines e do vestiário interno deverão ser construídos de maneira que formem uma concha interna selada que facilitará a fumigação e evitará entrada e saída de animais e insetos. Os pisos deverão ser totalmente selados e revestidos. As superfícies internas da concha deverão ser resistentes a líquidos e produtos químicos, para facilitar a limpeza e a descontaminação da área. Aberturas ao redor das portas das salas de cabine e dentro dos vestiários internos deverão ser minimizadas e facilmente seladas para facilitar a descontaminação. O sistema de drenagem

do piso da sala da cabine deverá estar conectado diretamente ao sistema de descontaminação do dejetos líquido. O sistema de esgoto e outra linha de serviço deverão conter filtros HEPA e proteções contra animais nocivos, parasitas, etc.

4. As bancadas deverão possuir superfícies seladas e sem reentrâncias que deverão ser impermeáveis à água e resistentes ao calor moderado e aos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e solventes químicos utilizados na descontaminação das superfícies de trabalho e dos equipamentos.
5. Os móveis do laboratório deverão ter uma construção simples e suportar cargas e usos previstos. O espaçamento entre bancadas, cabines, armários e equipamentos deverá ser suficiente para facilitar a limpeza e a descontaminação. As cadeiras e outros móveis usados em um laboratório deverão ser cobertos por um material que não seja tecido e que possa ser facilmente descontaminado.
6. Pias com acionamento automático ou que sejam acionadas sem uso das mãos deverão ser construídas próximas à porta da sala da cabine e perto dos vestiários internos e externos.
7. Se existir um sistema central de vácuo, este não deverá servir às áreas fora da sala das cabines. Filtros HEPA em série deverão ser colocados da forma mais prática possível em cada ponto onde será utilizado ou próximo da válvula de serviço. Os filtros deverão ser instalados de forma a permitir a descontaminação e a substituição local dos mesmos. Outras linhas utilitárias, como a de gás e líquidos, que convergem para a sala das cabines, deverão ser protegidas por dispositivos que evitem o retorno do fluxo.
8. Se houver bebedouros de água, eles deverão ser acionados automaticamente ou com os pés e deverão estar localizados nos corredores do local, fora do laboratório. O serviço de abastecimento da água dos bebedouros deverá ser isolado do sistema de distribuição e abastecimento de água das áreas laboratoriais e deverá ser equipado com um dispositivo que previna o retorno do fluxo.

9. As portas de acesso ao laboratório deverão possuir tranças e fechamento automático.
10. Todas as janelas deverão ser inquebráveis e seladas.
11. Todos os laboratórios deverão possuir autoclaves de duas portas para a descontaminação de materiais que passem pelas cabines de segurança biológica classe III e pelas salas com cabines. As portas das autoclaves, que se abrem para fora da barreira de contenção, deverão ser seladas às paredes da barreira de contenção. Essas portas deverão ser controladas automaticamente de forma que a porta externa da autoclave somente possa ser aberta depois que o ciclo de esterilização da autoclave tenha sido concluído.
12. Todos os laboratórios deverão possuir tanques de imersão contendo desinfetantes, câmaras de fumigação ou métodos equivalentes de descontaminação, de forma que os materiais e os equipamentos que não possam ser descontaminados em uma autoclave sejam removidos de maneira segura das cabines de segurança biológica classe III e das salas com as cabines.
13. Efluentes líquidos vindos da parte suja dos vestiários internos (incluindo os vasos sanitários), das pias das salas das cabines, do sistema de esgoto (se utilizado), das câmaras da autoclave e de outras fontes dentro da sala das cabines deverão ser descontaminados com um método de descontaminação comprovado, de preferência por meio de um tratamento por calor – antes de serem jogados no esgoto sanitário. Os efluentes vindos de chuveiros e vasos sanitários limpos deverão ser jogados no esgoto sem antes passar por um tratamento. O processo usado para a descontaminação de dejetos líquidos deverá ser validado fisicamente e biologicamente.
14. Todos os laboratórios deverão possuir um sistema de ventilação sem uma recirculação. Os componentes de abastecimento e de liberação do sistema deverão estar equilibrados para assegurar um fluxo de ar direcionado da área de menos risco para área(s) de maior risco potencial. O sistema de ar no laboratório deverá prever pressão

diferencial e fluxo unidirecionado de modo a assegurar diferencial de pressão que não permita a saída do agente de risco. O fluxo de ar direcionado/pressão diferencial deverá ser monitorado e deverá conter um alarme que acuse qualquer irregularidade no sistema. Um dispositivo visual que monitorize a pressão de maneira apropriada, que indique e confirme o diferencial da pressão da sala das cabines, deverá ser providenciado e deverá ser colocado na entrada do vestiário. O fluxo de ar de entrada e saída também deverá ser monitorado, e um sistema de controle HEPA deverá existir para evitar uma contínua pressurização positiva do laboratório. A cabine de classe III deverá ser diretamente conectada ao sistema de exaustores. Se a cabine de classe III estiver conectada ao sistema de abastecimento, isso deverá ser feito de forma que previna uma pressurização positiva da cabine.

15. O ar que entra e sai da sala das cabines, do vestiário interno e da ante-sala deverá passar pelo(s) filtro(s) HEPA. O ar deverá ser liberado longe dos espaços ocupados e das entradas de ar. O(s) filtro(s) deverá(ão) estar localizado(s) de maneira mais próxima possível da fonte a fim de minimizar a quantidade de canos potencialmente contaminados. Todos os filtros HEPA deverão ser testados e certificados anualmente. O alojamento dos filtros HEPA deverá ser projetado de maneira que permita uma descontaminação *in situ* do filtro antes de este ser removido ou antes da remoção do filtro em um recipiente selado e de contenção de gás para subsequente descontaminação e/ou destruição por incineração. O projeto do abrigo do filtro HEPA deverá facilitar a validação da instalação do filtro. O uso de filtros HEPA pré-certificados pode ser vantajoso. A vida média de filtros HEPA de exaustão pode ser prolongada com uma pré-filtração adequada do ar insuflado.
16. O projeto e os procedimentos operacionais de um local de nível de biossegurança 4 deverão ser documentados. O local deverá ser testado em função do projeto e dos parâmetros operacionais para ser verificado se estes realmente atendem a todos os critérios, antes que comecem

a funcionar. Os locais deverão ser checados novamente pelo menos uma vez ao ano, e os procedimentos neles existentes deverão ser modificados de acordo com a experiência operacional.

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

(B) Laboratório Escafandro

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

tório. Já a pressão do ar dentro da área da roupa deverá ser menor que aquela das áreas adjacentes. A iluminação e os sistemas de comunicação de emergência deverão ser instalados. Todas as aberturas e fendas dentro da concha interna da sala da roupa de proteção, do chuveiro químico e das fechaduras deverão ser seladas.

2. Uma inspeção diária de todos os parâmetros de contenção (por exemplo, fluxo de ar direcionado, chuveiros químicos) e dos sistemas de suporte de vida deverá estar concluída antes que o trabalho no laboratório se inicie, para garantir que o laboratório esteja operando de acordo com os parâmetros operacionais.
3. Uma autoclave com duas portas deverá ser instalada na barreira de contenção para descontaminação dos dejetos a serem removidos da área do laboratório escafandro. A porta da autoclave, que se abre para a área externa da sala escafandro, deverá ser automaticamente controlada de forma que a porta exterior só possa ser aberta depois que o ciclo de esterilização esteja concluído. Um tanque de imersão, uma câmara de fumigação ou de compressão deverá ser colocado no local para permitir a passagem de materiais, suprimentos ou equipamentos que serão trazidos para o interior do laboratório escafandro, através dos vestiários. Esses dispositivos podem também ser utilizados para a remoção de materiais, suprimentos ou equipamentos que não possam ser descontaminados em uma autoclave.
4. As paredes, os pisos e os tetos do laboratório escafandro deverão ser construídos de maneira que formem uma concha interna selada, que facilite a fumigação e que evite a entrada de animais e insetos (veja o apêndice G). As superfícies internas da concha deverão ser resistentes a líquidos e soluções químicas, facilitando a limpeza e a descontaminação da área. Todas as aberturas e fendas nessas estruturas e superfícies deverão ser seladas. Qualquer sistema de drenagem do piso deverá conter sifões cheios de desinfetante químico de eficácia comprovada contra o agente-alvo que deverão estar conectados diretamente ao

- sistema de descontaminação de dejetos líquidos. O esgoto e outras linhas de serviço deverão conter filtros HEPA.
5. Acessórios internos como dutos de ventilação, sistemas de suprimento de luz e água deverão ser instalados de maneira que minimizem a área da superfície horizontal.
 6. As bancadas deverão possuir superfícies seladas e sem emendas, impermeáveis e resistentes ao calor moderado e aos solventes orgânicos, ácidos, álcalis e solventes químicos utilizados na descontaminação das superfícies de trabalho e nos equipamentos.
 7. Os móveis do laboratório deverão ter uma construção simples e suportar cargas e usos previstos. Recomenda-se o uso de materiais não porosos. Os espaços entre as bancadas, as cabines e armários e o equipamento deverão ser suficientes para facilitar a limpeza e a descontaminação. As cadeiras e outros móveis do laboratório deverão ser cobertos por um material que não seja tecido e que possa ser facilmente descontaminado.
 8. Pias com funcionamento automático ou que sejam acionadas sem o uso das mãos deverão ser construídas próximas à área em conjunto com a roupa de proteção. A construção de pias para a lavagem das mãos nos vestiários internos e externos deverá ser considerada básica para a avaliação de risco.
 9. Se existir um sistema central de vácuo, este não servirá às áreas fora do laboratório conjunto com a roupa de proteção. Os filtros HEPA enfileirados deverão ser colocados da forma mais prática possível em cada ponto em que serão utilizados ou próximo da válvula de serviço. Os filtros deverão ser instalados de modo que permitam a descontaminação e a substituição local dos mesmos. Outros serviços de gás e líquidos para essas áreas conjuntas deverão ser protegidos por meio de dispositivos que evitem o retorno do fluxo.
 10. As portas de acesso ao laboratório deverão possuir trancas e fechamento automático. As portas internas e externas ao chuveiro químico e as internas e externas às en-

tradas de ar deverão ser trancadas para evitar que ambas as portas sejam abertas simultaneamente.

11. Todas as janelas deverão ser resistentes e seladas.
12. Efluentes líquidos provenientes das pias, dos canos de esgoto do piso (se utilizado), das câmaras da autoclave e de outras fontes dentro da barreira de contenção deverão ser descontaminados com um método de descontaminação comprovado, de preferência por um tratamento com calor, antes de serem jogados no esgoto sanitário. Os efluentes vindos de chuveiros e vasos sanitários limpos deverão ser jogados no esgoto sem antes passar por um tratamento. O processo usado para a descontaminação de detritos líquidos deverá ser validado física e biologicamente.
13. Todos os laboratórios deverão possuir um sistema de ventilação sem recirculação. Os componentes de insuflação e exaustão de ar do sistema deverão estar equilibrados para assegurar um fluxo de ar direcionado da área de menos risco para área(s) de maior perigo. Recomendamos o uso de ventiladores para abastecimento e liberação de ar. O fluxo de ar direcionado/pressão diferencial entre as áreas adjacentes deverá ser monitorado e deverá conter um alarme para indicar qualquer irregularidade no sistema. Um dispositivo visual que monitore a pressão de maneira apropriada, que indique e confirme o diferencial da pressão da sala das cabines deverá ser providenciado e colocado na entrada do vestiário. O fluxo de ar nos componentes de abastecimento e escape também deverá ser monitorado, e um sistema de controle HVAC deverá ser instalado para evitar uma pressurização positiva do laboratório.
14. O ar que abastece a área conjunta, o chuveiro químico e a câmara de compressão deverá passar através do filtro HEPA. O ar que sai dessa área conjunta, do chuveiro químico e das câmaras de compressão e de descontaminação deverá passar por dois filtros HEPA em série antes de ser jogado para fora do laboratório. O ar deverá ser lançado distante dos espaços ocupados e das entradas de ar. O(s) filtro(s) HEPA deverão estar localizados de maneira mais

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

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

Tabela 1. Resumo dos níveis de biossegurança recomendados para agentes infecciosos

NB	AGENTES	PRÁTICAS	EQUIPAMENTOS DE SEGURANÇA (Barreiras Primárias)	INSTALAÇÕES (Barreiras Secundárias)
1	Que não são conhecidos por causarem doenças em adultos saudáveis.	Práticas padrão de microbiologia.	Não são necessários.	Bancadas abertas com pia próximas.
2	Associados com doenças humanas, risco = lesão percutânea, ingestão, exposição da membrana mucosa.	Prática de NB-1 mais: <ul style="list-style-type: none"> · acesso limitado; · avisos de risco biológico; · precauções com objetos perfurocortantes; · manual de biossegurança que defina qualquer descontaminação de dejetos ou normas de vigilância médica. 	Barreiras primárias = cabines de classe I ou II ou outros dispositivos de contenção física usados para todas as manipulações de agentes que provoquem aerossóis ou vazamento de materiais infecciosos; procedimentos especiais como o uso de aventais, luvas e proteção para o rosto, quando necessário.	NB-1 mais: autoclave disponível.
3	Agentes exóticos com potencial para transmissão via aerossol; a doença pode trazer consequências sérias ou até fatais.	Práticas de NB-2 mais: <ul style="list-style-type: none"> · acesso controlado; · descontaminação de todo o lixo; · descontaminação da roupa usada no laboratório antes de ser lavada; · amostra sorológica. 	Barreiras primárias = cabines de classe I ou II ou outros dispositivos de contenção usados para todas as manipulações abertas de agentes; uso de aventais, luvas e proteção respiratória, quando necessário.	NB-2 mais: <ul style="list-style-type: none"> · separação física dos corredores de acesso; · portas de acesso duplas com fechamento automático; · ar de exaustão não recirculante; · fluxo de ar negativo dentro do laboratório.
4	Agentes exóticos ou perigosos que impõem um alto risco de doenças que ameaçam a vida, infecções laboratoriais transmitidas via aerossol ou relacionadas a agentes com risco desconhecido de transmissão.	NB-3 mais: <ul style="list-style-type: none"> · mudança de roupa antes de entrar; · banho de ducha na saída; · todo o material descontaminado na saída das instalações. 	Barreiras primárias = todos os procedimentos conduzidos em cabines de classe III ou classe I ou II juntamente com macacão de pressão positiva com suprimento de ar.	NB-3 mais: <ul style="list-style-type: none"> · edifício separado ou área isolada; · sistemas de abastecimento e escape a vácuo e de descontaminação; · outros requisitos sublinhados no texto.

SEÇÃO IV

CRITÉRIOS PARA OS NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA PARA ANIMAIS VERTEBRADOS

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

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

Essas recomendações presumem que as dependências de um laboratório de experimentação animal, as práticas operacionais e a qualidade do tratamento ao animal atendam a padrões e regulamentos aplicáveis (por exemplo, *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*¹ e *Laboratory Animal Welfare Regulations*²) e que espécies adequadas tenham sido selecionadas para os experimentos animais. Além desse aspecto, a organização deverá ter um plano de segurança e de saúde ocupacionais. A publicação recente do *Institute of Medicine, Occupational Health and Safety Care of Research Animals*³ auxilia muito.

O ideal seria que as dependências para animais de laboratório usados nos estudos de doenças infecciosas ou não infecciosas possuísem um isolamento físico de outros locais onde são realizadas atividades, tais como a reprodução animal e a quarentena, de laboratórios clínicos e especialmente de dependências onde pacientes são atendidos. No momento da elaboração do projeto das instalações, deve-se considerar o fluxo de pessoas no local, de forma que minimize o risco de infecções.

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

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

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

Nível de Biossegurança Animal 1 (NBA-1)

O nível de biossegurança animal 1 (NBA-1) é recomendado para o trabalho que envolva agentes bem caracterizados, que não

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

A. Práticas Padrão

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

recipientes rígidos, cobertos e a prova de vazamento para serem adequadamente desprezados de acordo com os requisitos locais ou institucionais aplicáveis. Recomenda-se a incineração.

9. Normas quanto ao manuseio seguro de objetos cortantes deverão ser instituídas.
10. A equipe deverá lavar as mãos após ter manuseado culturas e animais, depois da remoção das luvas e antes de saírem da sala dos animais.
11. Um aviso de risco biológico deverá ser colocado na entrada da sala de animais quando agentes infecciosos estiverem presentes no local. O aviso de risco deverá identificar o(s) agente(s) infeccioso(s) em uso, o nome e o número do telefone da pessoa responsável e indicar os requisitos especiais para a entrada na sala dos animais (por exemplo, necessidade de imunização e do uso de respiradores).
12. Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle de roedores e insetos (veja o apêndice G).

B. Práticas Especiais:

Nenhuma.

C. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias):

1. Recomenda-se o uso de jalecos, aventais e/ou uniformes próprios nas dependências. Estes deverão permanecer no local e não deverão ser usados fora das dependências do laboratório de experimentação animal.
2. As pessoas que tiverem contato com primatas não-humanos deverão avaliar o risco de exposição das mucosas e usar uma proteção para os olhos e a face.⁵

D. Instalações (Barreiras Secundárias):

1. As dependências do laboratório de experimentação animal deverão estar separadas das áreas do edifício abertas ao público.
2. As portas externas do laboratório deverão ser fechadas e trancadas automaticamente. As portas das salas dos ani-

- mais deverão abrir para dentro, fechar automaticamente e ser mantidas fechadas quando os animais estiverem presentes. As portas internas da sala e da ante-sala deverão abrir para fora ou deslizar vertical ou horizontalmente.
3. As dependências deverão ser planejadas, construídas e mantidas de forma a facilitar a limpeza e a manutenção. As superfícies das paredes, dos pisos e dos tetos deverão ser impermeáveis à água.
 4. Acessórios internos, como fixação de luzes, dutos de ar e canos de gás e água deverão ser instalados de forma a minimizar áreas de superfície horizontal.
 5. Janelas não são recomendadas. Qualquer janela deverá ser resistente à quebra. Em todos os locais possíveis, as janelas que porventura existirem deverão ser seladas. Se as dependências para animais possuírem janelas que são abertas, estas deverão conter telas para insetos.
 6. Se houver sistema de drenagem no piso, os ralos deverão sempre conter água e/ou um desinfetante adequado.
 7. A ventilação a ser instalada deverá estar de acordo com a última edição do *Guide for Care and Use of Laboratory Animals*.⁶ Não deverá haver nenhuma recirculação do ar exaurido. Recomenda-se que as salas para os animais sejam mantidas com uma pressão negativa em relação aos corredores adjuntos.
 8. A dependência deverá conter uma pia para lavagem das mãos.
 9. As caixas e gaiolas deverão ser lavadas manualmente ou em uma máquina para sua lavagem mecânica. A máquina deverá ter enxágüe final com água a uma temperatura de pelo menos 72°C (180°F).
 10. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e brilhos que possam impedir a visão.

Nível de Biossegurança Animal 2 (NBA-2)

O nível de biossegurança animal 2 envolve práticas para o trabalho com agentes associados a doenças humanas. Este nível é indicado tanto para riscos advindos da ingestão quanto para expo-

sições da membrana mucosa e cutânea. O NBA-2 baseia-se nos requisitos de práticas padrão, procedimentos, equipamentos de contenção e instalações do NBA-1.

A. Práticas Padrão

1. Além das normas, dos procedimentos e dos protocolos padrão para situações de emergência estabelecidas pelo diretor do local, normas e procedimentos especiais deverão ser desenvolvidos quando necessário e deverão ser aprovados pelo Comitê Institucional de Tratamento e Uso de Animais (IACUC) e pelo Comitê Institucional de Biossegurança (IBC).
2. O acesso às salas dos animais deverá ser limitado, permitindo o acesso ao menor número de pessoas possível. As pessoas que receberem autorização para entrar nas salas para trabalhar ou realizar algum tipo de serviço, quando o trabalho estiver sendo realizado, deverão ser avisadas em relação aos riscos em potencial.
3. Um programa de vigilância médica adequado deverá ser adotado. Toda a equipe deverá ser imunizada e testada contra os agentes manuseados ou potencialmente presentes (por exemplo, vacina de hepatite B e teste cutâneo para TB). Quando apropriado, um sistema de vigilância sorológica deverá ser implementado.⁷
4. Um manual de biossegurança deverá ser preparado ou adotado. A equipe do laboratório deverá ser avisada sobre os riscos especiais, ler e seguir as instruções sobre práticas e procedimentos.
5. É proibido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato e aplicar cosméticos. Os alimentos de uso humano deverão ser guardados somente em áreas designadas para tal fim e não serão permitidos dentro das salas para os animais ou salas de procedimentos.
6. Todos os procedimentos deverão ser realizados com cuidado para minimizar a criação de aerossóis e borrifos.
7. O equipamento e as superfícies de trabalho na sala deverão ser rotineiramente descontaminados com um desin-

fetante de ação comprovada, após o trabalho com o agente e especialmente depois de borrifos, derramamentos ou de outras contaminações com materiais infecciosos.

8. Todas as amostras infecciosas deverão ser coletadas, etiquetadas, transportadas e processadas de maneira que contenham e previnam a transmissão do(s) agente(s). Todos os rejeitos da sala para animais (incluindo tecidos, carcaças e o material das camas contaminadas dos animais, sobra de alimentos e objetos perfurocortantes) deverão ser transportados da sala de animais em recipientes rígidos, cobertos e a prova de vazamentos, de acordo com os requisitos locais aplicáveis. A superfície exterior dos recipientes deverá ser desinfetada antes de o material ser transportado. Antes da incineração o conteúdo deverá ser autoclavado.
9. Normas para um manuseio seguro de objetos perfurocortantes deverão ser adotadas:
 - a. As seringas e agulhas ou outros instrumentos perfurocortantes deverão ficar restritos ao laboratório e ser usados somente quando não houver uma outra alternativa, como nos casos de injeção parenteral, flebotomia, aspiração de líquidos de animais e de garrafas de diafragma.
 - b. Usar seringas que possuam envoltório para a agulha, ou sistemas que não utilizam agulhas e outros dispositivos de segurança quando apropriados.
 - c. Recipientes de plástico deverão ser substituídos por recipientes de vidro sempre que possível.
10. A equipe deverá lavar as mãos após o manuseio de culturas e animais, após a remoção das luvas e antes de sair das dependências dos animais.
11. Um aviso de risco biológico deverá ser colocado na entrada da sala dos animais sempre que houver agentes infecciosos presentes. O aviso deverá conter a identificação do(s) agente(s) infeccioso(s), deverá relacionar o nome e o telefone da pessoa responsável e indicar os requisitos

especiais (por exemplo, necessidade de imunização e do uso de respiradores) para a entrada na sala dos animais.

12. Um programa de controle de insetos e roedores deverá ser adotado (veja o apêndice G).

B. Práticas Especiais

1. As pessoas que tratam dos animais e as que dão suporte ao programa deverão receber treinamento adequado sobre os riscos potenciais associados ao trabalho, sobre as precauções necessárias para evitar exposições e os procedimentos de avaliação da exposição. A equipe deverá receber cursos anuais de atualização ou treinamento adicional quando forem necessárias mudanças de normas ou procedimentos. Os registros de todo o treinamento fornecido deverão ser mantidos. Em geral, as pessoas expostas a um elevado risco de contaminação ou para quem as infecções possam ser perigosas não serão permitidas dentro da sala para animais, a menos que procedimentos especiais possam eliminar os riscos extras.
2. Somente animais usados para o(s) experimento(s) serão permitidos na sala.
3. Todo o equipamento deverá ser adequadamente descontaminado antes de ser removido da sala.
4. Respingos e acidentes que resultem em exposições a materiais infecciosos deverão ser imediatamente relatados ao chefe do laboratório. Avaliação médica, vigilância e tratamento deverão ser providenciados e registros por escrito deverão ser mantidos.

C. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias)

1. Os aventais, uniformes ou jalecos de laboratório deverão ser usados enquanto a pessoa estiver dentro da sala dos animais. O jaleco do laboratório deverá ser removido e mantido dentro da sala. Antes de sair desta, os aventais, uniformes e jalecos deverão ser removidos. As luvas deverão ser usadas ao manipular animais infectados e quando for inevitável o contato da pele com os animais infectados.

2. O equipamento de proteção individual deverá ser baseado nas determinações da avaliação do risco (veja a seção V). Protetores respiratórios e para olhos/rosto deverão ser usados por todos que entrarem nas salas de animais que abrigam primatas não-humanos.⁸
3. Cabines de segurança biológica, assim como outros dispositivos de contenção física e/ou equipamentos de contenção física (por exemplo, respiradores, protetores faciais), deverão ser usados ao conduzir procedimentos que apresentem um alto potencial de criação de aerossóis. Esses procedimentos incluem necropsia de animais infectados, coleta de tecidos, líquidos de animais ou ovos infectados e inoculação intranasal de animais.
4. Quando necessário, os animais deverão ser alojados em equipamentos de contenção primária apropriados às espécies animais. Sistemas com filtros de caixas ou gaiolas deverão sempre ser manipulados em cabines de biocontenção animal, recomendadas para roedores, adequadamente projetadas e operadas.

D. Instalações (Barreiras Secundárias)

1. A dependência para animais deverá ser separada das áreas que são abertas ao trânsito irrestrito de pessoas dentro do edifício.
2. O acesso às dependências deverá ser limitado com portas hermeticamente fechadas. As portas externas deverão ser fechadas e trancadas automaticamente. As portas das salas dos animais deverão se abrir para dentro, ser fechadas automaticamente e mantidas fechadas quando os animais estiverem presentes. As portas internas da sala e da ante-sala deverão ser abertas para fora ou deslizar vertical ou horizontalmente.
3. As dependências deverão ser planejadas, construídas e mantidas de tal forma a facilitar a limpeza e a manutenção. As superfícies das paredes, dos pisos e dos tetos deverão ser impermeáveis à água.

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

Nível de Biossegurança Animal 3 (NBA – 3)

O nível de biossegurança animal 3 envolve as práticas adequadas para o trabalho com animais infectados por agentes nativos ou exóticos que apresentem potencial elevado de transmissão por aerossóis e risco de provocar doenças fatais ou sérias. O NBA-3 baseia-se nos requisitos de práticas padrão, procedimentos, equipamentos de contenção e instalações do NBA-2.

A. *Práticas Padrão*

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

- com agentes infecciosos e especialmente após borrifos, derramamentos ou outras contaminações com materiais infecciosos que tenham ocorrido.
8. Todos os rejeitos da sala de animais (incluindo tecidos, carcaças e o material das camas dos animais contaminados, alimentação que não tenha sido utilizada e objetos perfurocortantes) deverão ser transportados da sala dos animais em recipientes rígidos, a prova de vazamentos e cobertos, para serem desprezados de forma adequada e de acordo com os requisitos locais ou institucionais aplicáveis. Recomendamos a incineração. A superfície externa dos recipientes deverá ser desinfetada antes da remoção do material (veja “Práticas Especiais n.º 3”, a seguir).
 9. Normas quanto ao manuseio seguro de objetos perfurocortantes deverão ser instituídas.
 - a. As seringas e agulhas ou outros instrumentos perfurocortantes deverão ser restritos ao laboratório e somente usados quando não houver outra alternativa, como nos casos de injeção parenteral, flebotomia, aspiração de líquidos de animais e de garrafas de diafragma. Os recipientes de plástico deverão ser substituídos por recipientes de vidro sempre que possível.
 - b. As seringas que possuem um envoltório para a agulha ou sistemas sem agulhas e outros dispositivos de segurança deverão ser utilizados quando necessário.
 - c. Vasilhas plásticas deverão ser substituídas por vasilhames de vidro sempre que possível.
 10. A equipe deverá lavar as mãos após ter manuseado culturas e animais, depois da remoção das luvas e antes de sair da sala dos animais.
 11. Um aviso de risco biológico deverá ser colocado na entrada da sala do laboratório de experimentação animal quando agentes infecciosos estiverem presentes no local. O aviso de risco deverá identificar o(s) agente(s) infeccioso(s) em uso, relacionar o nome e o número do telefone da pessoa responsável e indicar os requisitos es-

peciais para a entrada na sala dos animais (por exemplo, necessidade de imunização e do uso de respiradores).

12. Todas as amostras infecciosas deverão ser coletadas, etiquetadas, transportadas e processadas de maneira que façam a devida contenção e previnam a transmissão de agentes.
13. As pessoas que cuidam dos animais de laboratório e as que dão suporte ao programa deverão receber treinamento adequado sobre os riscos potenciais associados ao trabalho, sobre as precauções necessárias para evitar exposições e os procedimentos de avaliação da exposição. A equipe deverá receber cursos anuais de atualização ou treinamento adicional quando forem necessárias mudanças de normas ou procedimentos. Os registros de todo o treinamento fornecido deverão ser mantidos.
14. Um programa de controle de insetos e roedores deverá ser adotado.

B. Práticas Especiais

1. As caixas e gaiolas dos animais deverão passar pela autoclave ou terão que ser descontaminadas antes que o material da cama seja removido e antes de serem lavadas. O equipamento deverá ser descontaminado de acordo com as normas locais, estaduais ou federais antes de ser embalado para transporte ou remoção do local, para reparo ou manutenção.
2. Deve-se desenvolver um procedimento para o caso de respingos. Somente o pessoal adequadamente treinado e equipado para trabalhar com materiais infecciosos deverá limpar os respingos. Respingos e acidentes que resultem em uma exposição direta com materiais infecciosos deverão ser imediatamente relatados ao chefe do laboratório. Avaliação médica, vigilância e tratamento deverão ser providenciados e registros por escrito deverão ser mantidos.
3. Antes de serem incinerados, todos os rejeitos provenientes das salas de animais deverão passar pela autoclave ou ser tratados com outro método de esterilização.

4. Os materiais que não tiverem relação alguma com o experimento (por exemplo, plantas ou animais que não forem ser utilizados no ensaio) não serão permitidos na sala.

C. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias)

1. Uniformes ou roupas específicos deverão ser usados pelas pessoas que entrarem na sala de animais. As vestimentas terão toda a frente protegida. As roupas abotoadas na frente não são adequadas. O uniforme deverá ser retirado e deixado na sala de animais NBA-3. Antes de sair das salas, as roupas ou os uniformes deverão ser removidos e adequadamente acondicionados e descontaminados antes de lavados ou descartados (no caso de uniformes descartáveis).
2. O equipamento de proteção individual deverá ser usado de acordo com as determinações da avaliação de riscos.
 - a. O equipamento de proteção individual deverá ser usado em todas as atividades envolvendo manipulações de material infeccioso ou de animais infectados.
 - b. A equipe deverá usar luvas ao manusear animais infectados. As luvas deverão ser removidas assepticamente e autoclavadas juntamente com outros lixos da sala de animais antes de descartadas.
 - c. Protetores respiratórios e para olhos/rosto deverão ser usados por todos que entrarem nas salas de animais.
 - d. Botas, sapatilhas ou pró-pés ou outro tipo de proteção para os pés e banhos desinfetantes para os pés ou “lava-pés” deverão ser avaliados e usados onde forem indicados.
3. Podemos reduzir o risco de formação de aerossóis infecciosos advindos da manipulação de animais infectados ou dos materiais utilizados nas camas infectadas, se os animais forem colocados em sistemas de confinamento parcial, como caixas cobertas com filtros e paredes rígidas, colocadas em locais com ventilação direcionada para o interior das mesmas (por exemplo, cabines de fluxo laminar) ou outros sistemas similares de contenção primária.

4. As cabines de segurança biológica e outros dispositivos de contenção física deverão ser usados ao conduzir procedimentos que possuam um alto risco de criação de aerossóis. Esses incluem a necropsia de animais infectados, coleta de tecidos, líquidos de animais ou ovos infectados e inoculação intranasal de animais. Em um laboratório NBA-3, todo o trabalho deverá ser realizado em uma barreira primária, caso contrário as pessoas deverão usar protetores respiratórios dentro da sala.

D. Instalações (Barreiras Secundárias)

1. A dependência para os animais deverá ser separada das áreas que são abertas ao trânsito irrestrito de pessoas dentro do edifício.
2. O acesso às dependências deverá ser limitado por meio de portas que se fecham e se trancam automaticamente, com sistema de intertravamento ou leitura ótica ou cartão magnético. A entrada de pessoal para a sala dos animais deverá ser realizada através de uma antecâmara pressurizada, que deverá incluir chuveiro(s) e um vestiário para troca de roupa. Um acesso adicional com porta dupla (*air-lock*) deverá ser construído ou uma autoclave com porta dupla deverá existir no local para o fluxo de suprimentos e rejeitos dentro e fora do laboratório, respectivamente. As portas para as salas de animais deverão se abrir para dentro e se fechar automaticamente. As portas internas da ante-sala dentro de uma sala para animais deverão ser abertas para fora ou deslizar vertical ou horizontalmente.
3. As instalações de um laboratório de experimentação animal NBA-3 deverão ser planejadas, construídas e mantidas de forma que facilitem a limpeza e a manutenção. As superfícies das paredes, dos pisos e dos tetos deverão ser impermeáveis à água. Selar juntas, fendas ou aberturas em paredes, pisos e tetos. Penetrações das linhas de serviço, tais como água, luz, gás e outras devem ser vedadas. Os espaços entre portas e esquadrias deverão

- permitir um selamento para facilitar a descontaminação do ambiente.
4. Cada sala para animais deverá conter uma pia perto das portas de saída, para lavagem das mãos acionada automaticamente ou sem o uso destas. O sifão da pia deverá conter um desinfetante adequado após o uso da mesma.
 5. Acessórios internos, como fixação de luzes, dutos de ar e canos de gás e água deverão ser instalados de forma a minimizar áreas de superfície horizontal.
 6. Qualquer janela deverá ser resistente à quebra. Em todos os locais possíveis, as janelas que porventura existirem deverão ser vedadas. Se as instalações para animais possuírem janelas que são abertas, estas deverão conter telas contra insetos.
 7. Se houver sistema de drenagem no piso, este deverá sempre conter um desinfetante adequado.
 8. A ventilação instalada deverá estar de acordo com a última edição do *Guide for Care and Use of Laboratory Animals*. Os sistemas de entrada de ar e exaustão devem ser interligados. O sistema cria um fluxo de ar direcionado, retirando o ar contaminado de dentro do laboratório, jogando-o para fora e ao mesmo tempo retirando o ar das áreas “limpas” e jogando-o para dentro do laboratório. O ar exaurido não pode recircular em nenhuma outra área do prédio. Filtração ou outros tipos de tratamento do ar exaurido podem não ser necessários, mas deverão ser considerados, com base nos requisitos do local, nos microorganismos específicos manipulados e nas condições de uso. O ar exaurido deverá ser lançado para longe de áreas ocupadas e de entradas de ar ou poderá ser filtrado através de filtros HEPA. A equipe deverá verificar se a direção do ar insuflado (para dentro das áreas dos animais) está apropriada. Recomenda-se o uso de monitores visuais que indiquem e confirmem o fluxo de ar direcionado para dentro do recinto. Devemos considerar a instalação de um sistema de controle de HVAC para evitar a pressurização positiva nas áreas onde estão os animais. Alar-

mes audíveis devem ser considerados para evidenciar qualquer falha no sistema de controle HVAC.

9. O ar filtrado pelo HEPA de uma cabine de segurança biológica classe II poderá recircular dentro da sala para animais se a cabine for testada e aprovada anualmente. Quando o ar exaurido das cabines de segurança biológica classe II for lançado para fora do ambiente de trabalho, através do sistema de exaustão do edifício, as cabines deverão estar conectadas de maneira que evitem qualquer interferência no equilíbrio do ar das cabines ou do sistema de exaustão do edifício (por exemplo, uma conexão metálica entre o exaustor das cabines e o que se prende ao duto dos exaustores do edifício). Quando as cabines de segurança biológica classe III forem utilizadas, elas deverão estar conectadas diretamente ao sistema de exaustão. Se as cabines de classe III estiverem conectadas ao sistema de insuflação, isso deverá ser feito de tal maneira que previna a pressurização positiva das cabines (veja o apêndice A).
10. As caixas e gaiolas deverão ser lavadas manualmente ou em uma máquina para a lavagem mecânica. A máquina deverá ter enxágüe final com água a uma temperatura de pelo menos 72°C (180°F).
11. Deverá existir uma autoclave dentro da sala de experimentação animal NBA-3, onde o risco está contido, para descontaminação de lixo infeccioso antes de ser removido para outras áreas do local.
12. Se houver um sistema de vácuo (por exemplo, central ou local), cada conexão de serviço deverá possuir um sifão contendo desinfetante líquido e um filtro HEPA em linha, colocado o mais próximo possível de cada ponto de uso ou da válvula de serviço. Os filtros deverão ser instalados de tal forma que permitam a descontaminação e a substituição dos mesmos no local.
13. A iluminação deverá ser adequada para todas as atividades, evitando reflexos e brilhos que possam impedir a visão.
14. O projeto de edificação e os procedimentos operacionais do laboratório de experimentação animal NBA-3 devem

ser documentados. O local deverá ser testado em função do projeto e dos parâmetros operacionais, para que se verifique se realmente eles atendem a todas as necessidades antes que comecem a operar. Os locais deverão ser checados novamente pelo menos uma vez ao ano. Os procedimentos neles existentes deverão ser modificados de acordo com a experiência operacional.

15. Proteções adicionais ao meio ambiente (por exemplo, chuveiros para a equipe, filtros HEPA para filtração do ar exaurido, contenção de outras linhas de serviços e provisão da descontaminação dos efluentes) deverão ser consideradas, se recomendadas devido às características dos agentes manipulados, como determinado pela avaliação do risco das condições locais ou por outros regulamentos locais, estaduais ou federais.

Nível de Biossegurança Animal 4 (NBA-4)

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

A. Práticas Padrão

1. Além de normas, procedimentos e protocolos padrão para situações de emergência estabelecidos pela chefia do laboratório, normas e procedimentos especiais deverão ser desenvolvidos, quando necessário, e aprovados pelo Comitê Institucional de Tratamento e Uso de Animais (IACUC) e pelo Comitê Institucional de Biossegurança (IBC).
2. O chefe do laboratório deverá limitar o acesso às salas dos animais, permitindo o acesso ao menor número de pessoas possível. As pessoas que receberem autorização de

- entrada, para trabalhar ou realizar algum tipo de serviço, deverão ser avisadas em relação ao risco em potencial.
3. Um programa de vigilância médica adequado deverá ser adotado para todas as pessoas que entrarem em um laboratório NBA-4. Esse programa deverá incluir imunizações, coleta para acompanhamento sorológico, disponibilidade de aconselhamento pós-exposição e potencial profilaxia.¹⁰ Em geral, as pessoas que podem estar passando por um crescente risco de adquirir a infecção ou para quem as infecções possam ser perigosas não serão permitidas dentro da sala para animais, a menos que procedimentos especiais possam eliminar os riscos extras. A avaliação deverá ser realizada pelo médico do trabalho.
 4. Um manual de biossegurança específico para o local deverá ser preparado ou adotado. A equipe do laboratório deverá ser avisada sobre os riscos especiais, ler e seguir as instruções sobre práticas e procedimentos.
 5. É proibido comer, beber, fumar, manusear lentes de contato e aplicar cosméticos. O alimento de uso humano deverá ser guardado somente em áreas designadas para tal fim e não será permitido dentro das salas para os animais ou salas de procedimentos.
 6. Todos os procedimentos deverão ser realizados cuidadosamente para minimizar a produção de aerossóis e borrifos.
 7. Os equipamentos e as superfícies de trabalho na sala deverão ser rotineiramente descontaminados com desinfetante que possua ação comprovada, após o trabalho com agentes infecciosos e especialmente após borrifos, derramamentos ou outras contaminações com materiais infecciosos que tenham ocorrido.
 8. Um procedimento para borrifos deverá ser desenvolvido e instituído. Somente o pessoal adequadamente treinado e equipado para esse tipo de trabalho deverá limpar os borrifos de materiais infecciosos. Borrifos e acidentes que resultem em uma exposição direta com materiais infecciosos deverão ser imediatamente relatados ao chefe do laboratório. Avaliação médica, vigilância e tratamento

deverão ser providenciados e registros por escrito deverão ser mantidos.

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

ças de normas ou procedimentos. Os registros de todo o treinamento fornecido deverão ser mantidos.

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

B. Práticas Especiais

1. Medidas adicionais deverão ser efetivadas para controle do acesso (por exemplo, um sistema de guarda durante 24 horas para entrada e saída de pessoas). A equipe deverá entrar ou sair do local somente através do vestiário e das salas de banhos. Cada vez que sair do local, a equipe deverá tomar banho. A entrada ou a saída de pessoal por antecâmara pressurizada somente deverá ocorrer em situações de emergência.
2. Em uma operação na cabine de segurança biológica classe III, a roupa do pessoal deverá ser retirada no vestiário externo e deixada lá mesmo. O traje laboratorial completo, incluindo peças íntimas, calças e camisas ou macacões,

sapatos e luvas, deverá ser providenciado e usado pelo pessoal. Na saída, as pessoas deverão retirar os trajes laboratoriais no vestiário interno antes de entrar na sala de banho. A roupa suja (usada) deverá ser esterilizada na autoclave.

3. Nos procedimentos operacionais em laboratórios NBA-4, deverá ser necessária a mudança completa de roupa. Um banho será necessário após a remoção da roupa descontaminada. As roupas sujas do laboratório deverão ser autoclavadas antes de lavadas.
4. Os materiais e suprimentos que forem introduzidos no laboratório deverão passar por uma autoclave de porta dupla ou por uma câmara de fumigação. Depois que a porta externa estiver trancada, as pessoas dentro do laboratório deverão abrir a porta interna e retirar os materiais. As portas da autoclave e da câmara de fumigação deverão ser interligadas de maneira que a porta externa só seja aberta depois que o ciclo de esterilização tenha sido concluído ou depois que a câmara de fumigação tenha sido descontaminada.
5. Um sistema para notificação de acidentes, incidentes, exposições e absenteísmo deve ser estabelecido, bem como um outro sistema para a vigilância médica de doenças potencialmente associadas ao trabalho em laboratório. Um aspecto essencial para essa vigilância/notificação é a disponibilidade de um local para quarentena, isolamento e atendimento médico de pessoas com suspeitas de contaminação.
6. As amostras sorológicas coletadas deverão ser analisadas periodicamente. Os resultados deverão ser comunicados aos participantes.

C. Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias)

1. Os animais infectados com microorganismos da classe de risco 4 deverão ser alojados dentro de cabines de segurança biológica classe III em um laboratório NBA-4. Em um laboratório NBA-4 escafandro, toda a equipe deverá vestir macacões com pressão positiva e ventilados com

um sistema de suporte de vida. Os animais infectados deverão ser alojados em um sistema de contenção parcial (como em caixas abertas colocadas em locais ventilados, caixas de paredes sólidas, possuindo um sistema de ventilação e exaustão feitas através de filtros e abertas em fluxos laminares ou outros sistemas de contenção primária equivalentes).

2. O uso de materiais descartáveis que não requerem limpeza, incluindo caixas e gaiolas de animais, deverá ser levado em consideração. Esses materiais descartáveis deverão passar pela autoclave na saída do laboratório e depois incinerados.

D. Instalações (Barreiras Secundárias)

Os laboratórios NBA-4 poderão ser incluídos como uma parte integrante dos laboratórios NBA-4 de cabine ou aos laboratórios NBA-4 de escafandro, como descrito na seção III deste documento. Os requisitos para instalação descritos na seção laboratório NB-4 deverão ser utilizados juntamente com o uso das caixas descritas na seção de equipamentos.

Tabela 2. Resumo dos níveis de biossegurança recomendados para as atividades nas quais animais vertebrados infectados naturalmente ou experimentalmente são utilizados

BSL	Agentes	Práticas	Equipamentos de Segurança (Barreiras Primárias)	Instalações (Barreiras Secundárias)
1	Desconhecidos por causarem doenças em adultos humanos saudáveis.	Cuidados com o animal e as práticas padrão de gerenciamento, incluindo programas de vigilância médica adequados.	Cuidados normais solicitados de cada espécie.	Instalação padrão para animais: - nenhuma recirculação do ar exaurido; - recomendação de fluxo de ar direcionado; - recomendação de pia para lavagem das mãos.
2	Associados com doenças humanas. Risco: exposição cutânea, ingestão, exposição da membrana mucosa.	Práticas de NBA-1 mais: - acesso limitado; - avisos de risco; - precaução com objetos perfurocortantes; - manual de biossegurança; - descontaminação de todo o lixo infeccioso e de caixas e gaiolas de animais antes da lavagem.	Equipamento de NBA-1 mais barreiras primárias: equipamento de contenção adequado para espécies animais; PPES: jalecos, luvas, proteção facial e respiradores quando necessários.	Instalações de NBA-1 mais: - autoclave à disposição; - pia para lavagem das mãos dentro da sala de animais; - uso de lavagem mecânica das caixas e gaiolas.
3	Agentes nativos ou exóticos com elevado potencial de transmissão por aerossóis; doenças que podem causar sérios danos à saúde.	Práticas de NBA-2 mais: - acesso controlado; - descontaminação de todo o lixo; - descontaminação da roupa usada no laboratório antes de ser lavada; - amostra sorológica.	Práticas de NBA-2 mais: - acesso controlado; - descontaminação das roupas antes de serem lavadas; - descontaminação das caixas e gaiolas antes de o material da cama ser removido; - lavagem dos pés com desinfetante.	Equipamento de NBA-2 mais: - equipamento de contenção para manutenção dos animais; - cabines SB de classe I ou II para manipulações (inoculação, necropsia) que possam criar aerossóis infecciosos. PPES: proteção respiratória adequada. Instalações de NBA-2 mais: - separação física dos corredores de acesso; - fechamento automático, porta dupla de acesso; - linhas de penetração seladas; - janelas vedadas; - autoclave presente no local.
4	Agentes exóticos ou perigosos que imponham alto risco de doença fatal, transmissão por aerossóis ou relacionada a agentes com risco de transmissão desconhecido.	Práticas de NBA-3 mais: - entrada através do vestiário para troca de roupa onde a roupa pessoal é removida e a do laboratório, vestida. Banho na saída; - todos os lixos deverão ser descontaminados antes da remoção do local.	Equipamento de NBA-3 mais: - equipamento de máxima contenção (CSB classe III ou de contenção parcial junto com macacão pressurizado positivamente com ar) usado para todas as atividades e os procedimentos.	Instalações de NBA-3 mais: - edifício separado ou área isolada; - sistemas de insuflação e exaustão, vácuo e sistemas de descontaminação; - outros requisitos enfatizados no texto.

SEÇÃO V

AVALIAÇÃO DOS RISCOS

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

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

materiais biológicos perigosos pode não depender de um algoritmo prescrito.

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

Ao se realizar a avaliação do risco qualitativo, todos os fatores de risco deverão ser identificados e explorados. Informações relacionadas deverão estar disponíveis na forma de um manual. Consultas às Normas do NIH de DNA Recombinante, Normas de Biossegurança em Laboratórios Canadenses e Normas de Segurança da Organização Mundial da Saúde deverão ser consideradas. Em alguns casos, devemos confiar nas fontes de informações, como os dados de campo de um *expert* no assunto. Essa informação deverá ser interpretada pela sua tendência em aumentar ou diminuir o risco de uma infecção adquirida em laboratório.¹

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

Os fatores de interesse em uma avaliação dos riscos incluem:

- A patogenicidade do agente infeccioso ou suspeito, incluindo a incidência e a gravidade da doença (por exemplo, morbidade média contra uma mortalidade alta, doença aguda versus doença crônica). Quanto mais grave a potencialidade da doença adquirida, maior será o risco. Por exemplo, o *Staphylococcus aureus* raramente provoca uma doença grave ou fatal em um indivíduo contaminado em um laboratório e está relegado ao NB-2. Já vírus como o ebola, Marburg e da febre de Lassa, que provocam doenças com alta taxa de mortalidade, para as quais não existem vacinas ou tratamentos, são trabalhadas em um

NB-4. Porém, a gravidade da doença precisa ser amenizada por outros fatores. O trabalho com um vírus humano de imunodeficiência (HIV) e com o vírus da hepatite B também é feito em um NB-2, embora eles possam causar uma doença potencialmente fatal. Mas esses vírus não são transmitidos por meio de aerossóis, e a incidência de uma infecção adquirida em laboratório é extremamente baixa para o HIV. No caso da hepatite B, já existe uma vacina eficaz contra esta patologia.

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

risco. Essa determinação deverá considerar o meio que contém o organismo (por exemplo, tecido sólido, sangue viscoso, escarro ou meio líquido) e a atividade laboratorial planejada (por exemplo, amplificação, sonificação ou centrifugação do agente). O volume do material concentrado a ser manipulado também é importante. Na maioria dos casos, os fatores de risco aumentam com o aumento do volume de trabalho de microorganismos de alta titulação, uma vez que um manuseio adicional dos materiais é freqüentemente solicitado.

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

a imunização somente servirá como uma camada adicional de proteção mediante os controles de engenharia, as práticas e os procedimentos padrão e o uso de equipamentos de proteção individual. Ocasionalmente, a imunização ou a intervenção terapêutica (terapia com antibióticos ou antiviral) pode ser particularmente importante nas condições de campo. A oferta de imunizações é parte do gerenciamento do risco.

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

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

MATERIAIS CONTENDO AGENTES INFECCIOSOS CONHECIDOS.

As características da maioria dos agentes infecciosos são conhecidas. As informações úteis para a avaliação do risco podem ser obtidas com pesquisas laboratoriais, vigilância da doença e estudos epidemiológicos. Os agentes infecciosos conhecidos por causarem infecções associadas a laboratório estão incluídos no resumo das características dos agentes, neste volume (veja a seção VII). Outras fontes incluem o manual do *American Public Health Association, Control of Communicable Diseases*.² Os artigos literários sobre infecções adquiridas em laboratório também poderão ser úteis.^{3, 4, 5, 6, 7, 8}

MATERIAIS CONTENDO AGENTES INFECCIOSOS DESCONHECIDOS. O desafio aqui é estabelecer o nível de biossegurança mais adequado, tendo em mãos somente informações limitadas. Com

freqüência essas serão amostras clínicas. Algumas perguntas que poderão auxiliá-lo em uma avaliação de risco são as seguintes:

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

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

MATERIAIS CONTENDO MOLÉCULAS DE DNA RECOMBINANTES.

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

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

ao selecionar um nível de biossegurança adequado para o trabalho com um vírus recombinante.

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

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

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

MATERIAIS QUE POSSAM CONTER OU NÃO AGENTES INFECIOSOS DESCONHECIDOS. Na ausência de informações que possam sugerir a infectividade do agente, deve-se considerar as precauções universais.

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

instalações animais para uma aumentada exposição de patógenos humanos e aos agentes zoonóticos.

Os próprios animais podem introduzir novos perigos biológicos nas instalações. As infecções latentes são mais comuns em animais capturados no campo ou em animais vindos de populações não selecionadas. Por exemplo, o vírus-b do macaco apresenta um risco latente aos indivíduos que lidam com símios. As vias de transmissão animais devem também ser consideradas na avaliação do risco. Os animais que transmitem vírus por disseminação respiratória ou disseminação na urina ou nas fezes são muito mais perigosos do que aqueles que não o fazem. As pessoas que lidam com animais experimentais em locais de pesquisas e trabalham com agentes infecciosos apresentam um risco muito maior de exposição devido às mordidas, aos arranhões e aos aerossóis provocados por eles. A seção IV descreve práticas e instalações aplicáveis ao trabalho de animais infectados por agentes listados nos níveis de biossegurança de 1-4.¹

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

SEÇÃO VI

NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA RECOMENDADOS PARA AGENTES INFECCIOSOS E ANIMAIS INFECTADOS

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

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

As recomendações para o uso de vacinas e toxóides estão incluídas nas relações sumárias dos agentes, assim como os produtos licenciados disponíveis, além dos produtos em investigação pelo *Investigational New Drug* (IND) (veja o apêndice B, “Imunoprofila-

xia”). Quando aplicável, as recomendações para o uso desses produtos serão baseadas nas recomendações do *Public Health Service Advisory Committee on Immunization Practice* e são específicas às pessoas que estão expostas a esse tipo de risco, que trabalham em laboratório ou as que têm de entrar em áreas laboratoriais. Essas recomendações específicas de maneira alguma deverão impedir o uso rotineiro desses produtos, como o toxóide tetânico-diftérico, a vacina contra pólio, a vacina contra influenza e outras, porque o risco potencial de exposição da comunidade independe de quaisquer riscos laboratoriais. Precauções adequadas deverão ser tomadas na administração de vacinas atenuadas de vírus vivo em indivíduos com sistema auto-imune alterado ou com outra condição médica (por exemplo, gravidez), nos quais uma infecção viral pode resultar em conseqüências adversas.

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

O nível de biossegurança escolhido para um agente é baseado nas atividades associadas ao crescimento e à manipulação das quantidades e concentrações dos agentes infecciosos requeridos para realizar a identificação ou a tipagem. Se as atividades com os materiais infecciosos provocarem um menor risco aos trabalhadores do que aquelas atividades associadas com a manipulação de culturas, recomenda-se um nível de biossegurança menor. Por outro lado, se as atividades envolverem grandes volumes e/ou altas concentrações (quantidades de produção) ou se as manipulações geralmente

provocarem a formação de aerossóis ou que sejam intrinsecamente perigosas, podem ser indicadas precauções individuais específicas ou se elevar os níveis de contenção primária a secundária.

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

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

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

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

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

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

SEÇÃO VII

RELAÇÃO DOS AGENTES

SEÇÃO VII-A: AGENTES BACTERIANOS

Agente: *Bacillus anthracis*

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode estar presente no sangue, em exudatos de lesão de pele, no líquido cerebrospinal, no líquido pleural, no escarro e raramente na urina e nas fezes. O contato direto e indireto da pele intacta e rachada com culturas e superfícies laboratoriais contaminadas, inoculações parenterais por acidente, e raramente por aerossóis infecciosos, é considerado como risco primário para os trabalhadores de um laboratório.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as dependências do nível de biossegurança 2 deverão ser os procedimentos indicados para as atividades que utilizem materiais clínicos e quantidades de culturas infecciosas para diagnóstico. As práticas, os equipamentos de contenção e as dependências do nível de biossegurança animal 2 são os recomenda-

dos para estudos que utilizem roedores de laboratório infectados experimentalmente. Já as práticas, os equipamentos de contenção e as dependências do nível de biossegurança 3 são indicados para o trabalho que envolva quantidades ou concentrações de produção de culturas e para as atividades com um alto potencial para a produção de aerossóis.

OBSERVAÇÃO: Uma vacina licenciada está disponível por meio dos *Centers for Disease Control and Prevention*. Porém, a imunização de toda a equipe não é recomendada a não ser que o freqüente trabalho com amostras clínicas ou culturas para diagnóstico esteja previsto (por exemplo, laboratório de diagnóstico de doença animal). Nessas dependências, a imunização desse agente pode ser obtida junto ao CDC. Já para a exportação, ligue para o *Department of Commerce*. É necessário um registro do laboratório com o CDC antes de enviar ou receber esse agente. Uma licença para a importação ou o transporte doméstico pode ser obtida com a USDA/APHIS/VS.

Agente: *Bordetella pertussis*

O *Bordetella pertussis*, um patógeno presente no sistema respiratório humano e de distribuição mundial, é o agente causador da coqueluche. A doença ocorre tipicamente na infância; entretanto, o agente tem sido cada dia mais associado com a doença em adultos.^{3,4,5} Vários surtos em trabalhadores da área da saúde foram relatados na literatura.^{6,7} Adolescentes e adultos com doença atípica ou sem diagnóstico podem servir como reservatórios da infecção e podem transmitir o patógeno para recém-nascidos e crianças.⁸ Oito casos de infecção em adultos pelo *B. pertussis* foram documentados em um instituto de grandes pesquisas. Os indivíduos infectados não trabalhavam diretamente com o microorganismo, mas possuíam um acesso aos espaços em comum de um laboratório onde o agente era manipulado. Um caso de transmissão secundária para uma pessoa da família foi também documentado.⁹ Um incidente semelhante ocorreu em uma grande universidade do meio-oeste dos Estados Unidos, que resultou em dois casos documentados de infecção adquirida em laboratório e um caso documentado de transmissão secundária.¹⁰ Outras infecções com o *B. pertussis* adquiridas em laboratório foram relatadas, assim como

a transmissão de adulto para adulto no local de trabalho.^{11, 12} As infecções adquiridas em laboratório resultantes de manipulação de amostras clínicas ou substâncias isoladas não foram relatadas. A incidência dessa infecção disseminada no ar é influenciada pela intimidade e frequência da exposição de indivíduos susceptíveis.

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

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

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença de importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC.

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

A brucelose continua sendo a infecção bacteriana associada a laboratório mais comumente relatada.^{13, 14, 15} O *B. abortus*, o *B. canis*, o *B. melitensis* e o *B. suis* têm provocado várias doenças em tra-

balhadores de laboratórios.^{16, 17, 18} A hipersensibilidade aos antígenos da *Brucella* é também prejudicial à equipe do laboratório. Casos ocasionais têm sido atribuídos à exposição a animais infectados experimentalmente ou naturalmente e aos seus tecidos.

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode estar presente no sangue, no líquido cerebrospinal, no sêmen e ocasionalmente na urina. A maioria dos casos associados a laboratório ocorreu em dependências para pesquisas e envolveu a exposição ao agente *Brucella* largamente produzido. Vários casos em laboratórios clínicos também foram constatados em culturas bacteriológicas desprezadas.¹⁹ O contato direto da pele com culturas ou com amostras clínicas infecciosas de animais (por exemplo, sangue, secreções uterinas) está comumente envolvido nesses casos. Os aerossóis formados durante os procedimentos laboratoriais têm provocado grandes surtos.^{20, 21} Pipetagem com a boca, inoculações parenterais acidentais e *sprays* lançados nos olhos, nariz e boca também têm provocado infecções.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: Recomendam-se as práticas do nível de biossegurança 2 para atividades que envolvam amostras clínicas de origem humana ou animal contendo ou potencialmente contendo *Brucella spp.* patogênico. Já as práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 3 e do nível de biossegurança animal 3 são recomendados, respectivamente, para todas as manipulações de culturas do *Brucella spp.* patogênico relacionadas neste resumo e para estudos de animais experimentais.

OBSERVAÇÃO: Embora as vacinas humanas contra a brucelose tenham sido desenvolvidas e testadas em outros países com limitado sucesso, até o momento da publicação deste volume nenhuma vacina humana encontrava-se à disposição nos Estados Unidos.²²

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

**Agentes: *Burkholderia pseudomallei*
(*Pseudomonas pseudomallei*)**

Dois casos de melioidose associados a laboratório foram relatados: um associado à exposição massiva da pele aos aerossóis e, o segundo, provocado pela formação de aerossóis durante a destruição de uma cultura que se supunha ser de *Ps. Cepacia*, em frasco aberto através de ondas sonoras de alta frequência.²⁴

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

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: Entre em contato com o *Department of Commerce* para uma licença de exportação do agente.

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

O *C. jejuni*/*C. coli gastroenteritis* raramente é a causa de doenças associadas a laboratório, embora alguns casos adquiridos em laboratório tenham sido documentados.^{25, 26, 27} Numerosos animais domésticos e selvagens, incluindo aves, animais de estimação, ani-

mais de fazenda, animais de laboratório e pássaros selvagens são reconhecidos como reservatórios e são uma fonte potencial de infecção para as pessoas que cuidam desses animais e que trabalham no laboratório. Animais experimentalmente infectados também são uma fonte potencial de infecção.²⁸

RISCOS EM LABORATÓRIO: As *campylobacters* patogênicas podem ser encontradas em amostras fecais em grande número. A *C. fetus subsp. fetus* pode também estar presente no sangue, nos exsudatos de abscessos, nos tecidos e no escarro. A ingestão ou inoculação parenteral da *C. jejuni* constitui os riscos primários de um laboratório. A ingestão oral de 500 microorganismos provocou uma infecção em um indivíduo.²⁹ A importância da exposição aos aerossóis não é conhecida.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são recomendados para atividades que envolvam culturas ou materiais clínicos potencialmente infecciosos. As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são recomendados para atividades com animais experimental ou naturalmente infectados. As vacinas, atualmente, não se encontram à disposição para o uso em humanos.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: Para obtenção de uma licença para importação, entre em contato com o CDC.

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

Infecções como a psitacose, tracoma e o linfogranuloma venéreo já foram, no passado, as infecções bacterianas mais comuns associadas a laboratório.³⁰ Em casos relatados antes de 1955,³¹ a maioria das infecções diagnosticadas era de psitacose, que era a doença que apresentava o mais alto índice de mortalidade de agentes infecciosos adquiridos em laboratório. O contato e a exposição aos aerossóis infecciosos ao manusear, cuidar ou realizar necropsias em animais natural ou experimentalmente infectados são as maiores fontes de transmissão da psitacose associada a laboratório. Ratos e ovos infectados são fontes menos importantes do *C. psittaci*. Os animais de laboratório não são fontes relatadas de infecção humana com o *C. trachomatis*.

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são os recomendados para atividades envolvendo a necropsia de pássaros infectados e no diagnóstico de tecidos ou de culturas conhecidas por conterem ou estarem potencialmente infectadas com *C. psittaci* ou a *C. trachomatis*. Para reduzir o risco de formação de aerossóis de fezes e secreções nasais infectadas contidas nas asas e nas superfícies externas do pássaro, o melhor procedimento é molhar as asas dos pássaros infectados com um detergente-desinfetante antes de realizar a necropsia. As práticas, os equipamentos de contenção, as instalações e a proteção respiratória do nível de biossegurança animal 2 são os procedimentos indicados para as pessoas que realizam trabalhos com pássaros engaiolados natural ou experimentalmente infectados. Recomenda-se o uso de luvas para a necropsia dos pássaros e ratos, para a abertura de ovos inoculados e quando houver a possibilidade de contato direto da pele com tecidos infectados, líquido bulbar e outros materiais clínicos. As instalações e as práticas do nível de biossegurança 3 são indicadas para as atividades com alto potencial de produção de perdigotos ou aerossóis e para as atividades envolvendo grandes quantidades ou concentrações de materiais infecciosos.

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

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

Agente: *Clostridium botulinum*

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: O *C. botulinum* ou a sua toxina pode estar presente em uma variedade de produtos alimentícios, em materiais clínicos (soro, fezes) e amostras do meio ambiente (solo, água de superfície). A exposição à toxina do *C. botulinum* é considerada o risco laboratorial primário. Essa toxina pode ser absorvida após ingestão ou contato posterior com a pele ou com as membranas mucosas, incluindo o trato respiratório. A inoculação parenteral acidental também representa uma significativa exposição à toxina. O crescimento das culturas em caldos, quando sob ótima produção de toxina, pode conter uma DL_{50} de 2×10^6 ratos por mL.³⁴

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são os indicados para todas as atividades com materiais conhecidos por conter ou potencialmente conter a toxina. Um toxóide pentavalente do botulismo (ABCDE) encontra-se disponível por meio dos *Centers for Disease Control and Prevention*, como uma nova droga de pesquisa (IND). Esse toxóide é indicado para as pessoas que trabalham com culturas de *C. botulinum* ou com suas toxinas. Soluções de hipoclorito de sódio (0.1%) ou de hidróxido de sódio (0.1 N) inativam a toxina prontamente e são recomendadas para a descontaminação das superfícies de trabalho e de perdigotos de culturas ou de toxinas. Cuidados pessoais e contenção primária adicional, como os recomendados para o nível de biossegurança 3, são indicados para as atividades com um alto potencial para a produção de aerossóis ou perdigotos e para as atividades envolvendo quantidades grandes de toxinas. As práticas, os equipamentos de

contenção e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicados para estudos de diagnósticos e titulação da toxina.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: Para obter uma licença de importação para esse agente, entre em contato com o CDC.

Agente: *Clostridium tetani*

Embora o risco de infecção da equipe do laboratório seja insignificante, cinco incidentes relacionados à exposição do pessoal durante a manipulação da toxina foram relatados.³⁵

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para atividades envolvendo a manipulação de culturas ou toxinas. Embora o risco de tétano associado a laboratório seja baixo, a administração de um toxóide tétano-difteria adulto, em intervalos de 10 anos, reduz o risco de exposição à toxina e de contaminação por ferimento do pessoal do laboratório e dos tratadores de animais e é, portanto, altamente recomendada.³⁶ O leitor deverá consultar as atuais recomendações do *Advisory Committee on Immunization Practices* (ACIP), publicadas no *CDC Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR), para a vacinação de adultos contra o *C. tetani*.

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

Agente: *Corynebacterium diphtheriae*

As infecções com o *C. diphtheriae* associadas a laboratório têm sido relatadas, ao contrário das associadas a animais de laboratório.³⁷

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode estar presente em exsudatos ou secreções de nariz, garganta (amígdala), faringe, laringe,

ferimentos, sangue e sobre a pele. A inalação, a inoculação parenteral acidental e a ingestão são os riscos primários em um laboratório.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são os indicados para todas as atividades utilizando materiais clínicos ou culturas potencial ou conhecidamente infectadas. Já as práticas do nível de biossegurança animal 2 são indicadas para estudos que utilizem animais de laboratório infectados. Embora o risco da difteria associado a laboratório seja baixo, a administração de um toxóide tétano-difteria adulto em intervalos de 10 anos pode posteriormente reduzir o risco de exposições à toxina e a trabalhos com materiais infecciosos pela equipe do laboratório e aos tratadores de animais.³⁸ O leitor deverá consultar as atuais recomendações do *Advisory Committee on Immunization Practices* (ACIP), publicadas no *CDC Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR), para a vacinação contra o *C. diphtheriae*.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: Para obtenção de uma licença para esse agente, entre em contato com o CDC.

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

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: A *E. coli* enteroemorrágica é geralmente isolada nas fezes. Uma grande variedade de alimentos contaminados com esses agentes pode servir como veículo de transmissão e inclui a carne moída crua e os produtos de laticínio não-pasteurizados. Ela raramente é encontrada no sangue de homens e animais infectados. A ingestão é o risco laboratorial pri-

mário. A importância da exposição aos aerossóis ainda não é conhecida.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são os indicados para todas as atividades utilizando materiais clínicos ou culturas conhecidamente ou potencialmente infecciosos. Já as práticas do nível de biossegurança animal 2 são indicadas para as atividades com animais natural ou experimentalmente infectados. Atualmente, as vacinas para uso em homens não se encontram à disposição. O leitor deve consultar as recomendações atualizadas do ACIP, relacionadas no *CDC Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR), sobre a existência de indicações para a vacinação contra cepas enteroemorrágicas de *E. coli*.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deverá ser obtida no CDC.

Agente: *Francisella tularensis*

A tularemia tem sido uma infecção bacteriana associada a laboratório comumente relatada.⁴² Quase todos os casos ocorreram nas dependências onde a pesquisa da tularemia estava sendo realizada. Casos ocasionais têm sido relacionados ao trabalho com animais natural ou experimentalmente infectados ou seus ectoparasitas. Embora não tenham sido relatados, existem casos que ocorreram em laboratórios. O trabalho com culturas de *F. tularensis* requer uma segurança especial devido ao seu potencial uso no terrorismo biológico.

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode estar presente em exsudatos de lesões, nas secreções respiratórias, no líquido cerebrospinal, no sangue, na urina, nos tecidos de animais infectados e nos líquidos de artrópodes infectados. Resultaram em infecção o contato direto da pele ou de membranas mucosas com materiais infecciosos, a inoculação parenteral acidental e a ingestão e a exposição aos aerossóis e perdigotos infecciosos. A infecção tem sido mais comumente associada às culturas do que aos materiais clínicos e animais infectados. As doses de 25% a 50% infecciosas para homens são de aproximadamente 10 microorganismos pela via respiratória.⁴³

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as dependências do nível de biossegurança 2 são indicados para as atividades com materiais clínicos de origem humana ou animal contendo ou potencialmente contendo *Francisella tularensis*. Já as práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 3 e do nível de biossegurança animal 3 são indicados, respectivamente, para todas as manipulações de culturas e para estudos de animais experimentais.

OBSERVAÇÃO: A vacinação contra a *F. tularensis* encontra-se à disposição para a população e deve ser levada em consideração pelas pessoas que trabalham com materiais infecciosos ou roedores infectados. A vacina também é recomendada para as pessoas que trabalham com o agente ou animais infectados e para aquelas que trabalham dentro ou que entram no laboratório ou na sala para animais onde as culturas ou animais infectados estão sendo mantidos.⁴⁴ O leitor deverá consultar as recomendações atualizadas do *Advisory Committee on Immunization Practices* (ACIP), publicadas no *CDC Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR), sobre as recomendações para vacinas contra a *F. tularensis*.

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

Agente: *Helicobacter pylori*

Desde a sua descoberta em 1982, a *Helicobacter pylori* tem recebido uma grande atenção como um agente causador da gastrite.⁴⁵ O habitat principal da *H. pylori* é a membrana mucosa gástrica humana. A infecção com esse agente pode ser longa quanto à duração, com poucos ou nenhum sintoma ou pode-se apresentar como uma doença gástrica aguda. Tanto as infecções humanas associadas a laboratórios experimentais quanto as acidentais foram relatadas.^{46, 47} O agente pode estar presente nas secreções gástricas ou orais e nas fezes. A transmissão, embora não seja completamente clara, acredita-se ser através da via oral-fecal ou oral-oral.

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode ser encontrado nas secreções gástricas e orais ou nas fezes. A ingestão é o principal risco dentro de um laboratório. A importância da exposição aos aerossóis é desconhecida.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para as atividades com materiais clínicos e culturas conhecida ou potencialmente infectados pelo agente. Já as práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicados para atividades com animais natural ou experimentalmente infectados. Atualmente, as vacinas não se encontram à disposição para o uso em homens.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação do agente poderá ser obtida junto ao CDC.

Agente: *Leptospira interrogans* – todos os sorotipos

A leptospirose é um risco laboratorial muito bem documentado. Pike relatou 67 infecções associadas a laboratório, 10 mortes⁴⁸ e ainda três casos foram relatados em outros locais.⁴⁹

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode ser encontrado na urina, no sangue e nos tecidos de animais e homens infectados. A ingestão, a inoculação parenteral acidental e o contato direto ou indireto da pele ou da membrana mucosa com culturas, tecidos ou líquidos corporais infectados – especialmente a urina – são considerados riscos laboratoriais primários. Ainda não se conhece a importância da exposição aos aerossóis.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para todas as atividades que envolvam o uso ou a manipu-

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

TRANSFERÊNCIA DE AGENTES: Uma licença para importação dos agentes poderá ser obtida junto ao CDC. Uma licença para importação ou transporte doméstico do agente poderá ser obtida no USDA/APHIS/VS.

Agente: *Listeria monocytogenes*

A *Listeria monocytogenes* oferece um risco potencial para a equipe do laboratório. Os bacilos aeróbicos gram-positivos e não formadores de esporos são hemolíticos e catalase positivos.⁵¹ As bactérias têm sido isoladas no solo, na poeira, no alimento humano, nos animais e nos humanos assintomáticos.^{52, 53} A maioria dos casos de listerose aconteceu devido à ingestão de alimentos contaminados, mais notavelmente de queijos suaves, carne crua e vegetais crus não-lavados.⁵⁴ Embora adultos e crianças saudáveis possam contrair a infecção por *Listeria*, elas geralmente não adquirem uma doença séria. Já as mulheres grávidas, os recém-nascidos e as pessoas com um sistema imunodeficiente fazem parte do grupo de risco e adquirem a forma grave da doença.

RISCOS EM LABORATÓRIO: A *Listeria monocytogenes* pode ser encontrada nas fezes, no líquido cerebrospinal e no sangue, assim como em alimentos e materiais provenientes do meio ambiente.^{55, 56} Os animais naturalmente ou experimentalmente infectados são uma fonte de exposição para os trabalhadores de laboratório, para as pessoas que zelam pelos animais e para outros animais. A ingestão é o modo de exposição mais provável, mas a *Listeria* também pode causar infecções nos olhos e na pele após uma exposição direta. As infecções causadas pelo agente em mulheres grávidas ocorrem com mais frequência no terceiro semestre e podem precipitar o parto. A transmissão transplacentária do agente oferece um grave risco ao feto e pode até resultar em um abscesso disseminado, contribuindo para o índice de mortalidade de aproximadamente 100%.⁵⁷

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para todas as atividades com amostras clínicas e culturas reconhecidas ou suspeitas de conterem o agente. Recomenda-se o uso de luvas e proteção para os olhos ao manusear culturas infectadas. As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicados para atividades com animais natural ou experimentalmente infectados. Atualmente, as vacinas não se encontram à disposição para uso humano.⁵⁸ Mulheres grávidas que trabalham com o agente em um laboratório de diagnóstico ou de pesquisa deverão ser informadas sobre os riscos potenciais associados ao agente, inclusive para o feto.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: Uma licença para importação ou transporte doméstico do agente poderá ser obtida junto ao USDA/APHIS/VS.

**Agentes: *Legionella pneumophila*
(e outros agentes semelhantes à *Legionella*)**

Devido a uma presumida exposição aos aerossóis ou perdigotos durante estudos animais com o agente da febre de Pontiac (*L. pneumophila*), um único documento apresentando um caso de legionelose associado a laboratório foi relatado.⁵⁹ A transmissão de homem para homem ainda não foi documentada.

As infecções experimentais são prontamente produzidas em cobaias e ovos de galinha embrionários.⁶⁰ Coelhos de laboratório também desenvolvem anticorpos, mas não a doença clínica, enquanto que os camundongos são resistentes à exposição parenteral. Estudos não publicados dos *Centers for Disease Control and Prevention* mostram que a transmissão de animais para animais não acontece em uma variedade de espécies mamíferas e avícolas experimentalmente infectadas.

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode ser encontrado no líquido pleural, no tecido, no escarro e nas fontes do meio ambiente (por exemplo, água de torre). Uma vez que o modo natural de transmissão aparentemente é via aérea, o maior risco potencial é a produção de aerossóis durante a manipulação de culturas ou de outros materiais que contenham uma grande concentração de

microorganismos infecciosos (por exemplo, tecidos e o saco vitelino infectado).

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

OBSERVAÇÃO: Atualmente, as vacinas para uso em homens não se encontram à disposição.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A obtenção de uma licença para importação do agente deverá ser feita junto ao CDC.

Agente: *Mycobacterium leprae*

A transmissão parenteral acidental da lepra de homens para homens tem sido relatada após a contaminação de um cirurgião por uma picada acidental de uma agulha⁶¹ e pelo uso de uma agulha para tatuagem provavelmente contaminada.⁶² Não existem casos relatados que tenham sido provocados pelo trabalho em um laboratório envolvendo biópsias ou outros materiais clínicos de origem humana e animal. Embora a lepra que ocorra naturalmente e as doenças semelhantes à lepra tenham sido relatadas em tatus⁶³ e em primatas não-humanos,^{64, 65} o ser humano é o único reservatório importante da doença.

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para todas as atividades com materiais clínicos sabidamente ou potencialmente infecciosos de homens e animais infectados. Um cuidado especial deve ser tomado para evitar uma inoculação parenteral acidental com instrumentos cortantes contaminados. As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicados para estudos animais que utilizem roedores, tatus e primatas-não humanos. Atualmente, as vacinas para uso em humanos não se encontram à disposição.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A obtenção de uma licença para importação do agente deverá ser feita junto ao CDC.

Agentes: *Mycobacterium spp.* diferente da *M. tuberculosis*, *M. bovis* ou *M. leprae*

Pike relatou 40 casos de tuberculose não-pulmonar que se acreditava estar relacionada a acidentes ou incidentes ocorridos no laboratório ou na sala de autópsia.⁶⁶ Provavelmente, essas infecções eram provocadas por um outro tipo de micobactéria que não a *M. tuberculosis* ou a *M. bovis*. Um número de micobactérias que são ubíquas na natureza é associado com outras doenças que não a tuberculose ou a lepra em homens, animais domésticos e selvagens. Em relação às características, esses organismos são infecciosos, mas não são contagiosos. Já clinicamente, as doenças associadas com as infecções por essas atípicas bactérias podem ser divididas, em geral, em três categorias:

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: Os agentes podem ser encontrados no escarro, nos exsudatos de lesões, nos tecidos e em amostras do meio ambiente (por exemplo, solo e água). O contato direto da pele ou da membrana mucosa com materiais infecciosos, a ingestão e a inoculação parenteral acidental são riscos primários laboratoriais associados aos materiais clínicos e às culturas. Um risco de infecção potencial aos trabalhadores de laboratório é também oferecido pelos aerossóis infecciosos criados durante a manipulação do caldo de culturas ou homogeneização de tecidos contendo esses organismos associados à doença pulmonar.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para atividades com materiais clínicos e culturas de *Mycobacterium spp.* com exceção dos tipos *M. tuberculosis* ou *M. bovis*. As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicados para estudos animais com a micobactéria que não a *M. tuberculosis*, *M. bovis* ou *M. leprae*. Atualmente, as vacinas para uso humano ainda não se encontram disponíveis.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A obtenção de uma licença para importação do agente deverá ser feita junto ao CDC.

Agente: *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*

As infecções com a *Mycobacterium tuberculosis* e a *M. bovis* (incluindo a BCG) são um risco comprovado aos trabalhadores de laboratório, assim como para outras pessoas que podem estar expostas aos aerossóis infecciosos no laboratório.^{67, 68, 69, 70, 71} A incidência da tuberculose em pessoas que trabalham com a *M. tuberculosis* em laboratório tem sido relatada como sendo três vezes maior do que em pessoas que não trabalham com o agente. Primatas não-humanos infectados natural ou experimentalmente são uma fonte comprovada de infecção humana (por exemplo, o índice de conversão anual de tuberculina em pessoas que trabalham com primatas não-humanos infectados é de aproximadamente 70/10.000 se comparado ao índice de menos de 3/10.000 da população em geral).⁷³ Cobaias ou camundongos experimentalmente infectados não oferecem o mesmo risco, uma vez que núcleos em perdigotos não são produzidos pela tosse nessas espécies. Porém,

o dejetos de animais infectados pode se tornar contaminado e servir como uma fonte de aerossóis infecciosos.

RISCOS EM LABORATÓRIO: Os bacilos da tuberculose podem ser encontrados no escarro, nos líquidos de lavagem gástrica, no líquido cerebrospinal, na urina e nas lesões em vários tecidos.⁷⁴ A exposição aos aerossóis produzidos em laboratório é o risco mais importante encontrado. Os bacilos da tuberculose podem sobreviver em esfregaços fixados com o calor⁷⁵ e ser nebulizados na preparação de secções congeladas e durante a manipulação de culturas líquidas. Devido à baixa dose infecciosa da *M. tuberculosis* para homens (i.e., $DI_{50} < 10$ bacilos) e, em alguns laboratórios, um alto índice de isolamento de organismos resistentes ao ácido originado de amostras clínicas ($>10\%$),⁷⁶ o escarro e outras amostras clínicas de casos de tuberculose suspeitos ou já comprovados devem ser considerados potencialmente infecciosos e manipulados com os adequados cuidados.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para as manipulações de materiais clínicos que não produzam aerossóis, como a preparação de esfregaços ácido-resistentes. Todas as atividades que formem aerossóis deverão ser conduzidas em cabines de segurança biológicas classe I ou II. Recomenda-se o uso de uma bandeja para aquecer a lâmina ao invés de secá-la em um bico de Bunsen. A liquidificação ou a concentração do escarro para a coloração ácido-resistente pode também ser conduzida de forma segura em uma bancada aberta, tratando, primeiramente, a amostra (em uma cabine de segurança classe I ou II) com um igual volume de solução de hipoclorito de sódio a 5% (branqueamento doméstico não-diluído) e, depois, esperando 15 minutos antes da centrifugação.^{77, 78}

As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 3 são indicados para atividades laboratoriais na propagação e na manipulação de culturas de *M. tuberculosis* ou *M. bovis* e para estudos animais que utilizem primatas não-humanos naturalmente ou experimentalmente infectados com a *M. tuberculosis* ou a *M. bovis*. Estudos animais utilizando cobaias

ou camundongos podem ser conduzidos em um nível de biossegurança animal 2.⁷⁹

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A obtenção de uma licença para importação do agente é conseguida no CDC. Já a licença para importação e transporte doméstico da *M. bovis* deve ser obtida junto ao USDA/APHIS/VS.

Agente: *Neisseria gonorrhoeae*

As infecções gonocócicas associadas a laboratório têm sido relatadas nos Estados Unidos.⁸⁰

RISCOS EM LABORATÓRIO: Esse agente pode ser encontrado em exsudatos cervicais, uretrais e conjuntivais, no líquido sinovial, na urina, nas fezes e no líquido cerebrospinal. A inoculação parenteral acidental e o contato direto ou indireto da membrana mucosa com materiais infecciosos são os riscos primários laboratoriais conhecidos. A importância dos aerossóis não foi ainda determinada.

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A obtenção e a licença para importação do agente deverão ser feitas junto ao CDC.

Agente: *Neisseria meningitidis*

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode ser encontrado em exsudatos faringíneos, no líquido cerebrospinal, no sangue e na saliva. A inoculação parenteral, a exposição da membrana mucosa a perdigotos e a ingestão são os riscos primários para a equipe do laboratório.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para todas as atividades que utilizem líquidos corpóreos, tecidos e culturas conhecidamente ou potencialmente infecciosas. Precauções pessoais e de contenção primária adicional, como as descritas para o nível de biossegurança 3, podem ser indicadas para atividades com um alto risco potencial para formação de perdigotos ou aerossóis e para as atividades que envolvam quantidades de produção ou concentrações de materiais infecciosos.

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

TRANSFERÊNCIA DE AGENTES: A obtenção de uma licença para importação do agente deve ser feita junto ao CDC.

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

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode ser encontrado nas fezes, no sangue, na urina e em alimentos, rações e materiais provenientes do meio ambiente. A ingestão ou a inoculação parenteral é um perigo primário para um laboratório. A importância da exposição aos aerossóis ainda é desconhecida. Animais naturalmente ou experimentalmente infectados são uma fonte potencial de infecção para funcionários do laboratório e para os que tratam dos animais, além de perigosos para outros animais também.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para as atividades com materiais clínicos e culturas conhecidas por possuírem ou potencialmente conterem os agentes. As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são recomendados para atividades com animais naturalmente ou experimentalmente infectados. As vacinas ainda não se encontram à disposição da população.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação do agente deve ser obtida junto ao CDC.

Agente: *Salmonella typhi*

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode ser encontrado nas fezes, no sangue, na vesícula biliar (bile) e na urina. O ser humano é o único reservatório conhecido da infecção. A ingestão e a inoculação parenteral do agente representam o risco primário em laboratório. Não se conhece ainda a importância da exposição aos aerossóis.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para todas as atividades que utilizem materiais clínicos e culturas sabidamente ou potencialmente infecciosas. As práticas do nível de biossegurança 3 são indicadas para atividades que possivelmente provoquem a formação de aerossóis ou de atividades que envolvam quantidades de produção de microorganismos.

As vacinas para a *S. typhi* estão disponíveis no mercado e devem ser indicadas para as pessoas que trabalham regularmente

com materiais potencialmente infecciosos. O leitor deve consultar as recomendações atuais do Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), publicadas pelo CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR), para as recomendações sobre a vacinação contra a *S. typhi*.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação pode ser conseguida junto ao CDC.

Agente: *Shigella spp.*

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: O agente pode ser encontrado nas fezes e raramente no sangue de animais e humanos infectados. A ingestão e a inoculação parenteral do agente são os riscos primários de um laboratório. A dose oral de 25% a 50% infecciosa do agente da *S. flexneri* para humanos é de aproximadamente 200 microorganismos.⁹⁴ Ainda não se sabe a importância da exposição aos aerossóis do agente.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para todas as atividades que utilizem materiais clínicos ou culturas sabidamente ou potencialmente infecciosas. Já as práticas e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicadas para atividades com animais infectados experimentalmente ou naturalmente. As vacinas não se encontram à disposição no mercado para uso humano.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para a exportação do agente deverá ser obtida no *Department of Commerce*.

Agente: *Treponema pallidum*

A sífilis é um risco comprovado para as pessoas de laboratório que manipulam ou coletam materiais clínicos de lesões cutâneas.

Pike relacionou 20 casos dessa infecção associada a laboratório.⁹⁵ O ser humano é o único reservatório conhecido desse agente. Um exemplo é o caso de um agente que foi transmitido a um indivíduo da equipe de um laboratório que trabalhava com uma suspensão concentrada do *T. pallidum* obtido de um coelho com orquite experimental.⁹⁶ A transferência hematogênica da sífilis tem ocorrido por meio da transfusão de uma unidade de sangue fresco obtida de um paciente com sífilis secundária. O *T. pallidum* se encontra presente na circulação durante a sífilis primária e a secundária. O número mínimo de organismos do *T. pallidum* (DL₅₀) necessário para infectar um indivíduo por uma injeção subcutânea é de 23.⁹⁷ A concentração do *T. pallidum* no sangue de pacientes durante o início da sífilis, porém, ainda não foi determinada.

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

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

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação do agente deverá ser obtida junto ao CDC.

**Agentes: *Vibronic enteritis*
(*Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*)**

A enterite vibrionica causada pelo *Vibrio cholerae* ou pelo *Vibrio parahaemolyticus* é uma doença documentada associada a laboratório, mas rara.⁹⁸ Os animais naturalmente ou experimentalmente infectados são uma fonte potencial de infecção.

RISCOS EM LABORATÓRIO: Os vibriões patogênicos podem ser encontrados nas fezes. A ingestão do *V. cholerae* e a ingestão ou inoculação parenteral de outros vibriões constituem os riscos primários laboratoriais. A dose infecciosa oral humana é de aproximadamente 10⁶ organismos.⁹⁹ A importância da exposição aos aerossóis ainda é desconhecida. O risco de infecção após uma exposição oral pode ser aumentado em indivíduos aclorídricos.

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para exportação do agente deverá ser obtida no *Department of Commerce*.

Agente: *Yersinia pestis*

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: Esse agente pode ser encontrado no líquido bulbar, no sangue, no escarro, no líquido cerebrospinal, nas fezes e na urina humana, dependendo da forma clínica e do estágio da doença. Os riscos primários para a equipe do labo-

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

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

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação do agente deverá ser obtida no CDC. Já a licença para exportação deve ser conseguida por intermédio do Department of Commerce. É necessário o registro do laboratório junto ao CDC antes do envio ou recebimento desse agente.

SEÇÃO VII-B: AGENTES FÚNGICOS

Agente: *Blastomyces dermatitidis*

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

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 e do nível de biossegurança animal 2 são indicadas para as atividades com materiais clínicos, tecidos animais, culturas, amostras ambientais e animais infectados.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC. O registro do laboratório no CDC deverá ser obtido antes do envio ou recebimento do agente.

Agente: *Coccidioides immitis*

A coccidioidomicose adquirida em laboratório é um risco documentado.^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22} Smith relatou que de 31 infecções adquiridas em laboratório da sua instituição, 28 (90%) resultaram em uma doença clínica, em que mais da metade dessas infecções adquiridas na natureza eram assintomáticas.²³

RISCOS EM LABORATÓRIO: Devido ao tamanho (2-5 milímetros), os artroconídios tendem a ser prontamente espalhados no ar e retidos nos profundos espaços pulmonares. Quanto maior o

tamanho da esférula (30-60 milimícrons), mais reduzida será a eficácia dessa forma de fungo como um patógeno aéreo.

As esférulas dos fungos podem estar presentes em amostras clínicas e tecidos animais. Já os artroconídios infecciosos são encontrados em culturas e solos mofados ou em outras amostras de locais naturais. A inalação do artroconídio contido nas amostras ambientais ou nas culturas da forma fúngica é um perigo sério dentro de um laboratório. Um risco teórico dentro de um laboratório é imposto por amostras clínicas ou tecidos de animais ou homens infectados que foram armazenados ou embalados de forma a produzir a germinação de artroconídios. Há um único relatório sobre um veterinário com uma coccidiodomose que se iniciou 13 dias depois da autópsia de um cavalo com essa infecção, embora o veterinário morasse em uma área endêmica.²⁴ A inoculação percutânea acidental da esférula pode resultar na formação de um granuloma local.²⁵ A doença disseminada ocorre com uma frequência muito maior em negros e em filipinos do que em brancos.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para manuseio e processamento de amostras clínicas, identificação isolada e processamento dos tecidos animais. Já as práticas e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicadas para estudos de experimentação animal quando a via de transmissão do agente é a via parenteral.

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação do agente deverá ser obtida junto ao CDC. O registro do laboratório deverá ser obtido no CDC antes do envio ou recebimento do agente.

Agente: *Cryptococcus neoformans*

A inoculação acidental de uma pesada quantidade de *Cryptococcus neoformans* nas mãos de um trabalhador de laboratório ocorreu durante a injeção ou a necropsia de animais de laboratórios.^{26, 27} Mas não houve a formação de um granuloma local e nem

uma lesão, sugerindo uma baixa patogenicidade por esta via. As infecções respiratórias como consequência de exposição laboratorial ainda não foram registradas.

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 e do nível de biossegurança animal 2 são indicadas, respectivamente, para atividades com materiais clínicos, ambientais ou de culturas sabidamente ou potencialmente infecciosas e ainda com animais infectados experimentalmente.

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação do agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: *Histoplasma capsulatum*

A histoplasmose associada a laboratório é um risco comprovado em instalações onde são conduzidos trabalhos de investigação ou de diagnósticos.^{28, 29, 30} As infecções pulmonares são resultantes de culturas que formam fungos.³¹ Já uma perfuração na pele durante uma autópsia de um indivíduo infectado³² e uma inoculação parenteral acidental de uma cultura viável³³ provocam uma infecção local. A coleta e o processamento de amostras de solo retiradas de áreas endêmicas têm provocado infecções pulmonares em trabalhadores de laboratório. Os esporos encapsulados são resistentes à secagem e podem permanecer viáveis durante longos períodos de tempo. O pequeno tamanho do conídio infeccioso (menos que 5 microns) possibilita sua dispersão no ar e a retenção intrapulmonar. Furcolow relatou que em camundongos 10 es-

poros foram quase que tão infecciosos quanto uma dose letal de 10.000 a 100.000 esporos.³⁴

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

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deve ser feita junto ao CDC.

Agente: *Sporothrix schenckii*

O *S. schenckii* tem causado um número expressivo de infecções locais na pele e nos olhos de pessoas que trabalham em laboratórios.³⁵ A maioria dos casos está associada a acidentes que ocorrem com borrifos do material de uma cultura dentro do olho,^{36, 37} arranhão³⁸ ou mordida de um animal infectado^{40, 41} ou ao injetar³⁹ material infectado na pele. As infecções dermatológicas são causadas também pelo manuseio de culturas^{42, 43} ou por necropsias de animais⁴⁵ sem que ocorra um conhecido erro técnico na hora do procedimento. Não houve nenhum caso de infecção pulmonar resultante da exposição laboratorial, embora se suponha que a doença pulmonar tenha ocorrido naturalmente como resultado de uma inalação.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 e do nível de biossegurança animal 2 são indicadas para todas as atividades em laboratório e em ativida-

des com experimentação animal com *S. schenckii*. Recomenda-se o uso de luvas ao manusear animais experimentalmente infectados e durante operações com culturas líquidas (caldos) que possam resultar em uma contaminação da mão.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agentes: Membros patogênicos dos gêneros
Epidermophyton, Microsporium e Trychophyton

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

PERIGOS EM LABORATÓRIO: Os agentes podem ser encontrados na pele, no cabelo e nas unhas de hospedeiros humanos e animais. O contato com animais de laboratórios infectados que apresentem infecções aparentes ou não é considerado risco primário para a equipe do laboratório. As culturas e os materiais clínicos não são uma fonte importante de infecção humana.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 e do nível de biossegurança animal 2 são indicadas para todas as atividades em laboratório e em atividades com experimentação animal com os dermatofítides. Os animais infectados experimentalmente devem ser manipulados com luvas descartáveis.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agentes: Fungos diversos

Vários fungos têm provocado sérias infecções em hospedeiros imunocompetentes após uma provável inalação ou inoculação parenteral acidental de fontes do meio ambiente. Esses agentes são os *Penicillium marneffeii*, *Exophiala (Wangiella) dermatitidis*, *Fonseca-*

ea pedrosoi, *Ochroconis gallopavum*, *Claudophialopora bantians* e *Ramichlorisium mackenzieim*. Embora nenhuma infecção causada por grande parte desses agentes associados a laboratório tenha sido registrada, a gravidade dessa patologia adquirida naturalmente é suficiente para se adotar cuidados especiais no laboratório. O *Penicillium marneffe* causou uma infecção local por inoculação acidental em um laboratorista.⁵⁰ Já o *Stachybotrus atra* provavelmente não é o agente causador da infecção em seres humanos quando o fungo ou fômites contidos no mofo são inalados, embora a ingestão de grãos mofados que possuíam o fungo tenha envenenado animais.

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para reprodução e manipulação de culturas conhecidas por conterem esses agentes.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação deverá ser obtida junto ao CDC.

SEÇÃO VII-C: AGENTES PARASITÁRIOS

Agentes: Protozoários Parasitas de Tecido e Sangue Humanos

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

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

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para atividades com estágios infecciosos dos parasitas relacionados. Os artrópodes infectados devem ser mantidos em dependências que impeçam a exposição do pessoal do laboratório ou a saída do artrópode para fora do local. A contenção primária (por exemplo, cabine de segurança biológica) e a proteção pessoal (por exemplo, proteção facial) podem ser indicadas quando o trabalho for realizado com culturas de *Leishmania spp.*, *T. cruzi* ou com a homogeneização de tecidos ou de sangue contendo hemoflagelados.^{14, 15} Recomenda-se o uso de luvas para atividades nas quais exista a possibilidade do contato direto da pele com os estágios infecciosos dos parasitas referidos. O tratamento apropriado para a maioria das infecções provocadas por protozoários existe. As informações sobre dosagem, fonte da droga, etc. se encontram à disposição.¹⁶

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agentes: Protozoários Parasitas do Intestino Humano

Infecções com *Toxoplasma spp.*, *Entamoeba spp.*, *Isospora spp.*, *Giardia spp.*, *Sarcocystis spp.* e o *Cryptosporidium spp.* associadas a laboratório foram relatadas.^{17, 18, 19, 20, 21} Nenhuma infecção laboratorial com microsporídios foi registrada, mas a ingestão de esporos encontrados nas fezes, na urina, no escarro, no fluido cerebrospinal ou nas culturas pode provocar uma infecção.

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

Já as infecções com o *Cryptosporidium* adquiridas em laboratório ocorrem com regularidade em quase todos os laboratórios que trabalham com esse agente, especialmente aqueles nos quais os bezerros são usados como fonte de oócitos. Outros animais infectados experimentalmente também oferecem riscos potenciais. A evidência circunstancial sugere que a transmissão aérea de oócitos desse pequeno organismo pode acontecer. Uma obediência rigorosa a todas essas recomendações reduz a ocorrência de infecções nos laboratórios e em tratadores de animais.

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

possíveis. Os laboratórios que conduzem estudos somente com materiais de parasitas mortos ou inativados e com frações de parasitas não oferecem riscos significativos de infecção.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para atividades com estágios contagiosos dos parasitas citados. A contenção primária (por exemplo, cabine de segurança biológica) e a proteção pessoal (por exemplo, protetor facial) podem ser indicadas em trabalhos envolvendo culturas de *Naegleria fowleri* ou *Cryptosporidium*. O tratamento apropriado para a maioria das infecções provocadas por protozoários já existe. Mais informações sobre a dose e a fonte das drogas, etc. estão disponíveis.²²

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC.

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

Infecções com o *Schistosoma spp.* e a *Fasciola spp.* adquiridas em laboratório têm sido relatadas. Nenhuma infecção estava diretamente associada aos animais de laboratório, com exceção dos moluscos infectados, que são os hospedeiros intermediários.^{23, 24, 25, 26}

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para atividades com os estágios contagiosos dos parasitas citados. Recomenda-se o uso de luvas quando houver um contato direto com água contaminada por cercárias ou vegetação contendo metacercária de caracóis infectados experimentalmente ou naturalmente. Jalecos de mangas compridas ou outro traje de proteção deverão ser usados quando estiver sendo realizado um trabalho ao redor do aquário ou em outras fontes de água que possam conter cercárias do esquistossomo. Os caracóis e as cercárias encontradas na água proveniente do aquário do laboratório devem ser eliminados com substâncias químicas (por exemplo, hipoclorito, iodo) ou por meio do calor antes de serem jogados no esgoto. O tratamento apropriado para grande parte das infecções causadas por trematódeos existe. As informações sobre a fonte das drogas e sobre as dosagens estão disponíveis.²⁷

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação do agente deve ser obtida junto ao CDC.

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

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

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

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para o trabalho com os estágios contagiosos desses parasitas. Deve-se dar uma atenção especial à higiene pessoal (por exemplo, lavagem das mãos) e evitar a ingestão de ovos infectados. Recomenda-se o uso de luvas quando houver um contato direto com as fezes ou com superfícies contaminadas por fezes frescas de cães infectados por *E. granulatus*, com humanos infectados pela *T. solium* adulta ou com humanos ou roedores infectados pela *H. nana*. O tratamento adequado para muitas infecções causadas por cestóides existe. Informações sobre a fonte das drogas, da dosagem, etc. já se encontram disponíveis.²⁸

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deve ser obtida junto ao CDC.

Agentes: Nematóides Parasitas de Humanos

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: Os ovos e as larvas de fezes frescas do hospedeiro definitivo não são geralmente infecciosos, uma vez que o desenvolvimento dos estágios infecciosos pode levar de um dia até várias semanas. A *Trichinella* preocupa porque o tecido fresco ou digerido pode conter larvas que seriam infecciosas se ingeridas. A ingestão de ovos infectados e a penetração de larvas infectadas na pele são os riscos primários para as pessoas que trabalham em um laboratório e as que tratam dos animais. Os artrópodes infectados com os parasitas filariais oferecem um risco potencial para a equipe laboratorial. É comum o desenvolvimento de uma

hipersensibilidade em trabalhadores de laboratório que frequentemente são expostos aos antígenos aerolizados de *Ascaris spp.*

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para atividades que envolvam os estágios contagiosos relacionados. A exposição aos antígenos sensibilizados aerolizados do *Ascaris spp.* deve ser evitada. Uma contenção primária (por exemplo, cabine de segurança biológica) pode ser necessária para o trabalho com esses materiais por indivíduos hipersensíveis. O tratamento adequado para maior parte das infecções causadas por nematóides existe. Maiores informações sobre a dosagem, a fonte das drogas, etc. já se encontram disponíveis.³²

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deve ser obtida junto ao CDC.

SEÇÃO VII-D: PRÍONS

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

Os príons são partículas infecciosas de proteináceos que não possuem ácidos nucleicos.¹ Os príons são, em grande parte, se não totalmente, compostos por um isoforme anormal de uma proteína celular normal. Em mamíferos, os príons são compostos de um isoforme anormal, patogênico da proteína príonio (PrP), chamada de PrP^{Sc}. O expoente “Sc” inicialmente derivou-se do termo scrapie (tronco), já que “scrapie” é um distúrbio degenerativo contagioso do sistema nervoso de ovinos e caprinos provocado pelos príons. Uma vez que todas as doenças conhecidas causadas por príons (tabela 3) em mamíferos envolvem o metabolismo aberrante do PrP semelhante ao observado na *scrapie*, o uso de um expoente “Sc” é indicado para todos os isoformes PrP patogênicos anormais.² Nesse contexto, o expoente “Sc” é utilizado para designar a isoforma do PrP semelhante à da *scrapie*.

Um gene cromossômico decodifica os genes PrP e não PrP que são encontrados em preparações purificadas dos príons. O PrP^{Sc} é derivado do PrP^C (o isoforme celular do PRP) por um processo pós-translacional em que o PrP^{Sc} adquire um alto conteúdo da enzima B da ovelha.³ Nem os ácidos nucleicos específicos de príons nem as partículas semelhantes ao vírus foram detectados nas preparações infecciosas purificadas. Em fungos, evidências de três príons diferentes foram acumuladas.⁴

Os príons em mamíferos causam *scrapie* e outras doenças neurodegenerativas relacionadas ao homem e aos animais (tabela 3). As doenças provocadas pelos príons também são referidas como encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSEs).⁵

Tabela 3. As doenças causadas por príons

Patologias (abreviação)	Hospedeiro natural	Prions	Isoforma patogênica do PrP
<i>Scrapie</i>	ovelhas e cabras	<i>scrapie</i> príons	OvPrP ^{Sc}
Encefalopatia transmissível de visão (TME)	visão	príons TME	MkPrP ^{Sc}
Doença crônica distrófica (CWD)	alce e veado de orelhas longas	príons CWD	MdePr ^{Sc}
Encefalopatia espongiforme bovina (BSE)	gado	príons BSE	BoPrP ^{Sc}
Encefalopatia espongiforme felina (FSE)	gatos	príons FSE	FePrP ^{Sc}
Encefalopatia exótica ungulada (EUE)	antílope africano e niala	príons EUE	UngPrP ^{Sc}
Kuru	humanos	príons kuru	HuPrP ^{Sc}
Doença de Cretzfeldt – Jakob (CDJ)	humanos	príons CJD	HuPrP ^{Sc}
Síndrome de Gerstmann – Stäussler-Scheinker (GSS)	humanos	príons GSS	HuPrP ^{Sc}
Insônia familiar Gatal (FFI)	humanos	príons FFI	HuPrP ^{Sc}

PRÍONS ESPECÍFICOS DE ESPÉCIES: Diferente de alguns vírus, as propriedades dos príons mudam dramaticamente quando são passados de uma espécie para outra. Os resultados de estudos transgênicos (Tg) em camundongos indicam que, quando os prí-

ons de homens são passados para os camundongos, a patogenicidade potencial dos não-transgênicos para os humanos diminui drasticamente.⁶ Os príons que são reproduzidos em camundongos não-transgênicos são agora príons de camundongos e príons não-humanos. Os príons de camundongos contêm o PrP^{Sc} e o PrP^{Sc} não-humano. Essa mudança específica da espécie na molécula do PrP^{Sc} é acompanhada pela alteração na patogenicidade do príons. Em contraste com os príons humanos, os príons de camundongos são altamente patogênicos para os próprios camundongos. A compreensão dessas mudanças específicas na patogenicidade do príons de cada espécie é proveniente, em grande parte, de estudos de camundongos que apresentam uma variedade de transgenes PrP. Uma vez que o PrP^{Sc} produzido no camundongo é derivado do PrP^C, não é possível determinar a origem do príons inicialmente inoculados no camundongo.⁷

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

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

CLASSIFICAÇÃO DO NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA: Os príons humanos e os reproduzidos em macacos e chimpanzés são manipulados no nível de biossegurança 2 ou 3, dependendo dos estudos que estão sendo conduzidos. Os príons BSE são igualmente manipulados no nível de biossegurança 2 ou 3, devido à possibilidade de os príons terem sido transmitidos aos seres humanos na Grã-Bretanha e na França.⁹

Todos os outros príons animais são considerados patógenos do nível de biossegurança 2. Portanto, baseado na nossa compreensão atual sobre a biologia descrita dos príons, assim que os príons humanos são passados para camundongos, ocorre a produção do PrP^{Sc} de camundongo. Nesse caso, esses príons devem ser considerados como do nível de biossegurança 2, embora os príons humanos sejam manipulados no nível de biossegurança 3, em gran-

de parte das condições experimentais. Uma exceção a essa regra é o caso de camundongos que apresentam transgenes de camundongos/humanos quiméricos ou humanos. Os camundongos transgênicos produzem príons humanos quando infectados por príons humanos e devem ser tratados no nível de biossegurança 2 ou 3, de acordo com os procedimentos descritos. Os mecanismos dos príons disseminados em ovelhas e caprinos, que são os responsáveis pelo desenvolvimento do *scrapie*, ainda são desconhecidos.^{10, 11} Acredita-se que os príons CWD, TME, BSE, FSE e EUE ocorrem depois do consumo de alimentos infectados por príons.^{12, 13, 14, 15}

DOENÇAS HUMANAS PROVOCADAS POR PRÍONS: Os mesmos cuidados usados em pacientes com aids ou com hepatite são certamente adequados para as patologias provocadas por príons e pacientes que estão morrendo devido a tal patologia. Em contraste com essas doenças viróticas, as doenças provocadas por príons não são transmissíveis nem contagiosas.¹⁶ Não há evidências sobre a transmissão por contato de aerossóis de príons de um indivíduo para outro. Porém, esses agentes se tornam contagiosos em algumas circunstâncias como, por exemplo, no ritual de canibalismo na Nova Guiné, que provoca a doença chamada *kuru*, na administração do hormônio do crescimento contaminado por príons, que resultará na CJD iatrogênica e no transplante de enxertos de tecido da dura-máter contaminado por príons que provocam a doença em outras pessoas. Já as doenças CJD, GSS e FFI familiares são doenças provocadas por príons dominantes herdados. Cinco mutações diferentes do gene PrP mostraram ser geneticamente ligadas ao desenvolvimento da doença congênita. Muitos príons de doenças congênitas foram transmitidos a chimpanzês, macacos e camundongos portadores de transgenes PrP humano.^{20, 21, 22}

PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS: Os procedimentos cirúrgicos em pacientes diagnosticados como portadores da doença priônica devem ser minimizados. Acredita-se que a CJD tenha sido transmitida de um paciente portador da CJD para dois outros que, momentos depois, sofreram procedimentos neurocirúrgicos na mesma sala de cirurgia.²³ Embora não existam documentos que comprovem a transmissão de príons aos homens pela exposição da pele intacta ou das membranas mucosas e gástricas aos perdigotos de sangue ou de líquido cerebrospinal, o risco da ocorrência de tais infecções é uma possibilidade. A esterilização dos

instrumentos e a descontaminação da sala de cirurgia devem ser realizadas de acordo com as recomendações descritas.

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

AUTÓPSIAS: As autópsias de rotina e o processamento de quantidades de tecidos fixados em formalina contendo príons humanos requerem os cuidados de um nível de biossegurança 2.²¹ Na autópsia, todo o cérebro deve ser coletado e cortado em secções coronais de aproximadamente 4cm de espessura. Pequenos blocos de tecidos podem facilmente ser removidos de cada secção coronal e colocados em um fixador para posterior análise histopatológica. Cada secção coronal deverá ser imediatamente lacrada por calor em uma sacola de plástico para carga pesada. Pressupõe-se que o exterior da sacola esteja contaminado por príons e outros patógenos. Com luvas novas ou com a ajuda de um assistente que esteja usando luvas sem contaminação, a sacola contendo a amostra deverá ser colocada em outra sacola plástica que não possua uma superfície exterior contaminada. As amostras, então, deverão ser congeladas em gelo seco ou colocadas diretamente em um *freezer* com temperatura de -70°C , para armazenamento. Deve-se obter e congelar, no mínimo, uma secção coronal do hemisfério do cerebelo contendo o tálamo e uma do hemisfério cerebelar e do tronco cerebral.

A ausência de qualquer tratamento eficaz para doenças priônicas demanda muita cautela. As maiores concentrações de príons se encontram na área do sistema nervoso central. Com base em estudos animais, há a possibilidade de que altas concentrações de príons sejam encontradas no baço, no timo, nos nódulos linfáticos e nos pulmões. O principal cuidado a ser tomado, quando se

estiver realizando um trabalho com material contaminado ou infectado por príons, é o de evitar a perfuração da pele.²⁵ A pessoa que estiver realizando o procedimento deverá utilizar luvas resistentes a perfurações. Caso ocorra uma contaminação acidental da pele, a área deverá ser esfregada com hidróxido de sódio a 1N durante cinco minutos e depois lavada com enormes quantidades de água. As listas de 1 a 4 proporcionam procedimentos para a redução de perfurações na pele, formação de aerossóis e contaminação da sala de cirurgia, das superfícies do necrotério e dos instrumentos. As amostras não-fixadas de cérebro, medula espinhal e de outros tecidos contendo príons humanos deverão ser processadas com extremo cuidado em um nível de biossegurança 3.

ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA: O risco de contaminação humana pelos príons BSE ainda não está muito claro. Talvez, a abordagem mais prudente seja estudar os príons BSE em dependências de um nível de biossegurança 2 ou 3 dependendo das amostras a serem estudadas, como observado para príons humanos (cérebro e medula espinhal).

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

PROPRIEDADES FÍSICAS DOS PRÍONS: A menor partícula de um príon infeccioso é provavelmente de um dímero de PrP^{Sc}. Essa estimativa é consistente com o tamanho de um alvo de radiação ionizante de 55 ± 9 kDa.³⁰ Portanto, os príons podem não ser contidos pela maioria dos filtros existentes que, de forma eficaz, eliminam as bactérias e os vírus. Além disso, os príons se agregam às partículas de tamanho não-uniforme e, assim, os detergentes não conseguem solubilizá-los, exceto sob condições de desnaturação em que a infectividade é perdida.^{31, 32} Os príons resistem à inativação

por meio da nuclease,³³ da irradiação de UV a 254nm^{34, 35} e do tratamento com psoralens,³⁶ cátions divalentes, queladores do íon metal, ácidos (entre pH 3 e 7), hidroxilamina, formalina, ebulição ou proteases.^{37, 38}

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

Embora não haja evidências que possam sugerir que a transmissão via aerossol ocorra na doença natural, é mais prudente evitar a formação de aerossóis ou perdigotos durante a manipulação de tecidos ou líquidos e durante a necropsia de animais experimentais. Recomenda-se, também, o uso de luvas para atividades que propiciem o contato direto da pele com tecidos e líquidos infecciosos. Os tecidos fixados em formaldeídos e embebidos em

parafina, especialmente os tecidos cerebrais, permanecem infecciosos. Alguns pesquisadores recomendam que tecidos de casos suspeitos de doenças priônicas fixados em formaldeídos sejam imersos, durante 30 minutos, em ácido fórmico a 96% ou em fenol, antes de ser processados histopatologicamente,⁵⁰ mas esse tratamento pode distorcer a neuropatologia microscópica.

MANUSEIO E PROCESSAMENTO DE TECIDOS DE PACIENTES COM SUSPEITA DE DOENÇA POR PRÍONS: As características especiais do trabalho com príons requerem uma atenção particular com as instalações, os equipamentos, as normas e os procedimentos envolvidos. As considerações relacionadas sublinhadas nas seguintes listas devem ser incorporadas à administração dos riscos laboratoriais para este trabalho.

Lista 1. Precauções padrão* para autópsias de pacientes com suspeita de doença por príons

**Não confundir com “procedimentos padrão universais”.*

1. O atendimento deverá ser limitado a um patologista experiente e a uma equipe pequena. Os membros da equipe deverão evitar o contato direto com o corpo, mas deverão assistir ao procedimento por meio do manuseio dos instrumentos e recipientes da amostra.
2. Um traje padrão para autópsia é obrigatório.
 - a. Ao invés de um avental de tecido, deve-se usar uma roupa descartável e à prova de água.
 - b. Luvas resistentes a cortes e perfurações deverão ser colocadas debaixo de dois pares de luvas cirúrgicas ou luvas *chain mail*, que deverão ser usadas entre dois pares de luvas cirúrgicas.
 - c. Os aerossóis são formados principalmente durante a abertura do crânio com uma serra Stryker. Uma proteção respiratória adequada deverá ser utilizada (PAPR).
3. Para reduzir a contaminação da sala de autópsia:
 - a. A mesa de autópsia deverá ser coberta com um lençol descartável com fundo plástico à prova d'água.
 - b. Os instrumentos contaminados deverão ser colocados em um papel absorvente.

- c. O cérebro deverá ser removido, enquanto a cabeça deverá ser colocada em um saco plástico para a redução da nebulização e de borrifos.
- d. O cérebro poderá ser colocado em um recipiente com um revestimento de saco plástico para pesagem.
- e. O cérebro deverá ser colocado em uma tábua de corte e as amostras adequadas serão dissecadas para o congelamento instantâneo (veja a lista 3).
- f. O cérebro ou os órgãos a ser fixados deverão ser imediatamente colocados em um recipiente com um tampão neutro de formalina a 10%.
- g. Na maioria dos casos de suspeita de doença priônica, a autópsia pode ser limitada somente ao exame do cérebro. Em casos que exijam uma autópsia completa, devemos considerar o exame e a amostragem dos órgãos torácicos e abdominais *in situ*.

Lista 2. Procedimentos de descontaminação da sala de autópsia

1. Os instrumentos (grampos) e as lâminas da serra deverão ser colocados em uma placa grande de aço inoxidável que deverá ser imersa durante uma hora em hidróxido de sódio a 2N ou durante duas horas em hidróxido de sódio a 1N. Depois deverão ser bem enxaguados em água antes de serem autoclavados a uma temperatura de 134°C (autoclave de vapor com deslocamento de gravidade por 1 hora; autoclave de vapor para cargas porosas por um ciclo de 18 minutos a 30 libras por polegada quadrada ou seis ciclos de 3 minutos a 30 libras por polegada quadrada).
2. A serra Stryker deverá ser descontaminada com repetidas umidificações com uma solução de hidróxido de sódio a 2N, por um período de um hora. Uma lavagem adequada deverá ser realizada para remoção do NaOH residual.
3. O papel absorvente que cobre a mesa e envolve os instrumentos, as roupas descartáveis, etc. deverão ser duplamente embalados em sacos adequados para lixo infecciosos, para posterior incineração.
4. Quaisquer áreas suspeitas de contaminação da mesa ou da sala de autópsia deverão ser descontaminadas por re-

petidos banhos de uma solução de hidróxido de sódio a 2N, durante uma hora.

Lista 3. Procedimentos de corte do cérebro

1. Após a adequada fixação em formaldeído (pelo menos de 10 a 14 dias), o cérebro deverá ser examinado e cortado sobre uma mesa coberta com um papel absorvente que posua a parte de trás coberta por um material impermeável.
2. As amostras para a histologia deverão ser etiquetadas com o termo: “As precauções da CJD”. Para laboratórios que não possuam equipamento para coloração e imersão ou um micrótomo exclusivo para doenças infecciosas incluindo a CJD, blocos de tecido fixado pela formalina poderão ser colocados em ácido fórmico absoluto a 96% durante 30 minutos, seguido de uma solução de tampão neutro de formalina a 10% por pelo menos 48 horas.⁵¹ O bloco de tecido será, então, imerso em parafina como normalmente é realizado. As técnicas padrão neuroistológicas ou imunoistoquímicas não são afetadas pelo tratamento com o ácido fórmico. Porém, de acordo com experiências, os cortes de tecidos se tornam quebradiços e danificados durante o seccionamento.
3. Todos os instrumentos e as superfícies que tiveram um contato com o tecido deverão ser descontaminados como descrito na lista 2.
4. Os resíduos de tecidos, fragmentos de cortes e a solução de formaldeído contaminado deverão ser descartados como lixo hospitalar para eventual incineração.

Lista 4. Preparação do tecido

1. Os técnicos de histologia deverão usar luvas, aventais, jalecos e proteção facial.
2. A fixação adequada de pequenas amostras de tecidos (por exemplo, biópsias) de um paciente com suspeita de doença priônica deverá passar por uma pós-fixação em ácido fórmico absoluto a 96% durante 30 minutos, seguido de 48 horas em formalina fresca a 10%.

3. O dejetto líquido deverá ser coletado em um garrafão para lixo de 4 litros contendo 600ml de hidróxido de sódio a 6N.
4. As luvas, os moldes imersos e todos os materiais de manipulação deverão ser descartados como lixo de perigo biológico.
5. As fitas de tecido deverão ser processadas manualmente para prevenir a contaminação dos processadores de tecido.
6. Os tecidos deverão ser imersos em um molde descartável. Caso haja sua utilização, as pinças deverão ser descontaminadas.
7. Ao preparar as secções, recomenda-se o uso de luvas. Os cortes não usados deverão ser coletados e desprezados em um recipiente para lixo de perigo biológico. A faca deverá ser lavada com uma solução de NaOH a 1-2N e deverá ser descartada imediatamente em um recipiente para objetos cortantes biológicos. As lâminas deverão ser etiquetadas com os dizeres “Precauções contra CDJ”. O bloco seccionado deverá ser fixado com parafina.
8. Coloração de rotina:
 - a. As lâminas deverão ser processadas manualmente.
 - b. Os reagentes deverão ser preparados em cálices de 100ml descartáveis.
 - c. Após a colocação da lamínula, as lâminas deverão ser descontaminadas ao mergulhá-las em uma solução de NaOH a 2N durante 1 hora.
 - d. As lâminas deverão ser etiquetadas como “CDJ – Infecciosos”.
9. Outras sugestões:
 - a. Os cálices descartáveis ou as estantes para lâminas poderão ser usados para os reagentes.
 - b. As lâminas para a imunocitoquímica poderão ser processadas em placas de Petri descartáveis.
 - c. O equipamento deverá ser descontaminado como descrito.

SEÇÃO VII-E: AGENTES RICKETTSIAIS

Agente: *Coxiella burnetii*

Dos agentes rickettsiais, a *Coxiella burnetii* provavelmente é o agente que apresenta o maior risco de uma infecção laboratorial. O organismo é altamente contagioso e incrivelmente resistente à secagem e às condições ambientais.¹ A dose infecciosa dos organismos da fase I virulenta em laboratórios animais tem sido calculada como sendo tão pequena quanto um único microorganismo. A dose humana infecciosa estimada ID₂₅₋₅₀ (inalação) para a febre Q é de 10 organismos.² O resumo de Pike indica que a febre Q é a segunda infecção associada a laboratório mais comumente relatada, com surtos envolvendo 15 ou mais pessoas registradas em várias instituições.^{3,4} Vários mamíferos domésticos e selvagens são os hospedeiros naturais da febre Q e podem servir como fontes potenciais de infecção para as pessoas que trabalham em um laboratório e para os tratadores de animais de laboratório. A exposição a ovelhas naturalmente infectadas e freqüentemente assintomáticas e a seus filhotes são parte de um risco documentado ao pessoal.^{5,6} Embora rara, a *C. burnetii* é conhecida por causar infecções crônicas como a endocardite ou a hepatite granulomatosa.

RISCOS EM LABORATÓRIO: A necessidade do uso de ovos embrionários ou de técnicas de cultura celular para a reprodução da *C. burnetii* leva a extensivos procedimentos de purificação. A exposição aos aerossóis contagiosos e a inoculação parenteral são as fontes mais prováveis de contágio para as pessoas que trabalham em laboratórios e as que tratam de animais.⁷ Os agentes podem ser encontrados em artrópodes infectados, no sangue, na urina, nas fezes, no leite e nos tecidos de hospedeiros animais ou humanos infectados. As placentas de ovelhas infectadas podem conter até 10⁹ organismos por grama de tecido,⁸ enquanto que o leite pode conter 10⁵ organismos por grama.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para procedimentos laboratoriais não-reprodutivos, incluindo os exames sorológicos e a coloração de impressão dos esfregaços. As práticas e as instalações

do nível de biossegurança 3 são indicadas para atividades envolvendo a inoculação, a incubação e a coleta de ovos embrionados ou de culturas de células, a necropsia de animais infectados e a manipulação de tecidos infectados. Uma vez que cobaias e outros roedores possam conter o agente nas fezes ou na urina,⁹ os roedores experimentalmente infectados deverão ser mantidos sob um nível de biossegurança animal 3. O isolamento clonal específico de cepas não-virulentas (fase II) pode ser considerado para condições de contenção inferiores.¹⁰

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

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

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

Pike relatou 57 casos de tifo (tipo não especificado) associado a laboratório; 56 casos de tifo epidêmico, com três mortes; e alguns casos de tifo murino.¹³ Mais recentemente, três casos de tifo murino foram relatados em um laboratório de pesquisa.¹⁴ Dois desses três casos estavam associados ao manuseio de materiais infecciosos em bancadas abertas. O terceiro caso foi provocado por uma inoculação parenteral acidental. Esses três casos representaram

uma incidência de 20% das pessoas que trabalham com materiais infecciosos.

A febre maculosa das Montanhas Rochosas é um risco documentado para as equipes laboratoriais. Pike relatou 63 casos adquiridos em laboratório, dos quais 11 foram fatais.¹⁵ Oster, por sua vez, registrou 9 casos que ocorreram por um período de 6 anos em um laboratório, que acreditava serem resultantes de uma exposição aos aerossóis infecciosos.¹⁶

RISCOS EM LABORATÓRIO: A inoculação parenteral acidental e a exposição aos aerossóis contagiosos são as fontes mais prováveis de infecções associadas a laboratório.¹⁷ A transmissão bem-sucedida por meio de aerossóis contaminados por *R. rickettsii* foi documentada experimentalmente em primatas não-humanos.¹⁸ Cinco casos de varíola por riquetsia registrados por Pike estavam associados à exposição às picadas de ácaros infectados.¹⁹

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para procedimentos laboratoriais não-reprodutivos, incluindo procedimentos sorológicos e de anticorpo fluorescente e, ainda, a coloração de impressão dos esfregaços. As práticas e as instalações do nível de biossegurança 3 são indicadas para todas as outras manipulações de materiais sabidamente ou potencialmente infecciosos, incluindo a necropsia de animais experimentalmente infectados e a trituração de seus tecidos, a inoculação, a incubação e a coleta de ovos embrionados e as culturas de células. As práticas e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicadas para o alojamento de mamíferos, com exceção dos artrópodes experimentalmente infectados. Já as práticas e as instalações do nível de biossegurança 3 são indicadas para estudos animais com artrópodes naturalmente ou experimentalmente infectados por agentes rickettsiais da doença humana.

Devido ao valor comprovado da terapia com antibióticos nos estágios iniciais da infecção, é essencial que os laboratórios que

trabalham com a riquetsia possuam um sistema eficaz de relato de doenças febris na equipe laboratorial, uma avaliação médica de casos potenciais e, quando indicada, a instituição de uma terapia antibiótica adequada. As vacinas, atualmente, não estão à disposição para uso em homens (veja a seção seguinte sobre Vigilância).

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deve ser obtida junto ao CDC. No caso de uma licença para exportação, esta deverá ser conseguida no *Department of Commerce*. O registro do laboratório junto ao CDC é necessário para envio ou recebimento do agente.

Vigilância da Equipe Laboratorial em Relação às Infecções Rickettsiais Adquiridas em Laboratório

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

A experiência mostra que as infecções, quando adequadamente tratadas com quimioterapia anti-rickettsial específica no primeiro dia da doença, geralmente não provocam sérios problemas no indivíduo. A demora em adotar essa quimioterapia, porém, pode resultar em uma doença debilitante ou muito aguda, variando com períodos crescentes de convalescença no caso do tifo, e em morte no caso de tifo rural em infecções por *R. rickettsii*. A chave para a redução da gravidade da doença provocada por infecções associadas a laboratório é um sistema confiável de vigilância, que inclui: 1. Disponibilidade total de um médico experiente; 2. Doutrinação de toda a equipe sobre os riscos potenciais do trabalho com agentes rickettsiais e as vantagens de uma terapia precoce; 3. Um sistema de relatórios para todas as exposições conhecidas e os acidentes ocorridos; 4. Relatórios de todas as doenças febris, especialmente as associadas à dor de cabeça, ao mal-estar e à prostração, quando não existir nenhuma outra causa; e 5. Uma atmosfera de não-punição que possa motivar o relato de qualquer doença febril.

Os agentes rickettsiais podem ser manipulados em um laboratório com um perigo real mínimo, quando um sistema adequado

de vigilância for complementado por uma equipe que tenha conhecimento sobre os riscos de infecções por riquetsias e usos de medidas seguras recomendadas pelo Resumo das Características dos Agentes.

SEÇÃO VII-F: AGENTES VIRAIS (NÃO INCLUINDO O ARBOVÍRUS)

Agentes: *Hantavírus*

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

A síndrome pulmonar por hantavírus (HPS) é uma nova doença grave e freqüentemente fatal, causada pelo vírus *Sin Nombre* e/ou um vírus relacionado.¹ A maioria dos casos de patologias humanas resultou de exposições a roedores selvagens naturalmente infectados. Os vetores artrópodes não são conhecidos como transmissores do hantavírus. Nenhuma transmissão de um indivíduo para outro foi provocada por um vírus associado a essa doença.

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

Quatro trabalhadores de laboratório foram infectados enquanto trabalhavam com o vírus *Hantaan* adaptado a uma cultura de células. Embora os procedimentos associados às infecções ainda não estejam bem explicados, esses quatro indivíduos trabalharam repetidas vezes com culturas de hantavírus e realizaram a cen-

trifugação do vírus concentrado.⁶ O RNA viral foi detectado em amostras de necropsias e no sangue e plasma de um paciente coletados no início da doença.⁷ As implicações dessas descobertas para a infectividade do sangue ou dos tecidos são desconhecidas.

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

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

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desses agentes deve ser conseguida no CDC. A licença para exportação deverá ser conseguida junto ao Department of Commerce e é necessário o registro do laboratório no CDC antes do envio ou recebimento dos agentes.

Agentes: *Hendra e Vírus Semelhantes à Hendra*
(inclusive o vírus anteriormente conhecido
como *Morbilivírus Eqüino*)

Surtos de um paramixovírus anteriormente desconhecido, que foi primeiramente chamado de morbilivírus eqüino e posteriormente denominado de vírus Hendra, ocorreram em cavalos na Austrália em 1994 e 1995.^{8, 9, 10, 11, 12} Três pessoas que possuíam um contato próximo com cavalos enfermos desenvolveram a encefalite ou a doença respiratória e duas faleceram. Nenhum surto associado à doença humana foi reconhecido, mas dois indivíduos que trabalhavam em chiqueiro de porcos lembraram de uma doença que tiveram semelhante à gripe, na mesma época em que ocorreram os surtos. Além disso, todos os dois indivíduos possuíam titulações neutralizadoras de anticorpos ao vírus de Menangle. De 1998 a 1999, um surto da doença provocado por um vírus semelhante, mas distinto do Hendra, aconteceu em Cingapura e na Malásia.¹³ Nesses dois países, a doença humana – caracterizada por febre, dor de cabeça grave, mialgia e sinais de encefalite – acometeu indivíduos que tiveram um contato próximo com porcos (isto é, fazendeiros e trabalhadores de abatedouros). Poucos pacientes desenvolveram uma doença respiratória. Metade das pessoas infectadas por esse vírus faleceram. O(s) hospedeiro(s) natural(is) da Hendra e dos vírus semelhantes à Hendra não foram identificados. Porém, na Austrália os morcegos eram animais suspeitos de carregarem o vírus Hendra. Estudos epidemiológicos e laboratoriais estão em andamento.

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: O modo exato de transmissão ainda não foi estabelecido. Todos os casos até hoje estavam associados ao contato próximo com cavalos e com sangue ou líquidos corporais de cavalos (Austrália) ou de porcos (Malásia/Cingapura). O

vírus Hendra e o semelhante a ele foram encontrados nos tecidos de animais contaminados durante os surtos descritos. Em um recente surto na Malásia e em Cingapura, o antígeno viral foi descoberto no sistema nervoso central, nos tecidos renais e pulmonares de casos humanos fatais.¹⁴

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: Devido aos riscos desconhecidos para os trabalhadores do laboratório e ao impacto potencial sobre criações de animais nativos, o vírus deverá ser pesquisado ou diagnosticado no laboratório. Os fiscais da saúde e os gerentes dos laboratórios deverão avaliar a necessidade de se realizar um trabalho com o vírus e a capacidade das dependências antes de iniciarem qualquer contato com o vírus Hendra, com o semelhante a ele ou com vírus suspeitos relacionados. Especialistas em doenças da saúde pública e veterinária deverão desenvolver planejamentos, como estudos laboratoriais e transporte de amostras e de substâncias isoladas para o laboratório. Até que mais informações sejam conseguidas, o manuseio de amostras clínicas humanas e as tentativas de isolamento desse vírus deverão ser realizados em dependências de um NB-3 e por pessoas experientes. O NB-4 (laboratório escafandro ou cabines de segurança classe III) deverá ser utilizado em qualquer trabalho envolvendo animais contaminados ou grandes quantidades de vírus.¹⁵

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deve ser obtida junto ao CDC. No caso de uma licença para exportação, esta deverá ser conseguida no *Department of Commerce*. O registro do laboratório junto ao CDC é necessário para envio ou recebimento do agente.

Agentes: *Vírus da Hepatite A, Vírus da Hepatite E*

As infecções com os vírus da hepatite A e E adquiridas em laboratório não parecem ser importantes riscos ocupacionais para as equipes laboratoriais. Porém, a doença é um risco documentado para as pessoas que manuseiam animais e para outros que trabalham com chimpanzés e outros primatas não-humanos experimental ou naturalmente contaminados.¹⁶ O vírus da hepatite E parece ser um risco menor para as pessoas que trabalham com ele em relação ao grande risco envolvendo os que manuseiam o vírus da hepatite A, exceto durante a gravidez, quando a infecção pode resultar

em uma doença fatal ou grave. Os trabalhadores que manipulam outros primatas recentemente capturados e susceptíveis (macacos-coruja, sagüis) podem também estar correndo um sério risco.

RISCOS EM LABORATÓRIO: Os agentes podem ser encontrados nas fezes, na saliva e no sangue de humanos e primatas não-humanos contaminados. A ingestão de fezes, água de vaso sanitário e outros materiais contaminados é o risco primário para a equipe laboratorial. A importância da exposição aos aerossóis não foi demonstrada. Cepas atenuadas ou não-virulentas dos vírus da hepatite A resultantes de passagens em série em cultura celular foram descritas.^{17, 18}

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de segurança e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para atividades com fezes humanas ou de primatas não-humanos conhecidamente ou potencialmente contaminadas. Já as práticas e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicadas para atividades que usem primatas não-humanos naturalmente ou experimentalmente contaminados. Os tratadores de animais deverão usar luvas e tomar outras precauções adequadas para evitar possíveis exposições fecais-orais. Uma vacina inativada licenciada contra a hepatite A está disponível na Europa. Nos Estados Unidos encontramos somente uma vacina de pesquisa recomendada para os trabalhadores de laboratório. As vacinas contra a hepatite E não estão disponíveis para o uso em humanos.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agentes: *Vírus da Hepatite B, Vírus da Hepatite C (anteriormente conhecidos como Vírus não-A e Vírus não-B) e Vírus da Hepatite D*

A hepatite B tem sido uma das infecções associadas a laboratório¹⁹ mais freqüentemente encontradas, e os trabalhadores de laboratório são reconhecidos como o grupo de maior risco de contaminação por esse vírus.²⁰ Os indivíduos contaminados pelo vírus da hepatite B correm o risco de contraírem o vírus da hepatite D (delta), que é incompleto e requer a presença do vírus da hepatite B para se reproduzir.

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

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

O vírus da hepatite C tem sido detectado primariamente em sangue e soro, menos freqüentemente na saliva e raramente em urina ou sêmen. Ele parece ser relativamente instável, quando estocado em temperatura ambiente e em congelamentos e descongelamentos repetidos.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para todas as atividades utilizando líquidos corporais e tecidos conhecidos ou potencialmente contaminados. Precauções pessoais e contenção primária adicional, como as descritas para o nível de biossegurança 3, podem ser indicadas para atividades com potencial para a formação de perdigotos ou aerossóis e para as atividades envolvendo quantidades ou concentrações de produção de materiais infecciosos. As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicados para atividades que utilizem chimpanzés ou outros primatas não-humanos contaminados naturalmente ou experimentalmente. Deve-se usar luvas quando trabalhos com animais contaminados estiverem sendo realizados ou quando houver a possibilidade de contato da pele com materiais contaminados. As vacinas recombinantes licenciadas contra a hepatite B estão disponíveis e são altamente recomendadas e oferecidas aos trabalhadores de laboratório.²⁴ Já as vacinas contra as hepatites C e D ainda não estão disponíveis para uso humano.

Além dessas precauções recomendadas, as pessoas que trabalham com o HBV, o HVC ou outros patógenos do sangue deverão consultar o OSHA *Bloodborne Pathogen Standard*.²⁵ Questões relacionadas à interpretação desses padrões deverão ser direcionadas aos escritórios federais, regionais e estaduais da OSHA.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desses agentes deverá ser obtida junto ao CDC.

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

O CHV-1 é um alfaherpesvírus que ocorre naturalmente contaminando símios livres ou em cativeiro, incluindo a *Macaca mulatta*, a *M. fascicularis* e outros membros do gênero. Em símios, este está associado a lesões orais vesiculares agudas, assim como infecções latentes e freqüentemente recrudescentes.²⁶ A infecção humana tem sido documentada em pelo menos 50 casos, geralmente com um resultado fatal ou com sérias seqüelas de encefalites.^{27, 28, 29, 30, 31, 32, 33} Vinte e nove casos fatais de infecções humanas (com um índice de fatalidade de 58%) com o CHV-1 foram relatados.^{34, 35, 36, 37}

Embora o CHV-1 apresente um risco potencial aos trabalhadores de laboratórios que manipulam esse agente, as infecções humanas com o CHV-1 adquiridas em laboratório, com raras exceções, se limitaram aos trabalhadores que tiveram um contato direto com os símios. As culturas celulares primárias de símios, incluindo as células dos rins dos macacos rhesus comercialmente preparadas, ocasionalmente podem ser assintomaticamente contaminadas com o CHV-1 e comprometidas em um caso humano.³⁸

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: O alojamento assintomático acontece na maioria das transmissões entre os macacos e os trabalhadores humanos, embora o maior risco de se adquirir o vírus CHV-1 de símios seja por meio da mordida de um macaco contaminado que possua lesões ativas. A contaminação da pele rachada ou das membranas mucosas por secreções orais, oculares ou urogenitais de símios contaminados durante suas infecções recrudescentes ou primárias é também perigosa e tem provocado pelo menos um caso de mortalidade ocupacional.³⁹ A estabilidade de partículas virais em gaiolas e outras superfícies não é conhecida, mas o risco potencial dever ser reconhecido para cortes ou abrasões provocados por essas superfícies potencialmente contaminadas. Acredita-se que outros alfa herpesvírus não irão persistir no meio ambiente por longo tempo. O trabalho experimental com animais indica que a importância da exposição aos aerossóis do CHV-1 é possivelmente mínima. Cepas atenuadas ou não-virulentas ainda não foram identificadas.

O agente também pode ser encontrado em vísceras torácicas e abdominais e nos tecidos nervosos de símios naturalmente contaminados. Esses tecidos e as culturas preparadas a partir deles são riscos potenciais.⁴⁰

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades envolvendo uso ou manipulação de tecidos líquidos corporais e materiais para cultura de tecidos de símios. As práticas e as precauções individuais adicionais, como as detalhadas para o nível de biossegurança 3, são indicadas para atividades envolvendo uso ou manipulação de qualquer material conhecido por conter ou supostamente conter o CHV-1, incluindo a reprodução *in vitro* do vírus para diagnóstico. Seria prudente limitar as manipulações de culturas positivas contendo altas titulações de vírus para instalações do nível de biossegurança 4 (CSB de classe III ou laboratório escafandro – veja a seção III), dependendo da decisão do diretor do laboratório.

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

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

Existem normas para o trabalho seguro com símios e estas deverão ser consultadas.^{41, 42} O uso de luvas, máscaras, jalecos e macacões é recomendado para todas as pessoas enquanto estiverem trabalhando com primatas não-humanos – especialmente símios e outras espécies do Velho Mundo – e para todas as pessoas que entrarem nas salas de animais onde os primatas não-humanos são alojados. Para minimizar o potencial da exposição da membrana mucosa,⁴³ alguma forma de barreira deverá ser utilizada para prevenir a contaminação dos olhos, da boca e das narinas por borrifos e perdigotos. O uso de diferentes tipos de equipamento de proteção individual (óculos de proteção, óculos com escudos sólidos ou escudos faciais usados juntamente com máscaras e respiradores) deve ser obrigatório para a avaliação do risco em laboratório. As especificações do equipamento deverão ser balanceadas com o trabalho realizado, de maneira que as barreiras selecionadas não aumentem o perigo apresentado pelo local de trabalho, obscurecendo a visão e contribuindo para o aumento de mordidas, picadas por agulhas ou arranhões de animais.

As drogas antivirais representam grandes promessas em relação à terapia de coelhos contaminados com *H. simiae*. A limitada experiência clínica^{44, 45} sugere que essa terapia pode ser estendida ao homem.^{46, 47} Devido à gravidade da infecção com o vírus, pessoas com experiência médica deverão estar constantemente presentes e disponíveis para que possam gerenciar os incidentes envolvendo as exposições ao agente ou as infecções suspeitas. A transmissão de homens para homens foi documentada em um único caso, mostrando que se deve tomar cuidado com líquidos vesiculares, secreções orais e secreções conjuntivais de pessoas contaminadas.⁴⁸ As vacinas não estão disponíveis para o uso em humanos.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para a importação do agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: *Herpesvírus Humano*

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

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de contenção e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para atividades que utilizem materiais clínicos sabidamente ou potencialmente infecciosos ou culturas de agentes virais nativos que estejam associadas ou sejam identificadas como patógenos primários de doença humana. Embora existam poucas evidências de que os aerossóis infecciosos sejam uma fonte significativa de infecções associadas a laboratório, é mais prudente evitar a for-

mação de aerossóis durante a manipulação de materiais clínicos ou de produtos isolados ou durante a necropsia de animais. Os dispositivos de contenção primária (cabines de segurança biológica) constituem a barreira básica de proteção dos trabalhadores para evitar a exposição a aerossóis infecciosos.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desses agentes deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: *Influenza*

As infecções adquiridas em laboratório e que possuem o vírus da influenza como agente causador não são normalmente documentadas na literatura. Entretanto, devem-se considerar dados informais e relatórios publicados que indicam que, quando novas cepas que apresentam um desvio ou uma flutuação antigênica foram introduzidas em um laboratório para diagnóstico ou pesquisa, acabaram por causar infecções desse tipo.⁴⁹

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

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

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para recebimento e inoculação rotineira de amostras laboratoriais para diagnósticos. O material para autópsia deverá ser manipulado em uma cabine de segurança biológica usando os procedimentos do nível de biossegurança 2.

ATIVIDADES UTILIZANDO CEPAS DE VÍRUS NÃO-CONTEMPORÂNEAS: Os requisitos para a biossegurança, no caso de infecção adquirida em laboratório e transmissão subsequente, devem estar de acordo com as informações disponíveis sobre a patogenicidade e a virulência das cepas que estão sendo usadas e o potencial de danos para o ser humano ou para a sociedade. As atividades de produção e pesquisa utilizando cepas contemporâneas podem ser realizadas com segurança usando as práticas de contenção do nível de biossegurança 2. A susceptibilidade à infecção com cepas humanas não contemporâneas mais velhas, recombinantes ou com substâncias isoladas de animais garante o uso de procedimentos de contenção do nível de biossegurança 2. Mas não há evidências para infecções adquiridas em laboratório com referência às cepas A/PR/8/34 e A/WS/33 ou com suas variantes neurotrópicas mais comumente usadas.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação do agente deverá ser feita junto ao CDC. Já a licença para importação ou transporte doméstico deverá ser obtida junto ao USDA/APHIS/VS.

Agente: *Vírus da Coriomeningite Linfocítica*

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: Esse agente pode ser encontrado no sangue, no líquido cerebrospinal, na urina, nas secreções da nasofaringe, nas fezes e nos tecidos de hospedeiros animais contaminados e, possivelmente, do homem. A inoculação parenteral, a inalação, a contaminação das membranas mucosas ou de peles rachadas por tecidos ou líquidos contaminados de animais in-

fectados são os riscos mais comuns. A transmissão por aerossóis também é bem documentada.⁵³ O vírus pode oferecer um risco especial durante a gravidez devido à infecção potencial do feto.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para as atividades que utilizam líquidos corporais sabidamente ou potencialmente infecciosos e passagem de cultura celular de cepas de células cerebrais de camundongo adaptadas para laboratório. As práticas e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são adequadas para estudos em camundongos adultos com cepas de passagem cerebrais de rato. Porém, a contenção e as precauções individuais adicionais, como as descritas para o nível de biossegurança 3, são indicadas para atividades que possuam um alto potencial para a formação de aerossóis ou atividades que envolvam quantidades ou concentrações de produção de materiais infecciosos. Essas precauções também são recomendadas para a manipulação de tumores contaminados infectáveis, o isolamento de campo e os materiais clínicos de casos humanos. As práticas e as instalações do nível de biossegurança animal 3 são recomendadas para o trabalho com *hamsters* contaminados. As vacinas não estão disponíveis para uso em humanos.⁵⁴

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deve ser obtida junto ao CDC.

Agente: Poliovírus

As infecções com o poliovírus adquiridas em laboratório são raras e se limitam às pessoas que trabalham diretamente com esse vírus em laboratório e não são vacinadas.⁵⁵ Existem no mínimo 12 casos documentados de infecções por poliovírus associados a laboratório, incluindo duas mortes entre 1941 e 1976.⁵⁶ Porém, uma vez que ~1% das infecções com o poliovírus resultou em patologia, sem uma confirmação laboratorial é impossível estimar precisamente os números das infecções adquiridas em laboratório. Com vacinas e instalações laboratoriais eficazes, tecnologia e procedimentos é bem possível que essas infecções já sejam raras em laboratórios. Mas, se os trabalhadores de um laboratório se contaminarem, eles se tornarão uma fonte de vírus para a população não-vacinada.⁵⁷ As infecções em animais associadas a laboratório, entretanto, não têm sido relatadas,⁵⁸ mas os primatas não-huma-

nos experimentalmente ou naturalmente contaminados poderiam ser uma fonte de infecção se expostos às pessoas não-imunizadas. Os ratos transgênicos apresentam o receptor humano para o poliovírus e podem também ser fontes potenciais de infecção humana.

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades que utilizam líquidos sabidamente ou potencialmente infecciosos e materiais clínicos contendo ou suspeitos de conter cepas do tipo selvagem. Todos os trabalhadores de laboratório que trabalhem diretamente com o agente deverão possuir um atestado de vacinação ou provas sorológicas da imunidade a todos os três tipos de poliovírus.⁵⁹ As práticas e as instalações do nível de biossegurança animal 2 são indicadas para estudos de vírus virulentos em animais. A menos que existam fortes razões científicas para o trabalho com poliovírus virulentos (que foram erradicados dos Estados Unidos), os laboratórios deverão usar cepas de vacina oral Sabin de poliovírus atenuado. Essas não oferecem risco algum à equipe imunizada dos laboratórios.

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

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

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

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para a importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC.

Agente: *Poxvírus*

Casos esporádicos de infecções por poxvírus (catapora, vacínia, yabapox, tanabox) foram relatados.⁶¹ Evidências epidemiológicas sugerem que a transmissão do vírus do macaco para homens ou de roedores para homens possa ter ocorrido na natureza, mas não nas dependências de um laboratório. Animais de laboratórios naturalmente ou experimentalmente contaminados são fontes

potenciais de infecção para pessoas que trabalham em um laboratório e não são vacinadas. Vírus da vacínia recombinantes reproduzidos geneticamente oferecem um risco potencial ainda maior para a equipe laboratorial devido ao contato direto ou contato com materiais clínicos de voluntários ou animais contaminados.

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: A posse e o uso do vírus da varíola ficam restritos ao *Collaborating Center for Smallpox and Other Poxvirus Infections*, da Organização Mundial da Saúde, localizado nos Centros de Controle e Prevenção de Doenças, em Atlanta, Geórgia. As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são recomendadas para todas as atividades envolvendo o uso ou a manipulação de poxvírus, com exceção do vírus da varíola, que apresenta um grande risco de infecção aos homens. Todas as pessoas que trabalham dentro de um laboratório ou que forem entrar nas áreas de laboratório ou áreas dos animais onde atividades com os vírus vacínia, vírus da varíola bovina e de macacos estiverem sendo conduzidas deverão possuir um atestado de vacinação. Essa imunização deverá ter sido realizada dentro de um período de dez anos. As atividades com os vírus relacionados anteriormente, em quantidades maiores que as apresentadas nas culturas para diagnóstico, poderão também ser conduzidas em um nível de biossegurança 2, mas por pessoas imunizadas – já que todas as manipulações de materiais viáveis deverão ser realizadas em cabines de segurança biológica classe I ou II. Indivíduos imunodeprimidos correm um risco de adquirirem uma patologia ainda mais grave quando infectados por um poxvírus.⁶⁴

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC. No caso de uma licença

para exportação, esta deverá ser obtida no Department of Commerce. O registro dos laboratórios junto ao CDC deverá ser obtido antes do envio ou recebimento dos agentes.

Agente: *Vírus da Raiva*

As infecções provocadas por esse agente e adquiridas em laboratório são extremamente raras. Somente duas foram documentadas. Todas as duas resultaram de uma suposta exposição a neovas infecciosas de altas titulações, sendo uma formada em um local de produção da vacina⁶⁵ e a outra em um local de pesquisa.⁶⁶ Os animais naturalmente ou experimentalmente contaminados, seus tecidos e suas excreções constituem uma fonte potencial de exposição para o pessoal do laboratório e tratadores de animais.

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades que utilizam materiais sabidamente ou potencialmente infecciosos. A imunização é recomendada para todos os indivíduos antes que se inicie o trabalho com o vírus da raiva ou com animais infectados ou atividades que envolvam diagnóstico, produção ou pesquisa do vírus. A imunização também é recomendada para todos os indivíduos que forem entrar na mesma sala onde o vírus da raiva ou de animais contaminados estiver sendo usado. Embora

não seja sempre possível abrir o crânio ou retirar o cérebro de um animal infectado dentro de uma cabine de segurança biológica, é essencial o uso de luvas pesadas de proteção para prevenir cortes ou farpas de instrumentos cortantes ou de fragmentos de ossos e também o uso de um escudo facial para proteção das membranas mucosas dos olhos, do nariz e da boca quanto à exposição destas aos perdigotos infecciosos ou aos fragmentos de tecidos. Se a serra de Stryker for usada para abrir o crânio, evite o contato do cérebro com a lâmina da serra. A contenção primária e as precauções individuais adicionais, como as descritas para o nível de biossegurança 3, poderão ser indicadas para atividades com um alto potencial de formação de aerossóis ou perdigotos e para as atividades que envolvam quantidades ou concentrações de materiais infecciosos em grande escala.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC.

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

Os dados sobre a transmissão do HIV ocupacional para trabalhadores de um laboratório são coletados por intermédio de dois sistemas de vigilância nacional apoiados pelos CDC: vigilância quanto à aids e às pessoas infectadas pelo HIV que não adquiriram a infecção em exposições ocupacionais. Para propósitos de vigilância, os trabalhadores de laboratório são definidos como as pessoas, incluindo estudantes e estagiários, que trabalham ou já trabalharam em um laboratório para diagnóstico do HIV ou laboratório clínico a partir de 1987. Os casos reportados nesses dois sistemas são classificados como uma transmissão ocupacional possível ou documentada. As que são classificadas como transmissão ocupacional documentada possuem evidências de uma soroconversão do HIV (um teste HIV negativo no momento da exposição que se alterou e se tornou positivo) seguida de uma discreta exposição ocupacional percutânea ou mucocutânea ao sangue, aos líquidos ou a outras amostras clínicas ou laboratoriais. Até junho de 1998, o CDC havia registrado 16 trabalhadores de laboratórios (todos clínicos) nos Estados Unidos com transmissão ocupacional documentada.⁶⁹

Em 1992, dois trabalhadores de diferentes laboratórios desenvolveram o vírus da imunodeficiência de símios (SIV) após terem se exposto. Um caso estava associado a uma picada de agulha, que aconteceu enquanto o trabalhador estava manipulando uma agulha contaminada com sangue após uma hemorragia em um macaco infectado por SIV.⁷⁰ Já o outro caso envolveu um trabalhador que manipulava amostras de sangue de um macaco infectado pelo SIV sem usar luvas. Embora ele não se lembrasse desse incidente específico, este indivíduo apresentou dermatites nos antebraços e nas mãos enquanto trabalhava com amostras de sangue infectado.⁷¹ O primeiro trabalhador apresentou uma soroconversão e, portanto, não apresentou evidência alguma de infecção pelo SIV. O segundo era soropositivo durante pelo menos nove anos, sem evidência alguma da doença ou de deficiência imunológica.

Publicações recentes^{72, 73} identificaram a prevalência (4/231, 1,8%) da infecção por vírus espumosos de símios (SFV) entre humanos ocupacionalmente expostos a primatas não-humanos. O diagnóstico de infecções por SFV inclui a soropositividade, a detecção de DNA proviral e o isolamento do vírus espumoso. O SFV se originou do macaco-verde africano (uma pessoa) e de babuínos (três pessoas). Essas infecções ainda não provocaram doenças ou transmissão sexual e podem representar infecções benignas.

RISCOS EM LABORATÓRIO: O HIV tem sido isolado do sangue, do sêmen, da saliva, das lágrimas, da urina, do líquido cerebrospinal e do tecido de pessoas infectadas e de primatas não-humanos experimentalmente infectados.⁷⁴ O CDC recomenda que os cuidados com o sangue e os líquidos corporais sejam intensificados consistentemente quando amostras de sangue contaminadas estejam sendo manipuladas.^{75, 76} Essa abordagem, chamada de “precauções universais”, inclui a necessidade de identificar as amostras clínicas obtidas de pacientes soropositivos ou de se realizar um teste HIV da amostra.

Embora o risco de um HIV adquirido ocupacionalmente se dê primariamente por meio da exposição ao sangue contaminado, deve-se usar luvas quando outros líquidos corporais como fezes, saliva, urina, lágrimas, suor, vômito e leite do seio humano estiverem sendo manipulados. Esse procedimento também reduzirá

o potencial de exposição a outros microorganismos que possam causar outros tipos de infecções.

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

Já o SIV tem sido isolado no sangue, no líquido cerebroespinal e em uma variedade de tecidos de primatas não-humanos infectados. Existem dados limitados sobre a concentração do vírus no sêmen, na saliva, no líquido cerebrospinal, na urina, no leite materno humano e no líquido amniótico. No laboratório, deve-se supor que o vírus esteja presente em todas as culturas com SIV, em animais experimentalmente infectados ou inoculados com SIV, em todos os materiais derivados de culturas de HIV ou de SIV e em/sobre todos os equipamentos e dispositivos que tenham um contato direto com qualquer um desses materiais.⁷⁷

No laboratório, a pele (especialmente quando arranhões, cortes, abrasões, dermatites ou outras lesões estiverem presentes) e as membranas mucosas dos olhos, do nariz e da boca deverão ser consideradas como vias de entrada potenciais desses retrovírus. Não se sabe se a infecção pode ocorrer via trato respiratório. A necessidade do uso de objetos cortantes no laboratório deverá ser avaliada. Agulhas, instrumentos afiados, vidros quebrados e outros objetos afiados deverão ser cuidadosamente manipulados e adequadamente descartados. Deve-se tomar cuidado para prevenir a formação de borrifos ou o vazamento do líquido de cultura de células contaminadas e de outros materiais contendo o vírus ou potencialmente contaminados.⁷⁸

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: Além das seguintes precauções recomendadas, as pessoas que trabalham com o HIV, o SIV ou outros patógenos presentes no sangue deverão consultar a *OSHA Bloodborne Pathogen Standard*.⁷⁹ As questões relacionadas

à interpretação desse padrão deverão ser dirigidas aos escritórios federais, regionais ou estaduais da OSHA.

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

COMENTÁRIOS ADICIONAIS:

1. Não existem evidências de que as roupas usadas em laboratório representam um risco para a transmissão do retrovírus. Porém, as roupas contaminadas pelo HIV ou SIV deverão ser descontaminadas antes de encaminhadas para a lavanderia ou descartadas. A equipe do laboratório deverá retirar a roupa usada nesse local antes de se dirigirem às áreas não-pertencentes ao laboratório.
2. As superfícies de trabalho deverão ser descontaminadas com um germicida químico apropriado depois de o procedimento ser concluído, quando as superfícies estiverem excessivamente contaminadas e no final de cada dia de trabalho. Muitos desinfetantes químicos vendidos comercialmente ^{80, 81, 82, 83, 84} poderão ser utilizados para

a descontaminação das superfícies do laboratório e de alguns instrumentos, para limpeza local de roupas contaminadas usadas em laboratório e para vazamento de materiais infecciosos. A descontaminação imediata de vazamentos ocorridos deverá ser uma prática padrão.

3. O soro humano de qualquer fonte usado como um controle ou reagente em um teste deverá ser manipulado em um NB-2.
4. Recomenda-se que todas as instituições estabeleçam normas por escrito em relação ao gerenciamento das exposições em laboratório do HIV e do SIV juntamente com as leis federais, estaduais e locais aplicáveis. Tais normas deverão considerar como confidenciais questões como o consentimento para realização de teste, a administração de terapia de drogas profiláticas adequadas,⁸⁵ o aconselhamento e outros itens relacionados. Se um trabalhador do laboratório expuser a membrana mucosa ou parenteral ao sangue, ao líquido corporal ou ao material de cultura viral, o material utilizado deverá ser identificado e, se possível, testado para verificação da presença do vírus. Se o material fonte for HIV positivo para o antígeno, vírus ou anticorpo ou não possuir quantidade suficiente para realização do teste, o trabalhador deverá ser aconselhado sobre o risco de infecção e avaliado clinicamente e sorologicamente para evidência de uma infecção por HIV. A profilaxia pós-exposição deverá ser oferecida de acordo com as últimas normas. O trabalhador deve ser instruído a relatar e procurar atendimento médico caso haja a ocorrência de um quadro agudo de febre, com 12 semanas após a exposição.⁸⁶ Uma vez que a doença possui características singulares, se o indivíduo apresentar sintomas como febre, erupções ou linfadenopatias, esses poderão ser indicativos de uma infecção recente ao HIV. Se no início (no momento da exposição) o teste for negativo, o trabalhador deverá refazer o teste 6 semanas depois da exposição e, a partir daí, periodicamente (isto é, na 12.^a semana e no 6.^o, 9.^o e 12.^o mês após a exposição). Durante o acompanhamento, os trabalhadores ex-

postos deverão ser aconselhados a se prevenir contra a transmissão do HIV.^{87, 88, 89, 90, 91}

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

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

Os laboratórios que trabalham com vetores do retrovírus, especialmente os que possuem genomas moleculares infecciosos de longa duração (HIV-1), deverão ser manipulados em NB-2 sob a prática de NB-2/3. Isso inclui os clones infecciosos derivados de vírus não-humanos, mas que possuem uma esfera de hospedeiro xemotrópio (especialmente para células humanas).

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desse agente deverá ser obtida junto ao CDC.

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

As infecções por encefalopatias espongiformes transmissíveis adquiridas em laboratório (doenças priônicas) ainda não foram documentadas. Porém, existe uma evidência de que a doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD) tenha sido iatrogenicamente transmitida aos pacientes em transplantes de córnea, transplantes da dura-máter, na extração do hormônio do crescimento das glândulas pituitárias humanas e pela exposição aos eletrodos eletroencefalográficos contaminados.⁹⁷ A infecção é sempre fatal. Não se

conhece um reservatório não-humano para a CJD ou para a *kuru*. Os primatas não-humanos e outros animais de laboratório foram contaminados por intermédio da inoculação, mas não existem evidências de uma transmissão secundária. A *scrapie* de ovelhas e cabras, a encefalopatia espongiforme bovina e a encefalopatia de visões são encefalopatias espongiformes transmissíveis de animais que são semelhantes às doenças humanas transmissíveis. Entretanto, não existem evidências de que as doenças animais possam ser transmitidas ao homem. (Veja também a seção VII-D, Príons).

RISCOS EM LABORATÓRIO: Altas titulações de um agente transmissível foram encontradas no cérebro e na medula espinhal de pessoas com *kuru*. Em pessoas com a doença de *Creutzfeldt-Jakob* e as variantes da Síndrome de *Gerstmann-Sträussler-Schenker*, encontrou-se um agente transmissível semelhante no cérebro, no baço, no fígado, nos nódulos linfáticos, nos pulmões, na medula espinhal, nos rins, na córnea, nas lentes, no líquido espinhal e no sangue. A inoculação parenteral acidental, especialmente de tecidos nervosos, incluindo amostras de tecidos não-fixados, é extremamente perigosa. Embora os tecidos não-nervosos sejam bem menos infecciosos, todos os tecidos de homens e de animais infectados com esses agentes deverão ser considerados potencialmente perigosos. O risco de uma infecção por aerossóis, perdigotos e exposições da pele intacta, das membranas mucosas e gástricas não é conhecido. Não há evidência de contaminações por transmissão por aerossóis ou contato. Esses agentes são caracterizados pela extrema resistência aos procedimentos de inativação convencionais, incluindo a radiação, a ebulição, o calor seco e as substâncias químicas (formalina, betapropiolactona, álcool). Porém, eles foram inativados pelo uso de NaOH a 1N, de hipoclorito de sódio (concentração de cloro livre $\geq 2\%$) e da autoclave a vapor durante quatro horas e meia em uma temperatura de 132°C.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para todas as atividades utilizando tecidos e líquidos sabidamente ou potencialmente infecciosos de homens naturalmente infectados e de animais experimentalmente infectados. Deve-se tomar um extremo cuidado para evitar a auto-inoculação acidental ou outras inoculações parenterais traumáticas de tecidos e líquidos infecciosos.⁹⁸ Embora

não haja evidências que sugiram a transmissão via aerossóis na doença natural, é mais prudente evitar a formação de aerossóis ou perdigotos durante a manipulação de tecidos e líquidos e durante a necropsia de animais experimentais. Recomenda-se muito o uso de luvas para as atividades que proporcionem o contato da pele com tecidos e líquidos infectados. Os tecidos fixados em formaldeído e imersos em parafina, especialmente os tecidos do cérebro, permanecem infecciosos. Recomenda-se, então, que os tecidos de casos suspeitos de encefalopatia fixados em formalina sejam imersos em ácido fórmico a 96% durante trinta minutos antes do processamento histopatológico.⁹⁹ As vacinas não estão disponíveis para uso em humanos.¹⁰⁰

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desses agentes deverá ser obtida junto ao CDC. A licença para importação ou transporte doméstico do vírus da encefalopatia espongiforme bovina poderá ser obtido no USDA/APHIS/VS.

Agente: *Vírus da Estomatite Vesicular (VSV)*

Um número de infecções por cepas nativas do VSV adquiridas em laboratório foi relatado.¹⁰¹ As atividades laboratoriais com essas cepas apresentam dois diferentes níveis de risco ao pessoal do laboratório e estão relacionadas, pelo menos em parte, à história das passagens das cepas utilizadas. As atividades que usam criações, seus tecidos infectados e substâncias virulentas isoladas dessas fontes são um perigo demonstrado aos funcionários do laboratório e aos tratadores de animais.^{102, 103} Os índices de soroconversão e doença clínica em pessoas que trabalham com esses materiais são altos.¹⁰⁴ Riscos semelhantes podem estar associados às cepas exóticas como a Piry.¹⁰⁵

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

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas e as instalações do nível de biossegurança 3 são indicadas para atividades que envolvam o uso ou a manipulação de tecidos infectados e substâncias virulentas isoladas de animais de criação infectados naturalmente ou experimentalmente. As luvas e a proteção respiratória são recomendadas para a necropsia e o manuseio de animais infectados. As práticas e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicadas para atividades que utilizam cepas adaptadas em laboratórios de baixa virulência. As vacinas não estão disponíveis para uso em humanos.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para exportação desse agente deverá ser obtida no Department of Commerce. Já a licença para importação ou transporte doméstico para o agente deverá ser obtido no USDA/APHIS/VS.

SEÇÃO VII-G: ARBOVÍRUS E VÍRUS ZONÓTICOS RELACIONADOS

Arbovírus Designados para o Nível de Biossegurança 2

O American Committee on Arthropod-Borne Viruses (ACAV) registou 537 casos de arbovírus até dezembro de 1997. Em 1979, o subcomitê da ACAV sobre a segurança quanto ao arbovírus em laboratório (Subcommittee on Arbovirus Laboratory Safety – SALS) classificou e registrou 424 vírus no Catalogue of Arboviruses and Certain Other Viruses of Vertebrates (Catálogo de Arbovírus e Alguns Outros Vírus de Vertebrados) em um dos quatro grupos de práticas, equipamentos de segurança e instalações recomendadas. Essas recomendações estão descritas nesta publicação

como níveis de biossegurança 1-4.² O SALS tem atualizado periodicamente a publicação de 1980, fornecendo uma lista suplementar para os arbovírus registrados desde 1979.

As classificações do SALS se baseiam nas avaliações do risco derivadas de informações fornecidas por uma pesquisa mundial de 585 laboratórios que trabalham com o arbovírus. O SALS recomenda que o trabalho com grande parte desses agentes seja conduzido em um nível semelhante ao do nível de biossegurança 2 (lista 5). O SALS também reconhece cinco cepas de vacinas comumente usadas, nas quais a atenuação foi firmemente estabelecida. Esses vírus podem ser manipulados com segurança em um nível de biossegurança 2, uma vez que as pessoas que trabalham com essas cepas de vacinas são imunizadas (tabela 5). O SALS classificou todos os vírus registrados com os quais a experiência laboratorial é insuficiente como um nível de biossegurança 3 (lista 6) e reavalia a classificação assim que recebe novas informações.

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

Tabela 4. Agentes causadores de infecções adquiridas em laboratório

Vírus	Casos
Estomatite Vesicular**	46
Febre do Carrapato do Colorado	16
Dengue*	11
Pichinde	17
Encefalomielite Equina Ocidental**	7 (2 mortes)
Rio Bravo	7
Kunjin	6
Catu	5
Caraparu	5
Rio Ross	5
Bunyamwera	4
Encefalomielite Equina do Leste* **	4
Zika	4

continua

SEÇÃO VII

RELAÇÃO DOS AGENTES

continuação

Vírus	Casos
Apeu	2
Marituba	2
Tacaribe	2
Murutucu	1
O'nyong-nyong	1
Modoc	1
Oriboca	1
Ossa	1
Keystone	1
Bebaru	1
Bluetongue * **	1

* Licença de exportação obtida no Department of Commerce.

** A licença para importação ou transporte doméstico para este agente pode ser obtida junto ao USDA/APHIS/VS.

Os resultados de uma pesquisa realizada pelo SALS indicam, claramente, que a fonte suspeita das infecções adquiridas em laboratório relacionadas não foi a exposição aos aerossóis infecciosos. A recomendação de que o trabalho com os 342 vírus relacionados na lista 5 seja conduzido em um nível de biossegurança 2 baseou-se na existência de uma experiência laboratorial durante toda a história, para a avaliação dos riscos do trabalho com esse grupo de vírus de risco. Isso indica que (a) nenhuma infecção aberta e associada ao laboratório foi relatada; (b) as infecções foram provocadas por exposições diferentes das exposições aos aerossóis; ou (c) se a doença provocada pela exposição aos aerossóis foi documentada, ela é rara.

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

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de segurança e as instalações do nível de biossegurança 2 são indicados para as atividades com materiais clínicos poten-

cialmente infecciosos, ovos embrionados e roedores. A infecção de galinhas recém-nascidas pelos vírus da encefalomielite eqüina ocidental e do leste é especialmente perigosa e deverá ser manipulada por pessoas imunizadas em condições de um nível de biossegurança 3. As vacinas investigacionais (IND) contra a encefalomielite eqüina do leste e a ocidental estão à disposição por meio do Centro de Prevenção e Controle da Doença (telefone 404-639-3356) e por meio do Instituto de Pesquisa Médica de Doenças Infecciosas do Exército (USDAMRIID) em Fort Detrick, Maryland (telefone 301-619-2833). O uso dessas vacinas é recomendado para as pessoas que trabalham diretamente e regularmente com esses dois agentes no laboratório.

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

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação desses agentes deverá ser conseguida no CDC. O registro do laboratório junto ao CDC é necessário antes do envio ou recebimento dos agentes.

Lista 5. Arbovírus e arenavírus designados para o nível de biossegurança 2

Abras	Benevides	Corriparta
Abu Hammad	Benfica	Cotia
Acado	Bertioga	Cowbone Ridge
Acara	Bimiti	Csiro Village
Aguacate	Birao	Cuiabá
Alfuy	Bluetongue*	D'Aguilar
Almpiwar	Boracéia	Dengue-1
Amapari	Botambi	Dengue-2
Ananindeua	Boteke	Dengue-3
Anhangá	Bouiboui	Dengue-4
Anhembi	Bujaru	Dera Ghazi Khan do Leste **
Anófilo A	Bunyamwera	Doença Hem. Ep.
Anófilo B	Bunyp Creek	Edge Hill
Apeu	Burg El Arab	Encef. Eqüina
Apoi	Bushbush	Encef. Eqüina Ocid.** °
Aride	Bussuquara	Erve
Arkonam	Buttonwillow	Eubenangee
Aroa	Bwamba	Eyach
Aruac	Cacao	Feb. do Carrapato do Colorado
Arumowot	Cache Valley	Febre do Mosquito-Pólvora (Naples)
Aura	Caimito	Febre do Mosquito-Pólvora (Sicilian)
Avalon	California Enc.	Febre Hem. de Símios
Babahoyo	Calovo	Flanders
Bagaza	Candiru	Floresta Barmah
Bahig	Cape Wrath	Forte Morgan
Bakau	Capim	Frijoles
Baku	Caraparu	Gamboa
Bandia	Catu	Gan Gan
Bangoran	Chaco	Gomoka
Bangui	Chagres	Gossas
Banzi	Chandipuras	Grand Arbaud
Barur	Changuinola	Great Island
Batai	Chardleville	Guajara
Batama	Chenuda	Guama
Bauline	Chilibre	Guaratuba
Bebaru	Chobar Gorge	Guaroa
Belmont	Clo Mor	Gumbo Limbo

continua

continuação

Hart Park	Keystone	Melao
Highlands J	Kismayo	Mermet
Huacho	Klamath	Minatitlan
Hughes	Kokobera	Minnal
Icoaraci	Kolongo	Mirim
Ieri	Koongol	Mitchell River
Ilesha	Kowanyama	Modoc
Ilha Carey	Kunjin	Mono Lake
Ilheus	Kununurra	Mont. Myotis leuk
Ingwavuma	Kwatta	Morcego Dakar
Inkoo	La Crosse	Morcego Entebe
Ippy	La Joya	Morcego Lagos
Irituia	Landjia	Morcego Mount Elgon
Isfahan	Langat	Morcego Phnom-Penh
Itaporanga	Lanjan	Moriche
Itaqui	Las Maloyas	Mosqueiro
Jamestown Canyon	Latino	Mossuril
Japanaut	Le Bombo	Murutucu
Johnson Atoll	Le Dantec	Mykines
Joinjakaka	Lednice	Navarro
Juan Diaz	Lipovnik	Ncgaigan
Jugra	Lokern	Nepuyo
Jurona	Lone Star	Nique
Jutiapa	Lukuni	Nkolbisson
Kadam	M'poko	Nola
Kaeng Khoi	Madrid	Ntaya
Kaikalur	Maguari	Nugget
Kaisodi	Main Drain	Nyamanini
Kamese	Malakal	Nyando
Kammavanpettai	Manawa	O'nyong-nyong
Kannamangalam	Manitoba	Okhotskiy
Kao Shuan	Manzanilla	Okola
Karimabad	Mapputta	Olifantsvlei
Karshi	Maprik	Oriboca
Kasba	Marco	Ossa
Kemerovo	Marituba	Pacora
Kern Canyn	Marrakai	Pacui
Ketapang	Mataria	Palyam
Keterah	Matruh	Paraná
Keuraliba	Matucare	Pata

continua

SEÇÃO VII

RELAÇÃO DOS AGENTES

continuação

Pathum Thani	Shuni	Tsuruse
Patois	Silverwater	Turlock
Pichinde	Simbu	Tyndholmur
Pixuna	Sindbis	Tyuleny
Pongola	Sixgun City	Uganda S.
Ponteves	Snowshoew Hare	Uma
Precarious Point	Sokuluk	Umatilla
Pretoria	Soldado	Umbre
Prospect Hill	Sororoca	Upolu
Puchong	Stratford	Urucuri
Punta Salinas	Sunday Canyon	Usutu
Punta Toro	Tacaiuma	Uukuniemi
Qalyub	Tacaribe	Vellore
Quaranfil	Taggert	Venkatapuram
Rede Mahogany	Tahyna	Vinces
Restan	Tamiami	Virgin River
Rio Bravo	Tanga	VS-Indiana
Rio Grande	Tanjong Rabok	VS-New Jersey
Ross River	Tataguine	Wad Medani
Royal Farm	Tehran	Wallal
Sabo	Tembre	Wanowrie
Saboya	Tembusu	Warrego
Saint Floris	Tensaw	Whataroa
Sakhalin	Tete	Witwatersand
Salehabad	Tettngang	Wongal
San Angelo	Thimiri	Wongorr
Sandjimba	Thottapalayan	Wyeomyia
Sango	Tibrogargan	Yaquina Head
Sathuperi	Timbo	Yata
Sawgrass	Timboteua	Yogue
Sebokele	Toscana	Zaliv Terpeniya
Seletar	Toure	Zegla
Serra do Navio	Tribec	Zika
Shark River	Triniti	Zirqa
Sharmonda	Trivittatus	

* A licença para a exportação desse agente deve ser obtida no Department of Commerce.

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

° A licença para importação ou transporte doméstico para esse agente poderá ser obtida junto ao USDA/APHIS/VS.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para importação dos agentes deve ser obtida no CDC. O registro do laboratório junto ao CDC é necessário para o envio ou recebimento dos agentes.

Tabela 5. Cepas vacinais de vírus do NB-3/4 que podem ser manipuladas em um nível de biossegurança 2

Vírus	Cepa da Vacina
Chikungunya*	131/25
Junin*	cândida n.º 1
Febre do Vale Rift*	20 MP-12
Encefalomielite Eqüina Venezuelana*	TC-83
Febre Amarela*	17-D

* A licença para exportação deve ser obtida no *Department of Commerce*.

Arbovírus e Arenavírus Designados para o Nível de Biossegurança 3

O SALS recomenda que o trabalho com os 184 arbovírus incluídos nas listas por ordem alfabética das listas 6 e 7 seja conduzido pelas práticas, pelos equipamentos de segurança e pelas instalações semelhantes as do nível de biossegurança 3. Essas recomendações baseiam-se nos seguintes critérios: para a lista 6, o SALS considerou inadequada a experiência laboratorial para a avaliação de risco, sem levar em consideração as informações disponíveis sobre a gravidade da doença. Para os agentes relacionados na lista 7, o SALS registrou as infecções adquiridas em laboratórios abertos que eram transmitidas por aerossóis e na ausência de vacinas. O SALS considerou que a doença natural em homens é potencialmente grave, ameaça à vida ou causa seqüelas. Os arbovírus também foram classificados no NB-3 por causarem doenças em animais domésticos em países fora dos Estados Unidos.

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

Tabela 6. Infecções associadas ao laboratório ou ao laboratório animal (1)

Vírus	Casos (SALS)
Encefalomielite Eqüina Venezuelana*°	150 (1 morte)
Febre do Vale Rift*°	47 (1 morte)
Chikungunya *	39
Febre Amarela*	38 (8 mortes)
Encefalite Japonesa*	22
Encefalite Ovina°	22
Nilo Oeste	18
Coriomeningite Linfocítica*	15
Orungo	13
Piry°	13
Wesselsbron°	13
Mucambo	10
Bhanja	6
Hantaan*	6
Mayaro	5
Spondweni	4
Encefalite do Vale Murray	3
Semliki Forest	3 (1 morte)
Powassan	2
Dugbe	2
Issyk-kul	1
Koutango	1

* A licença para a exportação desses agentes deve ser obtida no Department of Commerce.

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

Grandes quantidades e altas concentrações do vírus da floresta de Semliki são comumente usadas ou manipuladas por biólogos moleculares sob condições de uma contenção moderada ou baixa. Embora os anticorpos tenham sido demonstrados em indivíduos que trabalhavam com esse vírus, a primeira infecção aberta (e fatal) adquirida em laboratório foi relatada em 1979. Uma vez que o resultado dessa infecção pode ter sido influenciado por uma via de exposição incomum ou por uma alta dose, um hospedeiro comprometido ou uma cepa de vírus mutante, este caso e seu resultado não são exemplos típicos. Mais recentemente, o SFV foi

associado ao surto de doenças febris entre soldados europeus cuja base militar era em Bangui.⁹ A via de exposição não foi determinada na infecção laboratorial fatal, uma vez que os mosquitos foram os prováveis vetores dessas infecções naturais. O SALS continua a classificar esse vírus (SFV) como um vírus do NB-3, com advertência de que a maioria das atividades com o vírus pode ser conduzida com segurança em um nível de biossegurança 2.

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

RISCOS EM LABORATÓRIO: Os agentes relacionados nesse grupo podem ser encontrados no sangue, no líquido cerebrospinal, na urina e nos exsudatos, dependendo do agente específico e do estágio da doença. Os riscos laboratoriais primários são a exposição aos aerossóis de soluções infecciosas e roupas de cama de animais, inoculação parenteral acidental e o contato com a pele rachada. Alguns desses agentes (por exemplo, o VEE) podem ser relativamente estáveis no sangue seco ou em exsudatos. Para os vírus de um NB-3/4, as cepas atenuadas existem e podem ser manipuladas em um NB-2, conforme relacionado na tabela 5.

PRECAUÇÕES RECOMENDADAS: As práticas, os equipamentos de segurança e as instalações do nível de biossegurança 3 são indicados para as atividades que usam materiais clínicos potencialmente infecciosos e culturas de tecido, animais e artrópodes infectados.

Um vírus vivo atenuado licenciado se encontra à disposição para a imunização contra a febre amarela. Recomenda-se o uso dessa vacina para as pessoas que trabalham com o agente ou com animais infectados e a pessoas autorizadas a entrar na sala onde os agentes ou os animais infectados estejam presentes. Realmente, para essa vacina, a infectividade dos aerossóis e o alto índice de fatalidade do vírus da febre amarela fazem com que ele seja classificado como um vírus do NB-4. Para a encefalomielite equina venezuelana, a vacina investigacional TC-83 proporciona uma excelente proteção contra muitas cepas epizoóticas. Essa proteção pode se estender a outras cepas de VEE do complexo, incluindo os vírus Everglades, Mucambo, Tonate e Cabassou. A vacina TC-

38 deverá ser usada como parte de um programa de segurança e pode ser particularmente importante para a proteção das pessoas que trabalham com animais infectados e vírus concentrados. A administração da vacina e o uso desse complemento inativado (C-84) deverão ser determinados por peritos com experiência no uso dessas vacinas dentro das restrições compatíveis com as drogas de pesquisa. De forma semelhante, a vacina IND inativada está à disposição para o vírus da febre do Vale Rift. Uma vacina de vírus Junin atenuado (Cândida n.º 1) também está disponível. Essas vacinas de IND podem ser obtidas no U.S Army Medical Research and Material Command, após consulta ao USAMRIID (telefone 301-619-2833).

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

CONTENÇÃO ACENTUADA DO NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA 3: Podem ocorrer situações em que são necessárias intensificações das práticas e dos equipamentos do nível de biossegurança 3. Um exemplo dessa situação seria um laboratório de NB-3 realizar testes de diagnóstico em amostras de pacientes com febre hemorrágica quando se suspeita de uma febre amarela ou dengue. Quando a origem das amostras é a África, o Oriente Médio ou a América do Sul, o potencial está presente em amostras que contenham agentes etiológicos como o arenavírus, filovírus ou outros vírus que são geralmente manipulados em laboratórios de NB-4. As intensificações aos laboratórios de NB-3 podem incluir uma ou mais destas três categorias a seguir: a) aumentada proteção respiratória individual contra os aerossóis; b) filtração pelo HEPA do ar liberado do laboratório; c) descontaminação de efluentes líquidos

de laboratórios. Um treinamento apropriado para as pessoas que tratam dos animais deverá ser considerado.

BIOCONTENÇÃO DE AGENTES INFECCIOSOS DESCONHECIDOS:
 As decisões em relação à classificação do perigo biológico para materiais que contenham um vírus infeccioso deverão se basear em todas as informações disponíveis em relação ao agente. Os vírus isolados de pacientes humanos infectados deverão ser manipulados em um nível de biossegurança 3 com precauções intensificadas, como detalhado no resumo das características do agente Hantavírus ou de preferência em um NB-4, a menos que se tenha certeza de que o agente não é infeccioso por meio de aerossóis. Todas as amostras desconhecidas deverão ser manipuladas em um NB-3, a menos que haja evidências de uma transmissão por aerossóis (que iria requerer uma contenção do NB-4). O SALS continuará a avaliar a infectividade e os dados sobre a virulência para todos os vírus registrados no *Catalogue of Arboviruses and Certain Other Viruses of Vertebrates* e para vírus recentemente desenvolvidos antes do registro.

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para a importação dos agentes deverá ser conseguida junto ao CDC.

Lista 6. Arbovírus e alguns outros vírus designados para o nível de biossegurança 3 (com base em experiência insuficiente)

Adelaide River	Bobaya	Estero Real
Água Preta	Bobia	Fomede
Alenquer	Bozo	Forecariah
Almeirim	Buenaventura	Fort Sherman
Altamira	Cabassou ^{1,2}	Gabek Forest
Andasibe	Cacipacore	Gadgets Gully
Antequera	Calchaqui	Garba
Araguari	Cananéia	Gordil
Aransas Bay	Canindé	Gray Lodge
Arbia	Chim	Gurupi
Arboledas	Coastal Plains	Iaco
Babanki	Connecticut	Ibaraki
Batken	Corfou	Ife
Belém	Dabakala	Iguape
Berrimah	Douglas	Inhangapi
Bimbo	Enseada	Inini

continua

SEÇÃO VII

RELAÇÃO DOS AGENTES

continuação

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

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

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

Lista 7. Arbovírus e alguns outros vírus designados para o nível de biossegurança 3

Aino	Cocal	Encefalite Equina
Akabane ^c	Dhori	Venezuelana ^{c, d, h}
Banna ^{a, f}	Dobrava-Belgrade	Estomatite Vesicular
Bhanja	Doença Ovina de Nairobi ^a	(Alagoas) ^h
Central Eur. TBE ^{b, d}	Dugbe	Everglades ^{c, d}
(Kumlinge. Hypr,	Enc. de Vale Murray	Febre Amarela ^{c, d}
Hanzalova, Absettarov)	Encef. Japonesa ^h	Febre do Rift Valley ^{a, c, d, h}
Chikungunya ^{c, d}		Flexal

continua

continuação

Germiston ^c	Mopeia ^e	Sagiyama
Getah	Middelburg	Sal Vieja
Haantan ^h	Mobala	San Perlita
Junin ^{c, d, h}	Mucambo ^{c, d}	Seoul
Kairi	Ndumu	Sin Nombre
Kimberley	Negishi	Spondweni
Koutango	Oropouche ^c	Thogoto
Kumlinge (Europa Central, TBE)	Orungo	Turuna
Louping III ^{a, c, h}	Peaton	Wesselsbron ^{a, c}
Mayaro	Piry	West Nile
Menin. Tur. de Israel.	Puumala	Zinga ^g
	Rocio	

- a. A importação, a posse e o uso desse agente ficam restritos ao regulamento ou à norma administrativa do USDA. Veja o apêndice D.
- b. O vírus da encefalite do carrapato da Europa Central (CETBE) não é um nome registrado no *The International Catalogue of Arboviruses – 1985*. Até a questão do registro do nome ter sido resolvida taxonomicamente, a CETBE se refere ao seguinte grupo de flavivírus associado ao carrapato muito próximo, mas não idêntico, da Tchecoslováquia, Finlândia e Rússia, como: Absettarov, Hanzalova, Hypr e Kumlinge. Esses quatro vírus são antigenicamente homogêneos e são diferenciados do vírus da encefalite primavera-verão da Rússia (RSSE).^{10, 11, 12} Embora haja uma vacina que confira imunidade ao grupo da CETBE de vírus geneticamente homogêneos (> 98%), a eficácia dessa vacina contra as infecções causadas pelo vírus da CETBE ainda não foi estabelecida. Dessa forma, o SALS reclassificou o grupo de vírus CETBE como do nível de biossegurança 3, quando as pessoas estão imunizadas com a vacina contra a CETBE. O RSSE continua classificado como um vírus pertencente ao nível de biossegurança 4.
- c. O SALS também recomenda que o trabalho com esses agentes seja conduzido somente em instalações do nível de biossegurança 3 que proporcionem uma filtração HEPA de todo o ar liberado antes de ser jogado para dentro do laboratório.
- d. A vacina está disponível e é recomendada para todas as pessoas que trabalhem com esse agente.
- e. Esse vírus atualmente está sendo registrado no *Catalogue of Arboviruses*.
- f. Os cientistas da República da China verbalmente relataram o vírus Banna como sendo associado a casos graves de encefalites. As traduções dos originais do chinês para o inglês não se encontravam à disposição para esta revisão.
- g. O vírus Zinga é agora reconhecido como idêntico ao vírus da febre do Rift Vale.
- h. A licença para exportação desse vírus deve ser obtida junto ao Department of Commerce.
- i. Uma licença de importação ou transporte doméstico desse agente pode ser obtida junto ao USDA/APHIS/VS.

Arbovírus, Arenavírus e Filovírus Designados para o Nível de Biossegurança 4

O SALS recomenda que o trabalho com os 11 arbovírus, arenavírus ou filovírus¹³ incluídos na lista 8 seja conduzido pela prática, pelos equipamentos de segurança e pelas instalações semelhantes às do nível de biossegurança 4. Essas recomendações são basea-

das em casos documentados de infecções freqüentemente fatais ocorridas naturalmente em homens e nas infecções transmitidas por aerossóis em laboratórios. O SALS também recomenda que alguns agentes com uma relação próxima com os agentes do nível de biossegurança 4 (por exemplo, o vírus da encefalite primavera-verão da Rússia) também sejam provisoriamente manipulados nesse nível até que experiências laboratoriais suficientes indiquem a posição do mesmo nesse nível ou a reclassificação deste para um nível menor. Como observado a seguir, com a imunização, o SALS recomenda uma diminuição do nível de classificação do vírus Junin e do complexo de vírus da encefalite do carrapato da Europa Central (Absettarov, Hanzalova, Hypr e Kumlinge) ao nível de biossegurança 3. As infecções associadas a laboratório ou ao laboratório animal provocadas pelos seguintes agentes foram relatadas:^{14, 15, 16, 17, 18, 19, 20}

Tabela 7. Infecções associadas ao laboratório ou ao laboratório animal (2)

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

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

Os roedores são hospedeiros naturais do vírus da Lassa (*Mastomys* spp.), do Junin, do vírus Machupo (*Calomys* spp.), Guaranito (*Zygodontomys* spp.) e talvez de outros membros desse grupo. Os primatas não-humanos estavam associados aos surtos iniciais da doença da floresta de Kyasanur (*Presbytis* spp.) e o vírus da doença de Marburg (*Cercopithecus* spp.). Mais recentemente, os filovírus relacionados com o ebo-

la foram associados com o *Macaca spp.* e chimpanzés (*Pan troglodytes*). Os artrópodes são os vetores naturais do complexo de agentes da encefalite do carrapato. O trabalho com ou a exposição aos roedores, aos primatas não-humanos ou aos vetores naturalmente ou experimentalmente infectados com esses agentes representa uma fonte potencial de infecção humana.

RISCOS EM LABORATÓRIO: Os agentes infecciosos podem ser encontrados no sangue, na urina e nas secreções da garganta, no sêmen e nos tecidos de hospedeiros humanos ou animais, artrópodes, roedores e primatas não-humanos. A exposição respiratória aos aerossóis infecciosos, a exposição da membrana mucosa aos perdigotos infecciosos e a inoculação parenteral acidental são os perigos primários para o laboratório e para as pessoas que cuidam de animais.^{21, 22}

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

TRANSFERÊNCIA DO AGENTE: A licença para a importação dos agentes deverá ser obtida no CDC. Já a licença para exportação deverá ser conseguida no *Department of Commerce*. O registro do laboratório é necessário junto ao CDC antes do envio ou recebimento dos agentes.

Lista 8. Arbovírus, arenavírus e filovírus designados para o nível de biossegurança 4

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS E LISTA DE NOTAS*

Referências Bibliográficas: Seção I

1. WEDEN, A. G. History of microbiological safety. In: BIOLOGICAL SAFETY CONFERENCE, 18., 1975, Lexington, Kentucky. *Proceedings...* Lexington, [s.n.], 1975.
2. MEYER, K. F.; EDDIE, B. Laboratory infections due to Brucella. *J Infect Disn*, n. 68, p. 24-32, 1941.
3. SULKIN, S. E.; PIKE, R. M. Virali infections contracted in the laboratory. *New Engl J Med*, v. 241, n. 5, p. 205-213, 1949.
4. SULKIN, S. E.; PIKE, R. M. Survey of laboratory-acquired infections. *Am J Public Health*, v. 41, n. 7, p. 769-781, 1951.
5. PIKE, R. M.; SULKIN, S. E.; SCHULZE, M. L. Continuing importance of laboratory-acquired infections. *Am J Public Health*, n. 55, p. 190-199, 1965.
6. PIKE, R. M. Laboratory associated infections: summary and analysis of 3.921 cases. *Hlth Lab Sci*, n. 13, p. 105-114, 1996.
7. HANSON, R. P. et al. Arbovirus infections of laboratory workers. *Science*, n. 158, p. 1.283-1.286, 1967.
8. SKINHOL, J. P. Occupational risks in Danish Clinical Chemical Laboratories: infections. *Scand J Clin Lab Invest*, n. 33, p. 27-29, 1974.

* N.E. As referências e/ou notas com dados ausentes, como título e/ou autoria, foram mantidas do original em inglês.

9. HARRINGTON, J. M.; SHANNON, H. S. Incidence of tuberculosis workers. *Br Med*, n. 1, p. 759-762, 1976.
10. SKINHOL, J. P. n. 8, 1974.
11. RICHARDSON, J. H. Provisional summary of 109 laboratory-associated infections at the Centers for Disease Control, 1947-1973. In: ANNUAL BIOSAFETY CONFERENCE, 16., 1972, Ames, Iowa. *Proceedings...* Ames, Iowa, [s.n.], 1972.
12. SULLIVAN, J. F.; SONGER, J. R.; ESTREM, I. E. Laboratory-acquired infections at the National Animal Disease Center, 1960-1976. *Health Lab Sci*, v. 15, n. 1, p. 58-64, 1978.
13. MARTINI, G. A.; SCHMIDT, H. A. Spermatogenic transmission of malburg virus. *Klin Wschr*, n. 46, p. 398-400, 1968.
14. COMMITTEE OF INQUIRY INTO THE SMALLPOX OUTBREAK. *Report*. London, Her Majesty's Stationery Office, 1973. il.
15. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Smallpox surveillance. *Weekly Epidemiological Record*, v. 53, n. 35, p. 265-266, 1978.
16. OLIPHANT, J. M.; PARKER, R. R. Q-fever: three cases of laboratory infection. *Public Health Rep*, v. 63, n. 42, p. 1.364-1.370, 1948.
17. OLIPHANT, J. W., PARKER, R. R. [Q-fever: three cases of laboratory infection. *Public Health Rep*], v. 63, n. 16, 1948.
18. BEEMAN, E. A. Q-fever: an epidemiological note. *Pub Hlth Rep*, v. 65, n. 2, p. 88-92, 1950.
19. HOLMES, G. P. et al. Virus herpesvirus simian, infection in humans: epidemiologic investigation of a cluster. *Ann of Int Med*, n. 112, p. 833-839, 1990.
20. PIKE, R. M. Laboratory associated infections, incidence, fatalities, causes and prevention. *Ann Ver Microbiol*, n. 33, p. 41-66, 1979.

21. ESTADOS UNIDOS. Centers For Disease Control, Office of Biosafety. *Classification of etiologic agents on the basis of hazard*. 4. ed. [S.l.]: US Department of Health, Education and Welfare; Public Health Service, 1974.
22. NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. (Estados Unidos). Guidelines for research involving recombinant DNA molecules. Washington: GPO, *Federal Register*, v. 59, p. FR34.496, 1994.
23. NATIONAL CANCER INSTITUTE (Estados Unidos). Office of Research Safety; Special Committee of Safety and Health Experts. *Laboratory safety*: monograph. Bethesda, MD, National Institutes of Health, 1978. A supplement to the NIH Guidelines for recombinant DNA research.
24. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. *Office of Biosafety*, v. 20, 1974.
25. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Update universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. *MMWR*, n. 37, p. 377-382; 387-388, 1988.
26. ESTADOS UNIDOS. Department of Labor. Occupational exposure to bloodborne pathogens: final rule. *Federal Register*, v. 56, p. 64.175-64.182, [19 - -].
27. ESTADOS UNIDOS. Congress Medical waste tracking. *Act of 1988*, v. 3.515, n. 42, p. USC 6.992-6.992k, 1988.
28. *BIOSAFETY in the laboratory prudent practices for the handling and disposal of infectious materials national*. Washington, DC: Research Council; National Academy Press, 1989.
29. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Guidelines for preventing the transmission of tuberculosis in health-care settings, with special focus on HIV-related issues. *MMWR*, v. 39, n. RR-17, 1990.
30. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. National action plan to combat multi-drug-resistant tuberculosis: summary of a Conference Management of Persons Expo-

sed to Multi-Drug-Resistant Tuberculosis. *MMWR*, v. 41, n. RR-11, 1992. Meeting the Challenge of Multi-drug-resistant Tuberculosis.

Referências Bibliográficas. Seção II

1. AMERICAN SOCIETY OF HEATING, REFRIGERATING, AND AIR-CONDITIONING ENGINEERS. Laboratories. In: ASHRAE handbook, heating, ventilation, and air-conditioning applications, chapter, 13, 1999.
2. ESTADOS UNIDOS. Department of Labor. Occupational Safety and Health Administration. Occupational exposure to bloodborne pathogens: final rule. *Federal Register*, v. 56, p. 64.175-64; 182, 1991.
3. ESTADOS UNIDOS. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administrations, v. 2, 1991.
4. RICHMOND, J. Y. HIV biosafety: guidelines and regulations. In: SCHOCHETMAN, G.; GEORGE, J. R. (Ed.). *AIDS testing*. 2. ed. New York: Springer-Verlag, 1994. p. 346-360.
5. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Update: universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. *MMWR*, n. 37, p. 377-382; 387- 388, 1988.
6. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS -- NCCLS. (Estados Unidos). Protection of laboratory workers from instrument biohazards and infectious disease transmitted by blood, body fluids and tissue. Approved Guideline, 1997. ISBN-1-56238-339-6. NCCLS Doc. M29-A.

Referências Bibliográficas. Seção IV

1. *GUIDE for the care and use of laboratory animals*. Washington, DC, National Academy, 1996.
2. ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. *Laboratory animal welfare: regulations* – 9 CRE, subchapter A, parts 1, 2 and 3, [19- -].

3. *OCCUPATIONAL health and safety in the care of research animals*. Washington, DC: National Academy, 1996.
4. SUBCOMMITTEE ON ARBOVIRUS LABORATORY (Estados Unidos). Laboratory safety for arbovirus and certain other viruses for vertebrates. *Am J Trop Med Hyg*, v. 29, n. 6, p. 1.359-1.381, 1980.
5. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. Fatal cercopithecine herpesvirus 1 (b virus) infection following a mucocutaneous exposure and interim recommendations for worker protection. *MMWR*, v. 47, n. 49; p. 1.073-6; 1.083, 1998.
6. GUIDE for the care and use of laboratory animals (1), [19 - -].
7. OCCUPATIONAL health and safety in the care of research animals (3), [19 - -].
8. ESTADOS UNIDOS. Center for Disease Control and Prevention, 1998. (5), [19 - -].
9. OCCUPATIONAL health and safety in the care of research animals (3), [19 - -].

Referências Bibliográficas. Seção V

1. KNUDSEN, R. C. Risk assessment for biological agents in the laboratory. In: RICHMOND, J.; D, R. B. P. (Ed.). Rational basis for biocontainment. In: NATIONAL SYMPOSIUM ON BIOSAFETY, 5., Mundelein, IL, 1998. *Proceedings...* Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 1998.
2. BENENSON, Abram S. (Ed.). *Control of communicable diseases manual*. 16. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1995.
3. COLLINS, C. H. *Laboratory-acquired infections, history, incidence, causes and prevention*. [S.l.]: Butterworths, 1983.
4. RICHMOND, Jonathan Y.; MCKINNEY, Robert W. (Ed.). *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 3. ed. [S.l.]: Public Health Service, 1993.

5. SEWELL, David L. Laboratory associated infections and bio-safety. *Clinical Microbiologys Review*, n. 8, p. 389-405, 1995.
6. SULKIN, S. E.; PIKE, R. M. Viral Infections contracted in the laboratory. *New England J. Medicine*, n. 241, p. 205-213, 1949.
7. SULKIN, S. E.; PIKE, R. M. Survey of laboratory acquired infections. *Am J Public Health*, n. 41, p. 769-781, 1951.
8. SULLIVAN, J. F.; SONGER, J. R.; ESTREM, I. E. Laboratory acquired infections at the National Animal Disease Center, 1960-1975. *Health Laboratory Sci*, n. 15, p. 58-64, 1978.
9. NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. (Estados Unidos). Guidelines for research involving recombinant DNA molecules. Washington: GPO, *Federal Register*, Washington: GPO, v. 59, p. FR 34.496, 1998.

Outras Fontes:

10. NIH Guidelines for recombinant DNA molecules: Disponível em: <<http://www.NIH.gov/od/orda/toc.html>>.
11. NIH. Office of Recombinant DNA Activities: Disponível em: <<http://www.NIH.gov/od/orda>>.

Referências Bibliográficas. Seção VII

1. ELLINGSON, H. V. et al. Cutaneous anthrax: report of twenty-five cases. *JAMA*, n. 131, p. 1.105-8, 1946.
2. PIKE, R. M. Laboratory-associated infections: summary and analysis of 3.921 cases, *Hlth Lab Sci*, n. 13, p. 105-114, 1976.
3. LINNEMAN, C. C. et al. Use of pertussis vaccine in an epidemic involving hospital staff. *Lancet*, n. 2, p. 540, 1975.
4. KURT, T. L. et al. Spread of pertussis by hospital staff. *JAMA*, n. 221, p. 264, 1972.
5. MORSE, S. I. Pertussis in adults. *Ann Intern Med*, n. 68, p. 953, 1968.
6. KURT, T. L. et al. (4), 1972.

7. LINNEMAN, C. C. et al. (3), 1975.
8. NELSON, J. D. The changing epidemiology of pertussis in young infants, the role of adults as reservoirs of infection. *Am J Dis Child*, n. 132, p. 371, 1978.
9. R. W. MCKINNEY et al. BIOLOGICAL SAFETY CONFERENCE, 27., 1985, La Jolla, CA. *Anais...* La Jolla, CA: Salk Institute for Biological Studies, 1985.
10. PARKER, C. Department of Microbiology, University of Missouri. Columbia: University of Missouri, 1992. Personal communication.
11. BURSTYN, D. G. et al. Serological response to filamentous hemagglutinin and lymphocytosis-promoting toxin of *Bordetella pertussis*. *Infection and Immunity*, n. 41, p. 1.150-6, 1983.
12. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Pertussis. Washington: University of Missouri. *MMWR*, v. 34, n. 26, p. 90-400, 1985.
13. MILLER, C. D.; SONGER, J. R.; SULLIVAN, J. F. A twenty-five year review of laboratory-acquired human infections at the National Animal Disease Center. *Am Ind Hyg Assoc J*, n. 48, p. 271-275, 1987.
14. OLLE-GOIG, J.; CANELA-SOLER, J. C. An outbreak of *Brucella melitensis* infection by airborne transmission among laboratory workers. *Am J Publ Hlth*, n. 77, p. 335-338, 1987.
15. PIKE, R. M. (2), 1976.
16. MORRISET, R.; SPINK, W. W. Epidemic canine brucellosis due to a new species, *Brucella canis*. *Lancet*, n. 2, p. 1.000-2, 1969.
17. PIKE, R. M. (2), 1976.
18. SPINK, W. W. *The nature of brucellosis*. Minneapolis, Minnesota: The University of Minnesota Press, 1956. p. 106-108.
19. GRAMMONT-CUPILLARD, M.; BERTHET-BADETTI, L.; DELLAMONICA, P. *Lancet*, n. 348, p. 1.733-1.734, 1996.

20. HUDDLESON, I. F.; MUNGER, M. A study of an epidemic of brucellosis due to brucella melitensis. *Am J Public Health*, n. 30, p. 944-954, 1940.
21. STASZKIEWICZ, J. et al. Outbreak of brucellosis melitensis among microbiology laboratory workers in a community hospital. *J Clin Microbiol*, n. 29, p. 278-290, 1991.
22. NICOLETTI, P. Vaccination against brucella. *Advances in Biotechnological Processes*, n. 13, p. 147-168, 1990.
23. GREEN, R. N.; TUFFNELL, P. G. Laboratory-acquired melioidosis. *Am J Med*, n. 44, p. 599-605, 1968.
24. SCHELECH, W. F. et al. Laboratory-acquired infection with pseudomona pseudomallie (melioidosis). *N Eng J Med*, n. 305, p. 1.133-1.135, 1981.
25. OATES, J. D.; HODGIN Jr., U. G. Laboratory-acquired campylobacter enteritis. *South Med J*, n. 74, p. 83, 1981.
26. PENNER, J. L. et al. Application of serotyping and chromosomal restriction endonuclease digest analysis in investigating a laboratory-acquired case of campylobacter jejuni enteritis. *J Clin Microbiol*, n. 18, p. 1.427-1.428, 1983.
27. PRESCOTT, J. F.; KARMALI, M. A. Attempts to transmit campylobacter enteritis to dogs and cats, letter. *Can Med Assoc J*, n. 119, p. 1.001-1.002, 1978.
28. PRESCOTT, J. F.; KARMALI, M. A. (25), 1978.
29. ROBINSON, D. A. Infective dose of campylobacter jejuni in milk. *Brit Med J*, n. 282, p. 1.584, 1981.
30. MILLER, C. D.; SONGER, J. R.; SULLIVAN, J. F. (13), 1987.
31. PIKE, R. M. (2), 1976.
32. STERNE, M.; WERTZEL, L. M. A new method of large-scale production of high-titer botulinum formol-toxoid inhalation types C and D. *J Immunol*, n. 65, p. 175-183, 1950.
33. HOLZER, E. Botulism caused by inhalation. *Med Klin*, n. 41, p. 1.735-1.740, 1962.

34. STERNE, M.; WERTZEL, L. M. (30), 1950.
35. PIKE, R. M. (2), 1976.
36. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices – ACIP. Diphtheria, tetanus and pertussis. *MMWR*, v. 30, n. 32, p. 392-396, 1981.
37. PIKE, R. M. (2), 1976.
38. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control (34), 1981.
39. ANONYMOUS. Laboratory acquired infection with escherichia coli O 157. *Communicable Disease Weekly*, v. 4, n. 7, p. 29, 1994.
40. RAO, G. G.; SAUNDERS, B. P.; MASTERTON, R. G. Laboratory-acquired verotoxin producing escherichia coli – VTEC infection. *J Hospital Infection*, v. 33, n. 3, p. 228-230, 1996.
41. BURNENS, A. P. A case of laboratory-acquired infection with escherichia coli O 157 H7. *Zentralblatt fur Bakteriologie*, n. 279, p. 512-517, 1993.
42. PIKE, R. M. (2), 1976.
43. BURKE, D. S. Immunization against tularemia analysis of the effectiveness of live francisella tularensis vaccine in prevention of laboratory-acquired tularemia. *J Infect Dis*, n. 137, p. 55-60, 1977.
44. BURKE, D. S. (41), 1977.
45. MARSHALL, B. J.; WARREN, J. R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, n. 1, p. 1.311-1.315, 1984.
46. MARSHALL, B. J. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric campylobacter. *Med J Aust*, n. 142, p. 436-439, 1985.
47. MATYSIAK-BUDNIK, T. et al. Laboratory-acquired heliobacter pylori infection. *Lancet*, n. 346, p. 1.489-1.490, 1995.

48. PIKE, R. M. (2), 1977.
49. MILLER, C. D.; SONGER, J. R.; SULLIVAN, J. F. (13), 1987.
50. RICHARDSON, J. H. *Provisional summary of 109 laboratory-acquired infections at the Centers for Disease Control, 1947-1973*. Ames, Iowa, 1973. Presented at the 16th Annual Biosafety Conference, Ames, Iowa.
51. SCHUCHAT, A.; SWAMINATHAN, B.; BROOME, C. V. Epidemiology of human listeriosis. *Clin. Microbiol*, n. 4, p. 169-83, 1991.
52. ARMSTRONG, D. *Listeria monocytogenes*. In: MANDELL, G. L.; BENNET, J. E.; DOLIN, R. (Ed.). *Principles and practices of infectious diseases*. New York, Churchill Livingstone, 1995. p. 1.880-1.
53. SCHUCHAT, A.; SWAMINATHAN, B.; BROOME, C. V. (49), 1991.
54. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. Update: foodborne listeriosis United States, 1988-1990. *MMWR*, n. 41, p. 251-7, 1992.
55. ARMSTRONG, D. (50), 1995.
56. SCHUCHAT, A.; SWAMINATHAN, B.; BROOME, C. V. (49), 1991.
57. ARMSTRONG, D. (50), 1995.
58. GELLIN, B. C.; BROOME, C. V. Listeriosis. *JAMA*, n. 261, p. 1.313-20, 1976.
59. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. *Unpublished data Center for Infectious Disease*. [Washington]: Department of Health, Education and Welfare; Public Health Service, 1976.
60. McDADE, J. E.; SHEPARH, C. C. Virulent to avirulent conversions of legionnaire's disease bacterium (*Legionella pneumophila*), its effect on isolation techniques. *J. Infect Dis*, n. 139, p. 707-711, 1979.

61. MARCHOUX, P. E. Un cas d'inoculation accidentelle du bacille de Hanson en pays non lepreux. *Int J Lepr*, n. 2, p. 1-7, 1934.
62. PARRIT, R. J.; OLSEN, R. E. Two simultaneous cases of leprosy developing in tattoos. *Am J Patrol*, n. 23, p. 805-817, 1974.
63. WALSH, G. P. et al. Leprosy-like disease occurring naturally in armadillos. *J Reticuloendothel Soc*, n. 18, p. 347-351, 1975.
64. DONHAM, K. J.; LEININGER, J. R. Spontaneous leprosy-like disease in a chimpanzee. *J. Infect. Dis*, n. 136, p. 132-136, 1997.
65. MEYERS, W. M. et al. Naturally acquired leprosy in a mangabey monkey *cercocebus* sp. *Int J Lepr*, n. 48, p. 495-496, 1980.
66. PIKE, R. M. (2), 1976.
67. GRIST, N. R.; EMSLIE, Jan. Infections in british clinical laboratories, 1.982-3. *J Clin Pathol*, n. 38, p. 721-725, 1985.
68. MILLER, C. D.; SONGER, J. R.; SULLIVAN, J. F. (13), 1987.
69. MÜLLER, H. E. Laboratory-acquired mycobacterial infection. *Lancet*, n. 2, p. 331, 1988.
70. PIKE, R. M. (2), 1976.
71. PIKE, R. M.; SULKIN, S. E.; SCHULZE, M. L. Continuing importance of laboratory-acquired infections. *Am J Public Health*, n. 55, p. 190-199, 1965.
72. REID, D. D. Incidence of tuberculosis among workers in medical laboratories. *Brit Med*, n. 2, p.10-14, 1957.
73. KAUFMANN, A. F.; ANDERSON, D. C. Tuberculosis control in nonhuman primates. In: MONTALI, R. J. (Ed.). *Mycobacterial infections of zoo animals*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 1978. p. 227-234.
74. ANONYMOUS. Tuberculosis infection associated with tissue processing. *Cal Morbid*, n. 30, 1980.

75. ALLEN, B. W. Survival of tubercle bacilli in heat-fixed sputum smears. *J Clin Pathol*, n. 34, p. 719-722, 1981 .
76. GOOD, R. C.; SNIDER Jr., D. E. Isolation of nontuberculosis mycobacteria in the US, 1980. *J Infect Dis*, n. 146, p. 829-833, 1982.
77. SMITHWICK, R. W.; STRATIGOS, C. B. Preparation of acid-fast microscopy smears for proficiency testing and quality control. *J Clin Microbiol*, n. 8, p. 110-111, 1978.
78. OLIVER, J.; REUSSER, T. R. Rapid method for the concentration of tubercle bacilli. *Am Ver Tuberc*, n. 45, p. 450-452, 1942.
79. RICHMOND, J. Y.; KNUDSEN, R. C.; GOOD, R. C. Biosafety in the clinical mycobacteriology laboratory. *Clin Mycobac*, v. 16, n. 3, p. 527-550, 1996.
80. DIENA, B. B. et al. Gonococcal conjunctivitis: accidental infection. *Can Med Assoc J*, n. 115, p. 609-612, 1976.
81. BACTERIOLOGIST dies of meningitis. *JAMA*, n. 106, p. 129, 1936
82. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Laboratory-acquired meningococemia, California and Massachusetts. *MMWR*, v. 40, n. 3, p. 46-47; 55, 1991.
83. PIKE, R. M. Laboratory-associated infections: incidence, fatalities, causes and prevention. *Ann Ver Microbiol*, n. 33, p. 41-66, 1979.
84. GRIST, N. R.; EMSLIE, Jan. Infections in British clinical laboratories, 1984-5. *J Clin Pathol*, n. 40, p. 826-829, 1987.
85. MILLER, C. D.; SONGER, J. R.; SULLIVAN, J. F. (13), 1987.
86. PIKE, M. R. (2), 1976.
87. BLASER, M. J. et al. Salmonella typhi: the laboratory as a reservoir of infection. *J Infect Dis*, n. 142, p. 934-938, 1980.
88. GRIST, N. R. EMSLIE, Jan. (65), 1985.
89. PIKE, R. M. (85), 1979.

90. GRIST, N. R.; EMSLIE, Jan. (65), 1985.
91. GRIST, N. R.; EMSLIE, Jan. (84), 1987.
92. JACOBSON, J. T.; ORLOB, R. B.; CLAYTON, J. L. Infections acquired in clinical laboratories in Utah. *J Clin Microbiol*, n. 21, p. 486-489, 1985.
93. PIKE, R. M. (2), 1976.
94. WEDUM, A. G.; BARKLEY, W. E.; HELLMAN, A. Handling of infectious agents. *J Am Vet Med Assoc*, n. 161, 1.557-1.567, 1972.
95. PIKE, R. M. (2), 1976.
96. FITZGERALD, J. J.; JOHNSON, R. C.; SMITH, M. Accidental laboratory Infection with treponema pallidum, Nichols strain, *J Am Vener Dis Assocn*, n. 3, p. 76-78. 1976.
97. MAGNESON, H. J. et al. Inoculation syphilis in human volunteers. *Medicine*, n. 35, p. 33-82, 1956.
98. PIKE, R. M. (85), 1979.
99. LEVINE, M. M. et al. New knowledge on pathogenesis of bacterial enteric infections as applied to vaccine development. *Microbiol Reviews*, n. 47, p. 510-550, 1983.
100. BURMEISTER, R. W.; TIGERTT, W. D.; OVERHOLT, E. L. Laboratory-acquired pneumonic plague. *Ann Intern Med*, n. 56, p. 789-800, 1962.
101. PIKE, R. M. (2), 1976.

Referências Bibliográficas. Seção VII B

1. EVANS, N. A clinical report of a case of blastomycosis of the skin from accidental inoculation. *JAMA*, n. 40, p. 1.172-1.175, 1903.
2. HARREL, E. R. The known and the unknown of the occupational mycoses. In: OCCUPATIONAL diseases acquired from animals. *Public Health*, Ann Arbor, MI: Univ Mich Sch, p. 176-178, 1964. (Education series; n. 124).

3. LARSH, H. W.; SCHWARTZ, J. Accidental inoculation-blastomycosis. *Cutis*, n. 19, p. 334-336, 1977.
4. LARSON, D. M. et al. Primary cutaneous, inoculation, blastomycosis: an occupational hazard to pathologists. *Amer J Clin Pathol*, n. 79, p. 253-255, 1983.
5. SEGRETAIN, G. *Penicillium mamefii*, n. sp., agent d'une mycose du systeme reticulo-endothelial. *Mycopathol Mycol Appl*, n. 11, p. 327-353, 1959.
6. WILSON, J. W. et al. Primary cutaneous North American blastomycosis. *Arch Dermatol*, n. 71, p. 39-45, 1955.
7. GRAHAM Jr., W. R.; CALLAWAY, J. L. Primary inoculation blastomycosis in a veterinarian. *J Am Acad Dermatol*, n. 7, p. 785-786, 1982.
8. SCHAWARZ, J.; KAUFFAM, C. A. Occupational hazards from deep mycoses. *Arch Dermatol*, n. 113, p. 1.270-1.275, 1977.
9. BAUN, G. L.; LERNER, P. I. Primary pulmonary blastomycosis: a laboratory acquired infection. *Ann Intern Med*, n. 73, p. 263-265, 1971.
10. DENTON, J. F.; DISALVO, A. F.; HIRSCH, M. L. Laboratory-acquired North American blastomycosis. *JAMA*, n. 199, p. 935-936, 1967.
11. BUSH, J. D. Coccidioidomycosis. *J Med Assoc Alabama*, n. 13, p. 159-166, 1943.
12. CONANT, N. F. Development of a method for immunizing man against coccidioidomycosis: third quarterly progress report. Durham, NC: Duke University, 1955. Contract DA-18-064-CML-2563, available from defense documents center - AD 121-600.
13. DICKSON, E. C. Coccidioides infection: part I. *Arch Intern Med*, n. 59, p. 1.029-1.044, 1937.
14. DICKSON, E. C. Valley fever, of the San Joaquin Valley and fungus coccidioides. *Calif Western Med*, n. 47, p. 151-155, 1937.

15. DICKSON, E. C.; GIFFORD, M. A. Coccidioides infection, coccidioidomycosis: the primary type of infection. *Arch Intern Med*, n. 62, p. 853-871, 1938.
16. KLUTSCH, K. et al. Zur klinik der coccidioidomykose. *Deut Med Wochensch*, n. 90, p. 1.498-1.501, 1965.
17. LOONEY, J. M.; STEIN, T. Coccidioidomycosis. *N Engl J Med*, n. 242, p. 77-82, 1950.
18. NABARRO, J. D. N. Primary pulmonary coccidioidomycosis: case of laboratory infection in England. *Lancet*, n. 1, p. 982-984, 1948.
19. SMITH, C. E. The hazard of acquiring mycotic infections in the laboratory. *Am Pub Hith Assoc*, St. Louis, MO, 1950. (Presented at 78th Ann. Meeting).
20. SMITH, C. E. et al. Human coccidioidomycosis. *Bacteriol Ver*, n. 25, p. 310-320, 1961.
21. SMITH, D. T.; HARRELL Jr., E. R. Fatal coccidioidomycosis: a case of laboratory infection. *Am Ver Tuberc*, n. 57, p. 368-374, 1948.
22. SCHWARZ, J.; KAUFFMAN, C. (8), 1977.
23. WILSON, J. W.; SMUTH, C. E.; PLUNKETT, O. A. Primary cutaneous coccidioidomycosis: the criteria for diagnosis and a report of a case. *Calif Med*, n. 79, p. 233-239, 1953.
24. KOHN, G. et al. Acquisition of coccidioidomycosis by inhalation of coccidioidal endospores. *Diagn Microbiol Infect Dis*, n. 15, p. 527-530, [19- -].
25. TOMLINSON, C. C.; BANCROFT, P. Granuloma coccidioides: report of a case responding favorably to antimony and potassium tartrate. *JAMA*, n. 91, p. 947-951, 1928.
26. HALDE, C. Percutaneous cryptococcus noformans inoculation without infection. *Arch Dermatol*, n. 89, p. 545, 1964.
27. CASADEVALL, A.; MUKHERJEE, J.; YUAN, R. P. J. Management of injuries caused by cryptococcus neoformans-contaminated needles. *Clin Infect Dis*, n. 19, p. 951-953, 1994.

28. PIKE, R. M. Past and present hazards of working with infectious agents. *Arch Path Lab Med*, n. 102, p. 333-336, 1978.
29. PIKE, R. M. Laboratory-associated infections: summary and analysis of 3,921 cases. *Health Lab Sci*, n. 13, p. 105-114, 1976.
30. SCHWARZ, J.; KAUFFMAN, C. A. (8), 1977.
31. MURRAY, J. F.; HOWARD, D. H. Laboratory-acquired histoplasmosis. *Am J Respir Dis*, n. 89, p. 631-640, 1964.
32. TOSH, F. E. et al. Primary cutaneous histoplasmosis: report of a case. *Arch Intern Med*, n. 114, p. 118-119, 1964.
33. TESH, R. B.; SCHNEIDAY Jr., J. D. Primary cutaneous histoplasmosis. *New Engl J Med*, n. 275, p. 597-599, 1966.
34. FURCOLOW, M. L. Airborne histoplasmosis. *Bact Rev*, n. 25, p. 301-309, 1961.
35. ISHIZAKE, H.; IKEDA, M.; KURATA, Y. Lymphocutaneous sporotrichosis caused by accident inoculation. *J Dermatol*, n. 6, p. 321-323, 1979.
36. FAVA, A. Un cas de sporotrichose conjonctivale et palpébrale primitives. *Ann Ocul*, Paris, n. 141, p. 338-343, 1909.
37. WILDER, W. H.; McCULLOUGH, C. P. Sporotrichosis of the eye. *JAMA*, n. 62, p. 1.156-1.160, 1914.
38. CAROUGEAU, M. Premier cas africain de sporotrichose de Beurmann: transmission de la sporotrichose du mulet à l'homme. *Bull Mem Soc Med Hop*, Paris, n. 28, p. 507-510, 1909.
39. THOMPSON, D. W. KAPLAN. Laboratory acquired sporotrichosis. *Sabouraudia*, n. 15, p. 167-170, 1977.
40. JEANSELME, E.; CHEVALLIER, P. Chancres sporotrichosiques des doigts produits par la morsure d'un rat inoculé de sporotrichose. *Bull Mem Soc Med Hop*, Paris, n. 30, p. 176-178, 1910.
41. JEANSELME, E.; CHEVALLIER, P. Transmission de la sporotrichose à l'homme par les morsures d'un rat blanc inoculé.

- le avec une nouvelle variété de sporotrichum: lymphangite gommeuse ascendante. *Bull Men Soc Med Hop*, Paris, n. 31, p. 287-301, 1911.
42. MEYER, K. F. The relationship of animal to human sporotrichosis: studies on american sporotrichosis III. *JAMA*, n. 65, p. 579-585, 1915.
43. NORDEN, A. Sporotrichosis: clinical and laboratory features and a serologic study in experimental animals and humans. *Acta Pathol Microbiol Scand*, Suppl, n. 89, p. 3-119, 1951.
44. COOPER, C. R.; DIXON, D. M.; SALKIN, I. F. Laboratory-acquired sporotrichosis. *J Med Vet Mycol*, n. 30, p. 169-171, 1992.
45. FIELITZ, H. Ueber eine laboratorumsinfektion mit dem sporotrichum de beurmanni. *Centralbl Bakteriol Pparasitenk*, v. 55, p. 361-370, 1970. (ABT I ORIG).
46. HANEL Jr., E.; KRUSE, R. H. Laboratory-acquired mycoses. [Washington]: Department of the Army. *Miscellaneous Publication*, n. 28, 1967.
47. MCAKEERM, R. An epizootic in laboratory guinea pigs due to trichophyton mentagrophytes. *Aust Vet J*, n. 56, p. 234-236, 1980.
48. PIKE, R. M. Laboratory associated infections: summary and analysis of 3.921 cases. *Hlth Lab Sci*, n. 13, p. 105-114, 1976.
49. KAMALAM, A.; THAMBIAH, A. S. Trichophyton simii infection due to laboratory accident. *Dermatologica*, n. 159, p. 180-181, 1979.
50. SEGRETAIN, G. Penicillium mamefii, n. sp., agent d'une mycose du systeme reticulo-endothelial. *Mycopathol Mycol Appl*, n. 11, p. 327-353, 1959.

Referências Bibliográficas Seção VII C

1. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Chaga's disease. Kalamazoo, Michigan. *MMWR*, v. 20, n. 13, p. 147-8, 1980.

- 2., EYLES, D. E.; COATNEY, G. R.; GETZ, M. E. Viax-type malaria parasite of macaques transmissible to man. *Science*, n. 131, p. 1.812-1.813, 1960.
3. GUTTERIDGE, W. E.; COVER, B.; COOKE, A. J. D. Safety precautions for working with trypanosoma cruzi. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, n. 68, p. 161, 1974.
4. HERWALDT, B. L.; JURANEK, D. D. Laboratory acquired malaria, leishmaniasis, trypanosomiasis and toxoplasmosis. *Am J Trop Med Hyg*, n. 48, p. 313-323, 1993.
5. LETTAU, L. A. Nocosomial transmission and infection control aspects of parasites and ectoparasitic diseases: part I. Introduction/enteric parasites; part II. Blood and tissues parasites. *Infect Control Hosp Epidemiol*, n. 12, p. 59-65; 111-121, 1991.
6. PIKE, R. M. Laboratory-associated infections: summary and analysis of 3.921 cases. *Health Lab Sci*, n. 13, p. 105-114, 1976.
7. ROBERTSON, D. H. H. et al. An accidental laboratory infection with African trypanosomes of a defined stock. I and II. *J Infect*, n. 2, p. 105-112; 113-124, 1980.
8. DILLON, N. L. et al. Leishmaniose cutânea accidental. *Ver Insti Med Trop*, São Paulo, n. 35, p. 385-387, 1993.
9. HERWALDT, B. L.; JURANEK, D. D. Protozoa and helminthes. In: FLEMING, D. O. et al. (Ed.). *Laboratory safety principles and practices*. 2. ed. Washington, DC: American Society for Microbiological, 1995. p. 77-91.
10. KIRCHHOFF, L. V. Chagas disease. american trypanosomiasis. *Inf Dis Clin North Am*, n. 7, p. 487-502, 1993.
11. RECEVEUR, M. C.; LE BRAS, M.; VINGENDEAU, P. Laboratory-acquired gambian trypanosomiasis. *N Engl J Med*, n. 329, p. 209-210, 1993.
12. SEWELL, D. L. Laboratory-acquired infections and biosafety. *Clin Microbiol Ver*, n. 8, p. 389-405, 1995.
13. HERWALDT; JURANEK. (9), 1995.

14. GUTTERIDGE et al. (3), 1974.
15. HERWALDT; JURANEK. (9), 1995.
16. ANONYMOUS. Drugs for parasitic infections. *The Medical Letter on Drugs and Therapeutics*, n. 37, p. 99-108, 1995.
17. HERWALDT; JURANEK. (4), 1993.
18. HERWALDT; JURANEK. (9), 1995.
19. LETTAU, L. A. (5), 1991.
20. PIKE, R. M. (5), 1976.
21. SEWELL, D. L. (12), 1995).
22. ANONYMOUS. (16), 1995.
23. HERWALDT; JURANEK. (9), 1995.
24. LETTAU, L. A. (5), 1991.
25. PIKE, R. M. (6), 1976.
26. VAN GOMPEL, A. et al. Laboratory infection with schistosoma mansoni. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, n. 87, p. 554, 1993.
27. ANONYMOUS. (16), 1995.
28. ANONYMOUS. (16), 1995.
29. HERWALDT; JURANEK. (9), 1995.
30. LETTAU. (5), 1991
31. PIKE. (6), 1976.
32. ANONYMOUS. (16), 1995.

Referências Bibliográficas. Seção VII D

1. PRUSINER, S. B. Prion diseases and the BSE crisis. *Science*, n. 278, p. 245-251, 1997.
2. PRUSINER, S. et al. Prions, virus taxonomy: REPORT OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. 7., [S.l.]: Academic Press, [19- -]. In press.

3. PAN K. M. et. al. Conversion of a-helices into b-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, n. 90, p.10.962-10.966, 1993.
4. WICKNER, R. B. A new prion controls fungal cell fusion incompatibility [commentary]. *Proc Natl Acad Sci USA*, n. 94, p. 10.012-10.014, 1997.
5. GAJDUSEK, D. C. Unconventional viruses and the origin and disappearance of kuru. *Science*, n. 197, p. 943-960, 1997.
6. TELLING G. C. Prion propagation in mice expressing human and chimerical PrP transgenes implicates the interaction of cellular PrP with another protein. *Cell*, n. 83, 79-90, 1995.
7. PRUSINER, S. B. (1) 1997.
8. PRUSINER S. B. (1) 1997.
9. WILL, R. G. et al. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet*, n. 347, p. 921-925, 1996.
10. FOSTER, J. D. et al. McKelvey. Studies on maternal transmission of scrapie in sheep by embryo transfer. *Vet Rec*, n. 130, p. 341-343, 1992.
11. DICKINSON, A. G.; STAMP, J. T.; RENWICK, C. C. Maternal and lateral transmission of scrapie in sheep. *J Comp Pathol*, n. 84, p. 19-25, 1974.
12. PRUSINER, S. B. (1), 1997.
13. GAJDUSEK, D. C. The transmissible amyloidoses: genetic control of spontaneous generation of infectious amyloid proteins by nucleation of configurational change in host precursors: kuru-CJD-GSS-scrapie-BSE. *Eur J Epidemiol*, n. 7, p. 567-577, 1991.
14. MARSH, R. F. Transmissible mink encephalopathy. In: PRUSINER, S. B. (Ed.). *Prion diseases of humans and animals*. Ellis Horwood, London, 1992, p. 300-307.

15. COLLINGE Jr.; PALMER, M. S. Human prion diseases. In: COLLINGE, J.; PALMER, M. S. (Ed.). *Prion Diseases*. Oxford, UK: Oxford University Press, 1997, p. 18-56.
16. RIDLEY, R. M.; BAKER, H. F. Occupational risk of Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet*, n. 341, p. 641-642, 1993.
17. GAJDUSEK, D. C. (5), 1977.
18. PUBLIC HEALTH SERVICE INTERAGENCY COORDINATING COMMITTEE. *Report on human growth hormone and Creutzfeldt-Jakob Disease*, n. 14, p. 1-11, 1997.
19. CDC. Creutzfeldt-Jakob disease associated with cadaveric dura mater grafts. Japan, Jan. 1979-May 1996. *MMWR*, n. 46, p. 1.066-1.069, 1997.
20. TELLING, G. C. et al. (6), 1995.
21. BROWN P. et al. Human spongiform encephalopathy: the National Institutes of Health, series of 300 cases of experimentally transmitted disease. *Ann Neurol*, n. 35, p. 513-529, 1994.
22. TELLING, G. C. et al. Evidence for the conformation of the pathologic isoform of the prion protein enciphering and propagating prion diversity. *Science*, n. 274, p. 2.079-2.082, 1996.
23. BROWN, P.; PREECE, M. A.; WILL, R. G. Friendly fire in medicine: hormones, homographs, and Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet*, n. 340, p. 24-27, 1992.
24. IRONSIDE, J. W.; BELL, J. E. The high-risk neuropathological autopsy in AIDS and Creutzfeldt-Jacob disease: principles and practice. *Neuropathol Appl Neurobiol*, n. 22, p. 388-393, 1996.
25. RIDLEY, R. M.; BAKER, H. F. (16), 1993.
26. EKLUND, C. M.; KENNEDY, R. C.; HADLOW, W. J. Pathogenesis of scrapie virus infection in the mouse. *J Infect Dis*, n. 117, 15-22, 1967.

27. PRUSINER, S. B. Molecular properties, partial purification, and assay by incubation period measurements of the hamster scrapie agent. *Biochemistry*, n. 19, p. 4.883-4.891, 1980.
28. PRUSINER, S. B. Sedimentation characteristics of the scrapie agent from murine spleen and brain. *Biochemistry*, n. 17, p. 4.987- 4.891, 1978.
29. KIMBERLIN, R. H. *Scrapie in the mouse*. Durham, England: Meadowfield Press, 1976
30. BELLINGER-KAWAHARA, C. G. Scrapie prion liposomes and rods exhibit target sizes of 55,000Da. *Virology*, n. 164, p. 537-541, 1988.
31. GABIZON, R.; PRUSINER, S. B. Prion liposomes. *Biochem J*, n. 266, p. 1-14, 1990.
32. SAFAR, J. et al. Subcellular distribution and physicochemical properties of scrapie associated precursor protein and relationship with scrapie agent. *Neurology*, n. 40, p. 503-508, 1990.
33. BELLINGER-KAWAHARA, C. et al. Purified scrapie prions resist inactivation by procedures that hydrolyze, modify, or shear nucleic acids. *Virology*, n. 160, p. 271-274, 1987.
34. ALPER, T. et al. Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid? *Nature*, n. 214, p. 764-766, 1967.
35. BELLINGER-KAWAHARA, C. et al. Purified scrapie prions resist inactivation by UV irradiation. *J Virol*, n. 61, p. 159-166, 1987.
36. MCKINLEY, M. P. Resistance of the scrapie agent to inactivation by psoralens. *Photochem Photobiol*, n. 37, p. 539-545, 1983.
37. PRUSINER, S. B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*, n. 216, p. 136-144, 1982.
38. BROWN, P.; WOLFF, A.; GAJDUSEK, D. C. A simple and effective method for inactivating virus infectivity in formalin-fixed samples from patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology*, n. 41, p. 887-890, 1990.

39. PRUSINER, S. B. Scrapie agent contains a hydrophobic protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, n. 78, p. 6.675-6.679, 1981.
40. MCKINLEY, M. P.; BOLTON, D. C.; PRUSINER, S. B. A protease-resistant protein is a structural component of the scrapie prion. *Cell*, n. 35, 57-62, 1983.
41. PRUSINER, S. B. et al. Thiocyanate and hydroxyl ions inactivate the scrapie agent. *Proc Natl Acad Sci USA*, n. 78, p. 4.606-4.610, 1981.
42. PRUSINER, S. B. et al. Prions: methods for assay, purification and characterization. In: MARAMOROSCH, K.; KOPROWSKI, H. (Ed.). *Methods in virology*. New York: Academic Press, p. 293-345, 1984.
43. PRUSINER, S. B. Attempts to restore scrapie prion infectivity after exposure to protein denaturants. *Proc Natl Acad Sci USA*, n. 90, p. 2.793-2.797, 1993.
44. TAYLOR, D. M.; WOODGATE, S. L.; ATKINSON, M. J. Inactivation of the bovine spongiform encephalopathy agent by rendering procedures. *Vet Rec*, n. 137, p. 605-610, 1995.
45. TAYLOR, D. M. Effect of rendering procedures on the scrapie agent. *Vet Rec*, n. 141, p. 643-649, 1997.
46. PRUSINER, S. B. et al. (42), 1984.
47. PRUSINER, S. B. et al. (43), 1993.
48. TAYLOR, D. M.; WOODGATE, S. L.; ATKINSON, M. J. (44), 1995.
49. TAYLOR, D. M. et al. (45), 1997.
50. BROWN, P.; WOLFF, A.; GAJDUSEK, D. C. (38), 1990).
51. BROWN, P.; WOLFF, A.; GAJDUSEK, D. C. (38), 1990).

Referências Bibliográficas. Seção VII E

1. WEDUM, A. G.; KRUSE, R. H. *Assessment of risk of human infection in the microbiology laboratory*. Misc Pub 30, Fort Detrick, Frederick, MD: Industrial Health and Safety Directorate, 1969.

2. WEDUM, A. G.; BARKLEY, W. E.; HELLMAN, A. Handling of infectious agents. *J. Am Vet Med Assoc*, n. 161, p. 1.557-1.567, 1972.
3. OLIPHANT, J. W. et al. Q-fever in laundry workers, presumably transmitted from contaminated clothing. *Am J Hyg*, v. 49, n.1, p. 76-82, 1949.
4. PIKE, R. M. Laboratory associated infections: summary and analysis of 3.921 cases. *Hlth Lab Sci*, n. 13, p. 105-114, 1976.
5. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Q-fever at a university research center, California. *MMWR*, n. 28, 1979.
6. SPINELLI, J. S. et al. Q-fever crisis in San Francisco: controlling a sheep zoonosis in a lab animal facility. *Lab Anim*, v. 10, n. 3, p. 24-27, 1981.
7. OLIPHANT, J. W. et al. (3), 1949.
8. WELSH, H. H. et al. Q-fever in California IV: occurrence of *coxiella burnetii* in the placenta of naturally infected sheep. *Public Health Rep*, n. 66, p. 1.473-1.477, 1951.
9. PIKE, R. M. (4), 1976.
10. HACKSTADT, T. Biosafety concerns and *coxiella burnetii* (Letter). *Trends Microbiol*, n. 4, p. 431-432, 1996.
11. SPINELLI, J. S. et al. Q-fever in San Francisco: controlling a sheep zoonosis in a lab animal facility. *Lab Anim*, v. 10, n. 3, p. 24-27, 1981.
12. BERNARD, K. W. et al. Q-fever control measures: recommendations for research of facilities using sheep. *Inf Contro*, n. 3, p. 461-465, 1982.
13. PIKE, R. M. (4), 1976.
14. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Laboratory-acquired endemic thyphus. *MMWR*, v. 27, n. 26, p. 215-216, 1978.
15. PIKE, R. M. (4), 1976 .

16. OSTER, C. N. et al. Laboratory-acquired Rocky Mountain spotted fever. The hazard of aerosol transmission. *N Engl J Med*, n. 297, p. 859-862, 1977.
17. HATTWICK, M. A. W.; O'BRIEN, R. J.; HANSON, B. F. Rocky mountain spotted fever; epidemiology of an increasing problem. *Ann Intern Med*, n. 84, p. 732-739, 1976.
18. SATAW, S.; CARLISLE, H. N. Aerosol infection of monkeys with rickettsia rickettsii. *Bact Ver*, n. 30, p. 636-645, 1966.
19. PIKE, R. M. (4), 1976.

Referências Bibliográficas. Seção VII F

1. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory management of agents associated with hantavirus pulmonary syndrome: interim biosafety guidelines. *MMWR*, n. 43, p. RR-7, 1994.
2. TSAI, T. F. Hemorrhagic fever with renal syndrome: mode of transmission to humans. *Lab Animal Sci*, n. 37, p. 428-30, 1987.
3. UMENAI, T. et al. Korean haemorrhagic fever in staff in an animal laboratory. *Lancet*, n. 1, p. 314-6, 1979.
4. DESMYTER, J. et al. Ypersele de Strihou C. laboratory rat-associated outbreak of haemorrhagic fever with renal syndrome due to hantaan-like virus in Belgium. *Lancet*, n. 1, p. 445-8, 1983.
5. LLOYD, G. et al. HFRS outbreak associated with laboratory rats in UK. *Lancet*, n. 1, p. 175-6, 1984.
6. SCHMALJONH, C. unpublished data, 1994.
7. SCHMALJOHN, C. (15), 1994.
8. SELVEY, L. A. et al. Infection of humans and horses by a newly described morbillivirus. *Med J Australia*, n. 162, p. 642-5, 1995.
9. HOOPER, P. T. et al. The retrospective diagnosis of a second outbreak of equine morbillivirus infection. *Australian Vet J*, n. 74, p. 244-5, 1996.

10. ROGERS, R. J. et al. Investigation of a second focus of equine morbillivirus infection in coastal Queensland. *Australian Vet J*, n. 74, p. 243-4, 1996.
11. WILLIAMSON, M. M. et al. Transmission studies of hendra virus, equine morbillivirus, in fruit bats, horses and cats. *Australian Vet J*, n. 76, p. 813-8, 1998.
12. YU, M. et al. Sequence analysis of the hendra virus of the subfamily paramyxovirinae. *J Gen Virol*, n. 79, 17.775-80, 1998.
13. ESTADOS UNIDOS. Centres for Disease Control and Prevention. Outbreak of hendra-like virus, Malaysia and Singapore, 1998-1999. *MMWR*, v. 48, n. 13, p. 265-69, 1999.
14. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. (13), 1999.
15. DELLA-PORTA, A. J.; MURRAY, P. K. Management of biosafety. In: RICHMON, J. Y. (Ed.). *Anthology of biosafety I: perspectives on laboratory design*. Nundelein, IL: American Biological Safety Association, 1999.
16. PIKE, R. M. Laboratory-associated infections: incidence, fatalities, causes and prevention. *Ann Ver Microbiol*, n. 33, p. 41-66, 1979.
17. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control And Prevention. *Prevention of hepatitis A through active or passive immunization: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices*. *MMWR*, v. 45, n. RR-15, p. 1-130, 1996.
18. BOYLARD, E. A. et al. Guidelines for infection control in health care personnel. *Asm Jnl Inf Control*, n. 26, p. 2.389-394, 1998.
19. PIKE, R. M. (1), 1979.
20. SKINHOLJ, P. Occupational risks in danish clinical chemical laboratories: II infections. *Scan J Clin Lab Invest*, n. 33, p. 27-29, 1974.

21. HOUGHTON, M. et al. Molecular biology of the hepatitis C viruses: implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology*, n. 14, p. 381-388, 1991.
22. MIYAMURA, T. et al. Detection of antibody against antigen expressed by molecularly cloned hepatitis C virus DNA: application to diagnosis and blood screening for post-transfusion hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA*, n. 87, p. 983-987, 1990.
23. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for follow-up of health care workers after occupational exposure to hepatitis C virus. *MMWR*, n. 46, p. 603-606, 1997.
24. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Recommendations of the Immunizations Practices Advisory Committee – ACIP: inactivated hepatitis B virus vaccine. *MMWR*, n. 39, n. RR-2, 1990.
25. ESTADOS UNIDOS. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. Occupational exposure to bloodborne pathogens: final rule. *Fed. Register*, n. 56, p. 64.175-64;182, 1991.
26. WEDUM, A. G.; KRUSE, R. H. *Assessment of risk of human infection in the microbiology laboratory*. Misc Pub 30, Fort Detrick, Frederick, MD, Industrial Health and Safety Directorate, 1969.
27. PIKE, R. M. Laboratory-associated infections: summary and analysis of 3,921 cases. *Health Lab Sci*, n. 13, p. 105-114, 1976.
28. PIKE, R. M. (1), 1979.
29. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. Fatal cercopithecine herpesvirus, 1 (B Virus), infection following a mucocutaneous exposure and interim: recommendations for worker protection. *MMWR*, v. 47, n. 49, p. 1.073-6; 1.083, 1998.

30. ARTENSTEIN, A. W. et al. Human infection with B virus following a needlestick injury. *Ver Infect Dis*, n. 13, p. 288-91, 1991.
31. HOLMES, G. P. et al. B virus herpesvirus simiae: historical perspective. *J Med*, 1990.
32. PERKINS, F. T.; HARTLEY, E. G. Precautions against B virus infection. *Brit Med J*, n. 1, p. 899-901, 1966.
32. PALMER, A. E. B virus, herpesvirus simiae: historical perspective. *J. Med. Primatol*, n. 16, p. 99-130, 1987.
33. HILLIARD, Julia. Personal communication, n. 20, 1998.
34. PIKE, R. M. (1), 1979.
35. PIKE, R. M. (12), 1976.
36. WEIGLER, B. J. Biology of B virus in macaque and human hosts: a review. *Clin Infect Dis*, n. 14, p. 555-67, 1992.
37. HILLIARD, Julia. Personal communication (18), [19- -].
38. HOLMES, G. P. et al. (31), 1990.
39. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. (29), 1998.
40. WELLS, D. L. et al. Herpesvirus simiae: contamination of primary rhesus monkey kidney cell cultures Centers for Disease Control: recommendations to minimize risks to laboratory personnel. *Diagn Microbiol Infect Dis*, n. 12, p. 333-336, 1989.
41. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for prevention of herpesvirus simiae (B virus) infection in monkey handlers. *MMWR*, n. 36, p. 680-2; 687-9, 1987.
42. PERKINS, F. T.; HARTLEY, E. G. Precautions against B virus infection. *Brit Med J*, n. 1, p. 899-901, 1996.
43. ESTADOS UNIDOS. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. Eye and face protection, 29 CFR 1910.133, 1996.

44. OSHA, 29 CFR 1910. 133 (42).
45. HOLMES, G. P., Chapman, L. E., STEWART, J. A. et al. Guidelines for the prevention and treatment of B-virus infections in exposed persons. *Clin Inf Dis*, n. 20, 1995, p. 421-39.
46. ARTENSTEIN, A. W. et al. Human infection with B virus following a needlestick injury. *Rev Infect Dis*, n. 13, p. 288-91, 1991.
47. HOLMES, G. P. et al. (31), 1990.
48. HOLMES, G. P. et al. (31), 1990.
49. DAWDLE, W. R.; HATTWICK, M. A. W. Swine influenza virus infections in humans. *J Infect Dis*, n. 136. Suppl. S386-389, 1977.
50. BOWEN, G. S. et al. Laboratory studies of a lymphocytic choriomeningitis virus outbreak in man and laboratory animals. *Am J Epidemiol*, n. 102, p. 233-40, 1975.
51. JAILING, P. B.; PETERS, C. J. Lymphocytic choriomeningitis virus: a neglected pathogen of man. *Arch Pathol Lab Med*, n. 116, p. 486, 1992.
52. PIKE, R. M. (12), 1976.
53. BOWEN, G. S. et al. (12), 1975.
54. JAHRLING, P. B.; PETERS, C. J. (35), 1992.
55. PIKE, R. M. (12), 1976.
56. ESTADOS UNIDOS. World Health Organization. *Global action plan for laboratory containment of wild poliovirus*. Geneva, n. 15, 1999.
57. MULDER, et al. Genetic analysis of wild type poliovirus importation into the Netherlands, 1979-1995. *J Inf Dis*, n. 176, p. 617-24, 1997.
58. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Prevention and Control. Office of Biosafety. *Classification of etiologic agents on the basis of hazard*. 4. ed. [Washington]: Department of

- Health, education and Welfare; Public Health, Education and Welfare; Public Health Service, 1974.
59. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices – ACIP poliomyelitis prevention. *MMWER*, v. 29, n. 3, p. 22-26; 31-34, 1982.
 60. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Propose global action plan and timetable for safe handling and maximum containment of wild poliovirus and potentially infectious materials: Global Program for Vaccines and Immunization*. Geneva, 1998.
 61. PIKE, R. M. (12), 1976.
 62. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Smallpox vaccines: recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practices – ACIP. *MMWR*, n. 29, p. 417-420, 1980.
 63. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Vaccinia (Smallpox) vaccine, recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices – ACIP. *MMWR*, v. 40, n. RR-14, 1991.
 64. CDC, (47), 1991.
 65. WINKLER, W. G. Airborne rabies transmission in a laboratory worker. *JAMA*, v. 226, n. 10, p. 1.219-1.221, 1973.
 66. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Rabies in a laboratory worker. *MMWR*, New York, v. 26, n. 22, p. 183-184, 1977.
 67. CDC, (50), 1977.
 68. WINKLER, W.G. (49), 1973.
 69. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. *HIV/AIDS surveillance report*, n. 10, jun.1998.
 70. KHABBAZ, R. F. et al. Simian immunodeficiency virus needlestick accident in a laboratory worker. *Lancet*, n. 340, p. 271-273, [19- -].

71. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Seroconversion to a simian immunodeficiency virus in two laboratory workers. *MMWR*, n. 41, p. 678-681, 1992.
72. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Nonhuman primate spumavirus infectious among persons with occupational exposures, United States, 1996. *MMWR*, v. 46, n. 6, p. 129-131, 1997.
73. HENEINE, W. et al. Identification of a human population infected with simian foamy virus. *Nature Medicine*, v. 4, n. 4, p. 403-407, apr. 1998.
74. SCHOCHETMAN, G.; GEORGE, J. R. *AIDS testing: methodology and management issues*. New York: Springer-Verlag, 1991.
75. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Update: universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. *MMWR*, n. 37, p. 337-382; 387; 388, 1988.
76. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in healthcare settings. *MMWR*, v. 36, n. 25, p. 1-7, 1987.
77. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Guidelines to prevent simian immunodeficiency virus infection in laboratory workers. *MMWR*, n. 37, p. 693-704, 1988.
78. SOTIR, M. et al. Risk of occupational exposure to potentially infectious nonhuman primate materials and to simian immunodeficiency virus. *J Med Primatol*, n. 26, p. 233-240, 1997.
79. ESTADOS UNIDOS. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. Occupational exposure to bloodborne pathogens: final rule. *Fed Register*, v. 56, n. 64, p. 175-64; 182, 1991.
80. FEVER, M. S.; BOND, W. W. Sterilization, disinfections and antisepsis in the hospital. In: LENNETTE, E. (Ed.). *Manual*

- of clinical microbiology*. 4. ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991, p. 183-200.
81. MARTIN L. S.; MCDUGLAS, J. S.; LOSKOSKI, S. L. Disinfections and inactivation of the human T. lymphotropic virus type ill/lymphadenopathy-associated virus. *J Infect Dis*, n. 152, p. 400-3, 1985.
 82. RESNIK, L. et al. Stability and inactivation of HTLV-III/LAV under clinical and laboratory environments. *JAMA*, n. 255, p. 1.887-91, 1986.
 83. RUTALA, W. A. APIC guidelines for selection and use of disinfectants. *Am J Infection Control*, n. 18, p. 99-117, 1990.
 84. ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency – EPA. *Guide for infectious waste management*. Washington, DC: Environmental Protection Agency, 1986. (EPA/530-5W-86-014).
 85. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control; Public Health Service. Guidelines for the management of health care worker exposures to HIV and recommendations for post-exposure prophylaxis. *MMWR*, v. 47, n. RR-7, p. 1-34, 1998.
 86. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health care settings. *MMWR*, 36, p. 3S-18S. [19 - -]. Suppl 2.
 87. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Additional recommendation to reduce sexual and drug abuse-related transmission of human T-lymphotropic virus type II lymphadenopathy-associated virus. *MMWR*, n. 35, p. 152-5, 1986.
 88. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control, (60), 1987.
 89. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Public Health Service. Guidelines for counseling and antibody testing to prevent HIV infections and AIDS. *MMWR*, n. 36, 509-15, 1987.
 90. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention, (69), 1996.

91. MCGRAY, E. Occupational risk of the acquired immunodeficiency syndrome among health-care workers. *N England J Med*, Cooperative needlestick studt group, n. 314, p. 1.127-32, 1986.
92. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Revision of the case definition of acquired immunodeficiency syndrome for national reporting. *MMWR*, n. 34, p. 375-5, 1985.
93. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Diagnosis and management of mycobacterial infection and disease in persons with T-lymphotropic vírus type ill lymphadenopathy-associated virus infection. *MMWR*, n. 35, p. 448-52, 1986.
94. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Revision of the Centers for Disease Control surveillance case definition for acquired immunodeficiency syndrome. *MMWR*, n. 36, (Supl 1), p. 1S-15S, 1987.
95. HENEINE, W. et al. (57), 1998.
96. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. (56), 1997.
97. JARVIS, W. R. *Precautions for Creutzfeldt-Jakob disease infect control*. [S.l.: s.n.] n. 3. 1982. p. 238-239.
98. GAJDUSEK, D. C. et al. Precautions in the medical care and handling materials from patient with transmissible virus dementia, Creutzfeldt-Jakob Disease, *N Engl J Med*, n. 297 p. 1.253-1.258, 1977.
99. BROWN, P.; WOLFF, A.; GAUDSEK, D. C. A simple and effective method for inactivating virus infectivity in formalin-fixed tissue samples from patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology*, n. 40, p. 887-890, 1990.
100. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Recommendations of the advisory committee on immunization practices – ACIP. *MMWR*, v. 40, n. RR-12, 1991.

101. SUBCOMMITTEE ON ARBOVIRUS LABORATORY. Safety for arboviruses and certain other viruses of vertebrates. *Am J Trop Med Hyg*, v. 29, n. 6, p. 1.350-1.381, 1980.
102. HANSON, P. R. et al. Human infections with the virus of vesicular stomatitis. *J Lab Clin Med*, n. 36, p. 754-758, 1950.
103. PATTERSON, W. C.; MOTT, L. O; JENNEY, E. W. A study of vesicular stomatitis in man. *J Am Vet Med Assoc*, v. 133, n. 1, p. 57-62, 1958.
104. PATTERSON, W. C.; MOTT, L. O. JENNEY, E. W. (87), 1958.
105. SUBCOMMITTEE ON ARBOVIRUS. Laboratory safety for arboviruses and the certain other viruses of vertebrates. (85), 1980.

Referências Bibliográficas. Seção VII G

1. INTERNATIONAL catalog of a rboviruses including certain other viruses of vertebrates. In: KARABATSOS, N. (Ed.). *The subcommittee on information exchange of the American Committee on Arthropod-borne Viruses*. 3. ed. San Antonio, TX: American Society for Tropical Medicine and Hygiene, 1985.
2. SUBCOMMITTEE ON ARBOVIRUS. Laboratory Safety for arboviruses and certain other viruses of vertebrates. *Am J Trop Med Hyg*, v. 29, n. 6. p. 1.359-1.381, 1980.
3. HANSON, R. P. et al. Arbovirus infections of laboratory workers. *Science*, n. 158, p. 1.283-1.286, 1967.
4. PIKE, R. M. Laboratory associated infections: summary and analysis of 3.921 cases. *Htlh Lab Sci*, n. 13, p. 105-114, 1976.
5. SUBCOMMITTEE ON ARBOVIRUS LABORATORY. Safety for arboviruses and certain other viruses of vertebrates. (2), 1980.
6. HANSON, R. P. et al. (3), 1967.
7. PIKE, R. M. (4), 1976.

8. SUBCOMMITTEE ON ARBOVIRUS LABORATORY. Safety for arbovirus and certain other viruses of vertebrates. (4), 1980.
9. MATHIOT, C. C. et al. An outbreak of human semliki forest virus infections in Central African Republic. *Am J Trop Med Hyg*, n. 42, p. 386-393, 1990.
10. HEINZ, F. X.; KUNZ, C. Molecular epidemiology of tick-borne encephalitis virus: peptide mapping of large non structural proteins of European isolates and comparison with other flaviviruses. *J. Gen. Virol*, n. 62, p. 271, 1982.
11. CALISHER, C. H. Antigenic classification and taxonomy of flaviviruses (Family Flaviviridae) emphasizing a universal system for the taxonomy of viruses causing tick-borne encephalitis. *Acta Virol*, n. 32, p. 469, 1998.
12. WALLNER, G. et al. Characterization and complete genome sequences of high and low-virulence variants of tick-borne encephalitis virus. *J. Gen. Virol*, n. 77, p. 1.035, 1996.
13. KILLEY, M. P. et al. Filoviridae: a taxonomic home for marburg and ebola viruses? *Intervirology*, n. 18, p. 24-32, 1982.
14. EDMOND, R. T. D. et al. A case of ebola virus infection. *Br Med J*, n. 2, p. 541-544, 1977.
15. HANSON, R. P. et al. (3), 1967.
16. HENNESSEN, W. Epidemiology of marburg virus disease. In: MARTINI, G. A.; SIEGERT, R. (Ed.). *Marburg virus disease*. New York: Springer-Verlag. 1971. p. 161-165.
17. LEIFER, E.; GOCKE, D. J.; BOURNE, H. Lassa fever, a new virus disease of man from West Africa: II report of a laboratory-acquired infection treated with plasma from a person recently recovered from the disease. *Am J Trop Hyg*, n. 19, p. 677-9, 1970.
18. PIKE, R. M. (4), 1976.
19. SUBCOMMITTEE ON ARBOVIRUS LABORATORY. Safety for arboviruses and certain other viruses of vertebrates. (2), 1980

20. WEISSENBACHER, M. C. et al. Inapparent infections with junin vírus among laboratory workers. *J Infect Dis*, n. 137, p. 309-313, 1978.
21. LEIFER, E.; GOCKE, D. J.; BOURNE, H. (24), 1970,.
22. WEISSENBACHER, M. C. et al. (27).
23. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Office of Biosafety. *Classification of etiologic agents on the basis of hazard*. 4. ed. [Washington]: Department of Health, Education and Welfare; Public Health, 1974.
24. OLIPHANT, J. W. et al. Q-fever in Laundry workers, presumably transmitted from contaminated clothing. *Am J Hyg*, v. 49, n. 1, p. 76-82, 1949.

Referências Bibliográficas. Apêndice B

1. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. General recommendations on immunization, recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices – ACIP: morbidity and mortality weekly report. *MMWR*, v. 43, n. RR01, p. 1-38, jan. 1994.
2. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. Immunization of health-care workers: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices – ACIP, and the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee – HICPAC. Morbidity and Mortality Weekly Repor. *MMWR*, v. 46, n. RR-18, p.1-42, 1997.

Referências Bibliográficas. Apêndice F

1. TOROK T. J. et al. A large community outbreak of salmonellosis caused by intentional contamination of restaurant salad bars. *JAMA*, v. 278, p. 389-395, 1997.
2. KOLAVIC, S. A. et al. An outbreak of shigella dysenteriae, type 2, among laboratory workers due to intentional food contamination. *JAMA*, v. 278, p. 396-398, 1997.
3. REPORT to Congress on Abnormal Occurrences with occurred in 1995. 3. vent: NIH Incident. *Federal Register*, v. 61, n. 38, p. 7.123-7.124, 1996.

4. ESTADOS UNIDOS. Nuclear Regulatory Commission. NUREG 1.535, ingestion of phosphorous-32 at MIT. Cambridge, MA: Nuclear Regulatory Commission, 1995.
5. ESTADOS UNIDOS. Nuclear Regulatory Commission. Preliminary notification of event or unusual occurrence PNO-1-98-052: subject, intentional ingestion of Iodine – 125 tainted food. [S.l.]: Brown University, 1998.
6. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH – NIH. (Estados Unidos). Issuance of director's decision: the NIH incident. *Federal Register*, v. 62, n. 185, p. 50.018-50.033, Sept. 1997.
7. ATLAS RM. Biological weapons pose challenge for microbiology community. *ASM News*, v. 64, p. 383-389, 1998
8. RUYTS, Theodorus. (Ed.). Laboratory design principles. In: *HANDBOOK of facilities planning*. New York: Van Nostrand Reinhold, p. 257-264, 1990.
9. ESTADOS UNIDOS. Public Health Service. Additional requirements for facilities transferring or receiving select agents: final rule. *Federal Register*, v. 61, p. FR 29.327, 1996.

Referências Bibliográficas. Apêndice G

1. ROBINSON, W. H. *Insect and mite pests in the human environment*. Urban entomolgy. New York: Chapman and Hall, 1996.
2. BENNETT, Gary W.; OWENS, John M. (Ed.). *Advances in urban pest management*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1986.
3. OLKOWSK, William; DAAR, Sheila; OLKOWSKI, Helga. Common sense pest control: least-toxic solutions for four home, garden, pests and community. [S.l.]: The Taunton Press, 1991.
4. ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE CONTROLE DE ROEDORES E DE INSETOS: Disponível em: <<http://www.pestworld.org>>.
5. REDE DE BIOCONTROLE. Disponível em: <http://www.bioconet.com>>.

Referências Bibliográficas. Apêndice H

1. DAVIDSON, W. L.; HUMMLER, K. B-virus infection in man. *Annals of the New York Academy of Science*, v. 85, p. 9.970-979, 1960.
2. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. (Estados Unidos). Safe handling of infectious agents. In: *Biosafety in the laboratory*. Prudent practices for the handling and disposal of infectious material. Washington, DC: National Academ Press, 1989. p. 13-33.
3. MCGARRITY, G. J.; HOERNER, C. L. *Biological safety in the biotechnology industry, laboratory safety: principles and practice*. Washington, DC: ASM Press, 1995.
4. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control. Update: universal precautions for prevention of transmission human Immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. *MMWR*, n. 37, p. 377-382; 387- 388, 1988.
5. ESTADOS UNIDOS. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for prevention of transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis B virus to healthcare and public safety workers. *MMWR*, v. 38, n. S-6, 1989.
6. ESTADOS UNIDOS. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. Occupational exposure to bloodborne pathogens: 29 CFR, part 1910. [S.l.]: n. 1.030, p. 231-243, 1991.
7. MCGARRITY, G. J.; CORIELL, L. L. Procedures to reduce contamination of cells cultures, *In Vitro*, v. 6, n. 4, p. 257-265, 1971.
8. MCGARRITY, G. J. Spread and control of mycoplasmal infection of cell culture. *In Vitro*. v. 12, p. 643-648, 1976.
9. NELSON REES, W. A.; DANIELS, D. W.; FLANDERMEYER, R. R. Cross-contamination of cells in culture. *Science*, v. 212, p. 446-452, 1981.
10. MCGARRITY, G. J.; HOERNER, C. L. (3), 1995.

11. WEISS, R. A. Why cell biologists should be aware of genetically transmitted viruses. *National Cancer Institute Monograph*, v. 48, p. 183-189, 1978.
12. BARKLEY, W. E. Safety considerations in the cell culture laboratory. *Methods Enzymol*, v. 58, p. 6-54, 1979.
13. GRIZZLE, W. E.; SARAH, S. Polt. Guidelines to avoid personnel contamination by infective agents in research laboratories that use human tissues. *Journal of Tissue Culture Methods*, v. 11, p. 191-199, 1988.
14. CAPUTO, J. L. Biosafety procedures in cell culture. *Journal of Tissue Culture Methods*, v. 11, p. 233-227, 1988.
15. CAPUTO J. L. Safety procedures. In: FRESHNEY, R. Ian; FRESHNEY, Mary G. (Ed.). *Culture of immortalized cells*. Wiley-Liss, 1996.
16. OCCUPATIONAIL exposure to bloodborne pathogens (6).

Referências Bibliográficas. Apêndice I

1. ESTADOS UNIDOS Department of the Army. DOD, 32 CFR: part. 626, 628. Biological Defense Safety Program. [19 - -].
2. ESTADOS UNIDOS. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR, art. 1.910. Occupational Safety and Health Standards. [19 - -].
3. ESTADOS UNIDOS. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR, part. 1.910, (2), [19 - -].

Referências Adicionais

1. HEINSOHN, P. A.; JACOBS, R. R.; CONCOBY, B. A. (Ed.). *American industrial hygiene association: biosafety reference*. [Faurfax]: American Industrial Hygiene Association, 1995.
2. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. (Estados Unidos). *Prudent practices in the laboratory: handling and disposal of chemicals*. Washington, DC: National Academy Press, 1995
3. DERELANKO, M. A.; HOLLINGER, M. A. (Ed.). *CRC handbook of toxicology*. Boca Raton: CRC Press, 1995.
4. ELLENHORN, M. J. et al. *Ellenhorn's medical toxicology: diagnosis and treatment of human poisoning*. Baltimore, Williams and Wikins, 1997.

APÊNDICE A

CONTENÇÃO PRIMÁRIA: CABINES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

As cabines de segurança biológica (CSB) estão entre os mais comuns e eficazes dispositivos de contenção primária utilizados em laboratórios que trabalham com agentes infecciosos 1. Os três tipos gerais de cabines (classes I, II e III) possuem características e aplicações que serão descritas neste apêndice.

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

Classe I

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

A cabine de segurança biológica de classe I (fig. 1) é uma cabine ventilada de pressão negativa operada por uma abertura frontal e uma mínima velocidade de face para abertura de trabalho de 75 pés lineares por minuto (lfpm). Todo o ar da cabine é liberado através de um filtro HEPA para dentro ou para fora do laboratório. A cabine de classe I é projetada para a pesquisa geral de agentes microbiológicos de risco moderado e baixo e é útil para a contenção de processadores, liquidificadores e outros equipamentos. Essas cabines não são apropriadas para a manipulação de materiais de pesquisa que sejam vulneráveis à contaminação pelo ar, uma vez que o fluxo interno do ar não-filtrado do laboratório pode carregar microorganismos contaminantes para dentro da cabine.

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

Classe II

A cabine de segurança biológica de classe II (fig. 2) é projetada com um fluxo de ar interior com uma velocidade de 75-100 lfpm, para proteger os funcionários, um fluxo de ar laminar vertical filtrado pelo sistema HEPA, para proteção do produto, e com ar de saída, de exaustão, filtrado pelo sistema HEPA para proteção do meio ambiente. Os padrões do projeto, da construção e da atuação das cabines de classe II, assim como as listas de produtos que atendam a esses padrões, foram desenvolvidos pela National Sanitation Foundation International 2, em Ann Arbor, Michigan. A utilização do padrão e da lista deverá ser o primeiro passo na seleção e aquisição de uma cabine de classe II.

As cabines de classe II são classificadas em dois tipos (A e B) baseados na construção, nas velocidades e nos padrões do fluxo

de ar e nos sistemas de exaustão. Basicamente, as cabines do tipo A são adequadas para pesquisas microbiológicas na ausência de substâncias químicas voláteis ou tóxicas e de radionuclídeos, uma vez que o ar é recirculado dentro da cabine. As cabines do tipo A podem ter exaustão dentro do laboratório ou para fora através de uma conexão metálica que se prende ao sistema de exaustores do edifício.

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

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

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

CSB e a colocação adequada das mesmas em um laboratório são tão importantes na manutenção da capacidade de contenção máxima do equipamento quanto o próprio funcionamento deste.

Classe III

A cabine de segurança biológica de classe III (fig. 3) é uma cabine totalmente fechada e ventilada, à prova de escape de ar, que oferece o mais alto grau de proteção ao pessoal e ao meio ambiente contra aerossóis infecciosos, assim como a proteção de materiais de pesquisa de contaminantes microbiológicos. As cabines de classe III são mais adequadas para o trabalho com agentes perigosos que requerem uma contenção de um nível de biossegurança 3 ou 4.

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

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

Macacão individual de pressão positiva

A proteção individual equivalente à fornecida por cabines de classe III também pode ser obtida pelo uso de uma vestimenta de peça única e ventilada. O trabalhador deverá usá-la quando estiver trabalhando com agentes do nível de biossegurança 3 ou 4 em uma área de risco correspondente e usando CSB de classe I ou II. A roupa individual é mantida sob uma pressão positiva com um sistema de suporte de vida, para prevenir o vazamento dentro da

vestimenta. Nesse sistema de contenção, o trabalhador deverá estar isolado dos materiais de trabalho.

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

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

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

Tabela 8. Comparação entre as cabines de segurança biológica

Tipo	Velocidade frontal	Padrão de fluxo do ar	Radionuclídeos/substâncias químicas	Níveis de biossegurança	Proteção do Produto
Classe I* com a frente aberta	75	Frontal, atrás e acima através do filtro HEPA.	Não	2, 3	Não
Classe II Tipo A	75	70% de ar recirculado através do HEPA; exaustão através do HEPA.	Não	2, 3	Sim
Tipo B1	100	30% de ar recirculado através do HEPA; exaustão de ar via HEPA e dutos.	Sim (níveis baixos/volatilidade)	2, 3	Sim

continua

APÊNDICE A

CONTENÇÃO PRIMÁRIA: CABINES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

continuação

Tipo	Velocidade frontal	Padrão de fluxo do ar	Radionuclídeos/substâncias químicas	Níveis de biossegurança	Proteção do Produto
Tipo B2	100	Nenhuma recirculação do ar; total exaustão via HEPA e dutos.	Sim	2, 3	Sim
Tipo B3	100	Idêntica às cabines II A, mais o sistema de ventilação plena sob pressão negativa para sala e exaustão através de dutos.	Sim	2, 3	Sim
Classe III	NA	Entradas e saída do ar através do filtro HEPA 2.	Sim	3, 4	Sim

* Os compartimentos para as luvas poderão ser acrescentados e aumentarão a velocidade frontal para 150 fpm. As luvas podem ser adicionadas com a liberação da pressão da entrada de ar, que permitirá o trabalho com radionuclídeos/substâncias químicas.

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

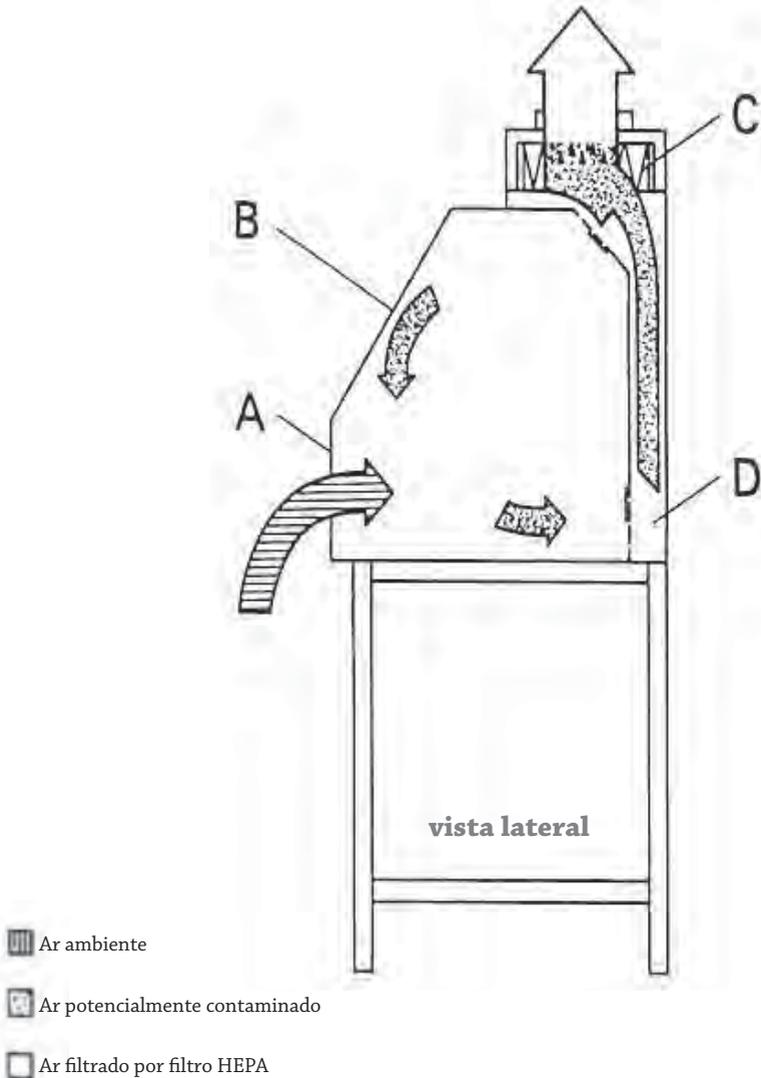


Figura 2a. Cabine de segurança biológica classe II, tipo A.
 (A) Abertura frontal. (B) Vidraça corrediça. (C) Filtro HEPA para exaustão. (D) Espaço posterior. (E) Filtro HEPA para suprimento de ar. (F) Ventilador.

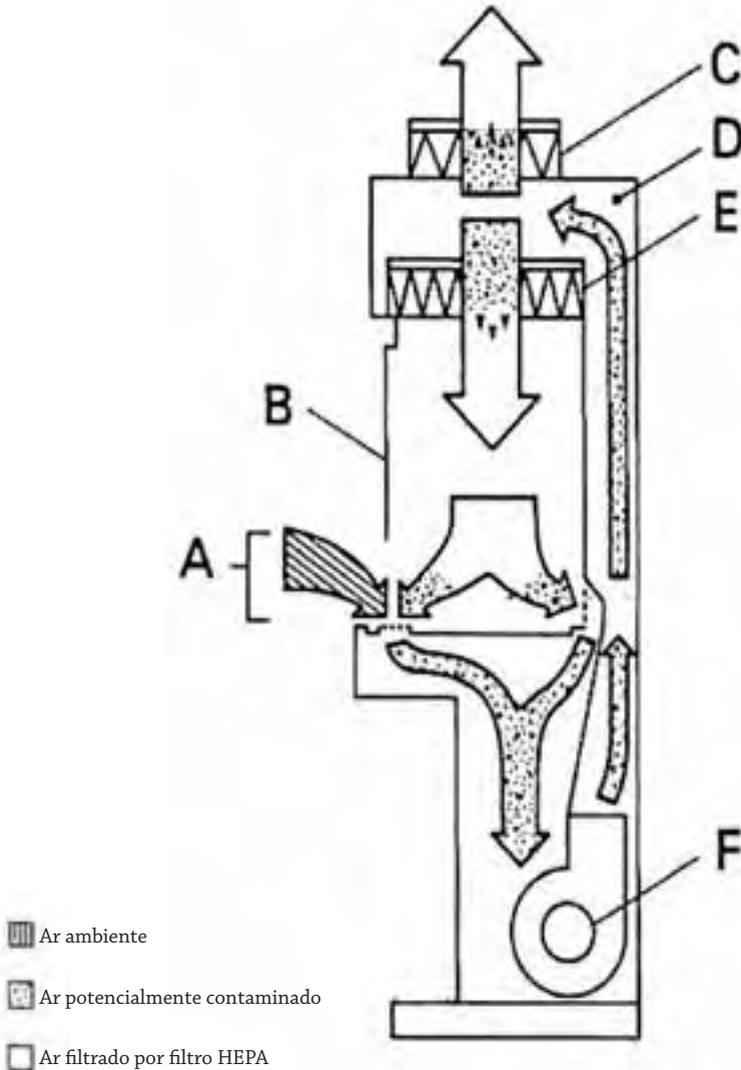
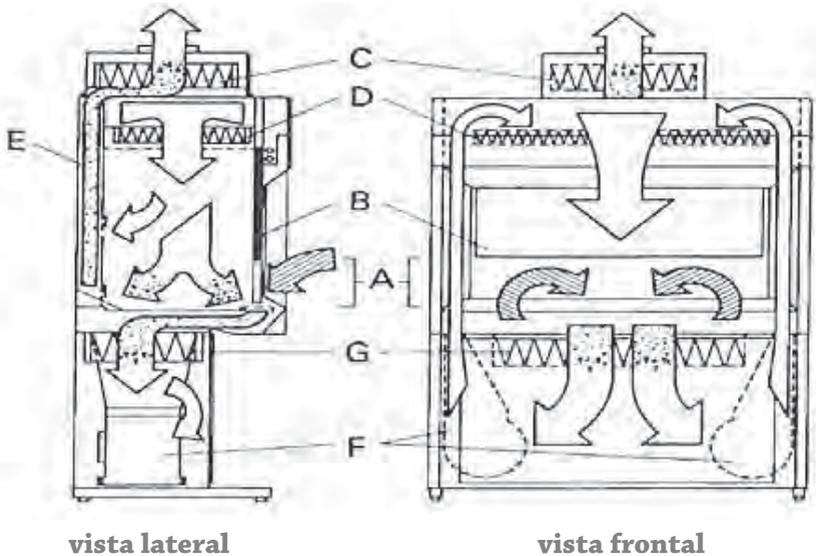


Figura 2b. Cabine de segurança biológica classe II, tipo B1 (desenho clássico). (A) Abertura frontal. (B) Vidraça corredeira. (C) Filtro HEPA para exaustão. (D) Filtro HEPA para suprimento de ar. (E) Espaço de exaustão com pressão negativa. (F) Ventilador. (G) Filtro HEPA adicional para suprimento de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

CONEXÃO NECESSÁRIA DE SISTEMA DE EXAUSTORES DO EDIFÍCIO

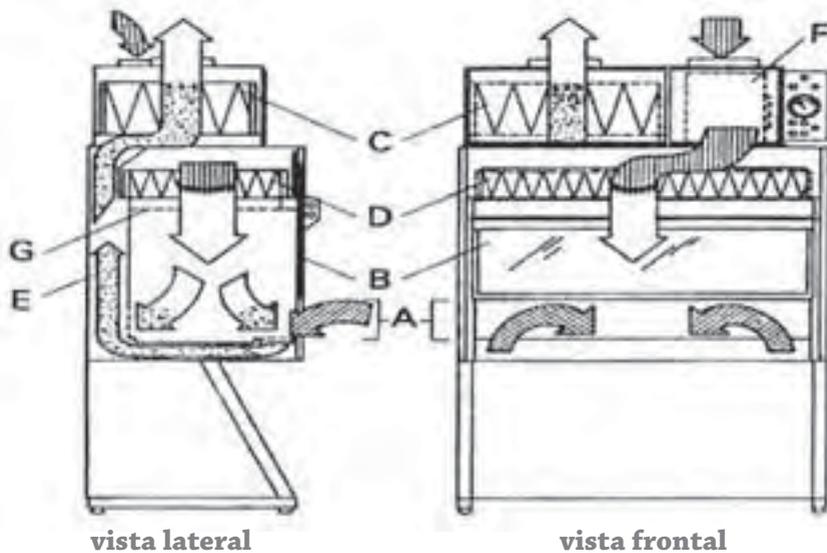


-  Ar ambiente
-  Ar potencialmente contaminado
-  Ar filtrado por filtro HEPA

Figura 2c. Cabine de segurança biológica classe II, tipo B2.
 (A) Abertura frontal. (B) Vidraça corrediça. (C) Filtro HEPA para exaustão. (D) Filtro HEPA para suprimento de ar. (E) Espaço de exaustão com pressão negativa. (F) Tela do filtro.

OBSERVAÇÃO: O filtro de carbono do sistema de exaustores do edifício não está mostrado nesta figura. O ar de exaustão na cabine deverá ser conectado ao sistema de exaustores do edifício.

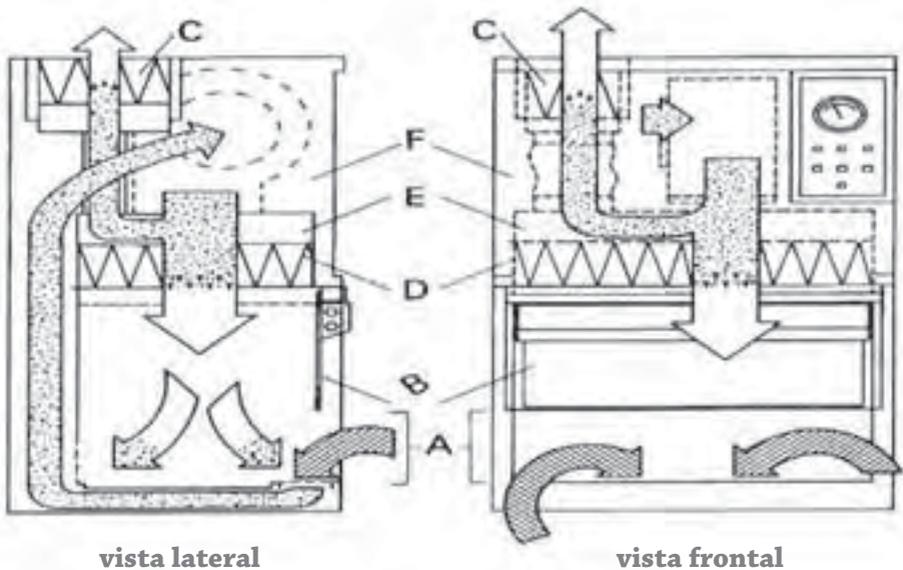
CONEXÃO NECESSÁRIA DE SISTEMA DE EXAUSTORES DO EDIFÍCIO



-  Ar ambiente
-  Ar potencialmente contaminado
-  Ar filtrado por filtro HEPA

Figura 2d. Cabine de segurança biológica classe II, tipo B3 (modelo de mesa). (A) Abertura frontal. (B) Vidraça corrediça. (C) Filtro HEPA de exaustão. (D) Filtro HEPA para suprimento de ar. (E) Espaço de pressão positiva. (F) Espaço de pressão negativa. **OBSERVAÇÃO:** Os exaustores da cabine deverão ser conectados aos sistemas de exaustores do edifício.

CONEXÃO NECESSÁRIA DE SISTEMA DE EXAUSTORES DO EDIFÍCIO



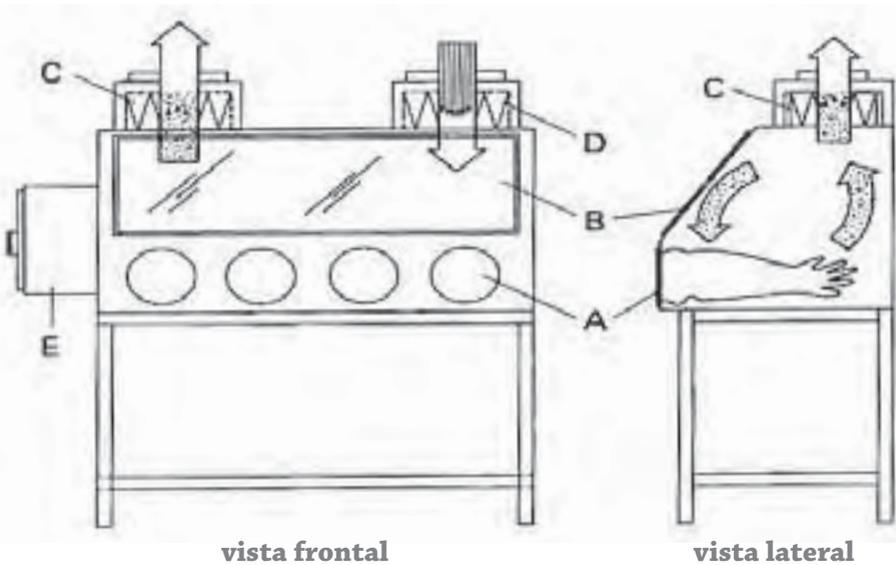
-  Ar ambiente
-  Ar potencialmente contaminado
-  Ar filtrado por filtro HEPA

Figura 3. Cabine de segurança biológica classe III.

(A) Compartimento para fixação de luvas longas de borracha à cabine. (B) Vidraça corrediça. (C) Filtro HEPA para exaustão. (D) Filtro HEPA para o suprimento de ar. (E) Autoclave dupla saída na extremidade ou caixa de passagem da cabine.

OBSERVAÇÃO: Um tanque de imersão química pode ser instalado e deverá ser colocado abaixo da superfície de trabalho da CSB com o acesso por cima. O sistema de exaustores da cabine necessita ser conectado a um sistema de exaustores independente.

CONEXÃO NECESSÁRIA DE SISTEMA DE EXAUSTORES DO EDIFÍCIO



- Ar ambiente
- Ar potencialmente contaminado
- Ar filtrado por filtro HEPA

APÊNDICE B

IMUNOPROFILAXIA

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

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

As recomendações para o uso de vacinas adaptadas da lista mencionada no *Public Health Service Advisory Committee on Immu-*

nization Practices estão incluídas no resumo das características dos agentes na seção VII e estão elaboradas nas referências a seguir.^{1, 2} O leitor deverá consultar as recomendações atuais da ACIP publicadas no *CDC Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*. Deve-se dar uma atenção particular para os indivíduos que estão ou que podem se tornar imunodeprimidos, uma vez que as recomendações para a administração de vacinas podem ser diferentes das recomendações indicadas para um adulto imunologicamente competente.

APÊNDICE C

TRANSPORTE E TRANSFERÊNCIA DE AGENTES BIOLÓGICOS

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

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

Transporte

Os regulamentos sobre o transporte de agentes biológicos são definidos de forma a assegurar proteção ao público e aos trabalhadores da rede de transporte contra a exposição a qualquer agente que possa estar presente na embalagem. A proteção é obtida por meio de: (a) requisitos para um rigoroso acondicionamento que suporte manipulações bruscas e a contenção de todo o material líquido dentro da embalagem sem que ocorra vazamento para o lado de fora; (b) rotulagem adequada das embalagens com

o símbolo de risco biológico e outros rótulos que alertem os trabalhadores da rede de transporte sobre o conteúdo perigoso da embalagem; (c) documentação sobre o conteúdo perigoso da embalagem contendo informações necessárias para o caso de uma situação de emergência; e (d) treinamento de trabalhadores da rede de transporte para que possam se familiarizar com os conteúdos perigosos, de forma que sejam capazes de responder às situações de emergência.

Regulamentos

Serviço Público de Saúde. 42 CRF Parte 72. Transporte Interstadual de Agentes Etiológicos. Este regulamento está sendo revisado para se harmonizar com outros regulamentos internacionais e dos E.U.A. Uma cópia do regulamento atual poderá ser conseguida pela internet: <<http://www.cdc.gov/od/ohs>>.

Departamento de Transporte. 49 CFR Partes 171-178. Regulamentos para transporte de Materiais Perigosos. Este se aplica aos agentes biológicos e às amostras clínicas. Maiores informações poderão ser obtidas pela internet: <<http://dot.gov.rules.html>>.

Serviço Postal dos Estados Unidos. 39 CFR Parte 111. Envio Postal de Agentes Etiológicos. Codificados no Manual de Postagem Doméstica 124.38: Preparações dos Agentes Etiológicos. Uma cópia do Manual de Postagem Doméstica poderá ser obtida no Setor de Publicação do Governo pelo telefone 1-202-512-1800 ou pela internet: <<http://www.access.gpo.gov>>.

Administração da Segurança e da Saúde Ocupacional (OSHA). 29 CFR Parte 1910.1030: Exposição Ocupacional aos Patógenos do Sangue. Estabelece os requisitos mínimos de acondicionamento e rotulagem para o transporte de sangue e de fluidos corpóreos dentro e fora do laboratório. Maiores informações poderão ser adquiridas no escritório local da OSHA ou pela internet: <<http://osha.gov>>.

Regulamentos sobre Produtos Perigosos (DGR). Associação Internacional de Transporte Aéreo (IATA). Esses regulamentos fornecem os requisitos para o acondicionamento e a rotulagem de substâncias e materiais infecciosos e de amostras clínicas que possuam uma baixa probabilidade de conter substâncias infecciosas. Esses são os regulamentos seguidos pelas empresas aéreas. Eles se

baseiam nos regulamentos do Comitê de Peritos em Transporte de Produtos Perigosos e do Secretariado das Nações Unidas e nas Instruções Técnicas para o Transporte de Produtos Perigosos via aérea, que são fornecidas pela Organização Internacional da Associação Civil (ICAO). A cópia do DGR poderá ser obtida pelo telefone 1-800-716-6326 ou pela internet: <<http://www.iata.org>> ou <<http://who.org>>.

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

A figura 4 mostra o acondicionamento do tipo triplo (*container* primário, embalagem secundária com contenção de água, embalagem externa resistente a impacto) necessário para agente biológico oriundo de doença humana ou de materiais suspeitos de contê-los ou que sabidamente os contêm. Essa embalagem requer a colocação de um rótulo externo, com os dizeres “Substância Infecciosa”, como mostrado na figura 2. A embalagem deverá atender aos testes de performance enfatizados nos regulamentos do DOT, USPS, PHS e da IATA.

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

Transferência

Os regulamentos para a transferência de agentes biológicos visam assegurar que a mudança de posse dos materiais biológicos esteja dentro dos interesses do público e da nação. Esses regulamentos exigem a documentação dos trabalhadores, instalações e justificativa da necessidade de transferência do agente e subsequente aprovação desse processo por uma autoridade federal. Os seguintes regulamentos se aplicam nesta categoria:

Importação de Agentes Etiológicos de Doenças Humanas

42 CFR Parte 71 Quarentena Estrangeira. Parte 71.54 Agentes, Hospedeiros e Vetores Etiológicos. Esse regulamento exige uma licença para a importação (obtida nos Centros de Prevenção e Con-

trole de Doenças) dos agentes etiológicos de doenças humanas e de quaisquer materiais, incluindo animais e insetos vivos que possam contê-los. Um requerimento e maiores informações sobre as licenças para importação poderão ser obtidos pelo telefone 1-888-CDC-FAXX e dando entrada no documento número 101000 ou pela internet: <<http://www.cdc.gov/od/ohs/biosty/imprrtper.html>>.

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

9 CFR Partes 92, 94, 95, 96, 122 e 130. Esses regulamentos exigem que uma licença de importação obtida no Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), no Serviço de Inspeção de Saúde de Plantas e Animais (APHIS) e nos serviços veterinários para importação ou transferência doméstica de agentes etiológicos de criações, aves, outros animais e qualquer outro material que possa conter esses agentes etiológicos. Maiores informações poderão ser obtidas pelo telefone (301) 734-3277 ou pela internet: <<http://aphisweb.aphis.usda.gov/ncie>>.

Importação de Pestes de Plantas

7 CFR Parte 330. Regulamentos Federais de Pestes de Plantas; Geral; Pestes de Plantas; Solo; Pedras e Produtos de Ardósia; Lixo. Esse regulamento exige uma licença para a importação ou a transferência doméstica de pestes botânicas, agentes biológicos de plantas ou de qualquer material que possa contê-los. Maiores informações poderão ser obtidas pelo telefone 301-734-3277 ou pela internet: <<http://aphis.usda.gov/ppq/ppqpermits.html>>.

Transferência de Agentes Biológicos Seleccionados de Doenças Humanas

42 CFR Parte 72.6. Exigências Adicionais para Instalações que Realizam Transferências ou Recebimento de Agentes Seleccionados. Instalações que transferem ou importam agentes seleccionados deverão ser registradas junto ao CDC. Cada transferência de um agente seleccionado deverá ser documentada. Maiores informações poderão ser conseguidas pela internet: <<http://www.cdc.gov/od/ohs/lrsat>>.

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

Departamento de Comércio. 15 CFR Partes 730 a 799. Esses regulamentos exigem que os exportadores de uma grande variedade de agentes etiológicos humanos, plantas e doenças animais, incluindo o material genético e produtos que poderão ser usados na cultura de grandes quantidades de agentes, possuam uma licença para exportação. Maiores informações poderão ser obtidas pelo telefone do DOC Bureau of Export Administration: 202-482-4811 ou pela internet: <<http://www.bxa.fedworld.gov>> ou <<http://www.bxa.doc.gov>>.

As figuras 4 e 5 ilustram o acondicionamento e a rotulação de substâncias e amostras clínicas infecciosas em volumes de menos de 50ml, de acordo com as provisões do subparágrafo 72.3 (a) do regulamento do Interstate Shipment of Etiologic Agents (42 CFR, Parte 72). A revisão depende ainda dos resultados dos requisitos adicionais de rotulação de embalagens, mas até o momento da publicação desta quarta edição do BMBL essas modificações não haviam sido concluídas.

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

Centers for Disease Control and Prevention

Attn: External Activities Program

Mail Stop F-05

1600 Clifton Road N.E.

Atlanta, GA 30.333

Telephone: (404) 639-4418

FAX: (404) 639-2294.

Observe que o nome, o endereço e o número de telefone do remetente deverão ser colocados nos lados externo e interno dos *containers*. Recomendamos ao leitor consultar outras cláusulas adicionais do Department of Transportation (49 CFR, Partes 171-180) Hazardous Materials Regulations.

Figura 4. Embalagem e rotulagem de substâncias infecciosas

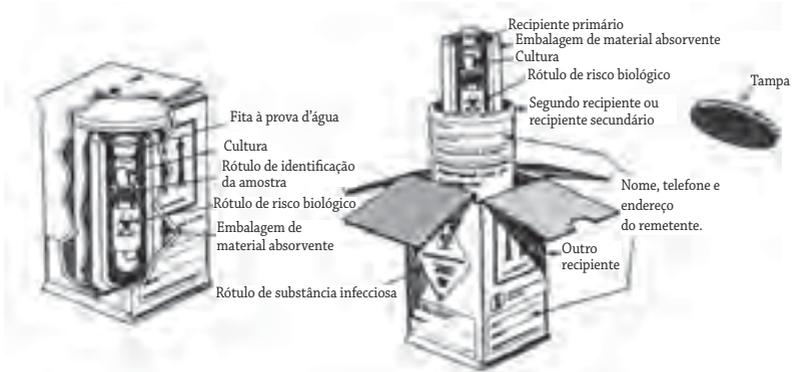


Figura 5. Embalagem e rotulagem de amostras clínicas



APÊNDICE D

PATÓGENOS ANIMAIS

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

Tabela 9. Patógenos animais

Doença do cavalo africano	<i>Mycoplasma mycoides</i> (mycoides)
Vírus da febre suína africana*	Vírus da doença de ovinos africanos (vírus Ganjam)
Vírus da Akabane	Vírus da doença de Newcastle* (cepas velogênicas)
Vírus da influenza aviária	Peste dos pequenos ruminantes* (praga dos pequenos ruminantes)
Besnoitia Besnoiti	Vírus da febre do Vale Rift*
Vírus da língua azul*	Vírus de Rinderspest*
Vírus da doença de Borna	Variola de ovinos e caprinos*
Encefalopatia espongiforme bovina	Vírus da doença vesicular de suínos*
Agente da febre petequial infecciosa bovina	Vírus da doença de Teschen*
Brucella abortus	Theileria annulata
Brucellosis melitensis*	Theileria lawrencei
Burckholderia mallei (Pseudomonas mallei – Glanders)	Theileria bovis

continua

APÊNDICE D

PATÓGENOS ANIMAIS

continuação

Vírus da varíola do camelo	Theileria hirci
Febre suína clássica	Trypanosoma brucei
Cochliomya hominivorax (larva da <i>Cochliomya hominivorax</i>)	<i>Trypanosoma congolense</i>
<i>Cowdria ruminantium</i> (caudriose)	<i>Trypanosoma equiperdum</i> (dourine)
Encefalopatia espongiiforme bovina, variante da doença de <i>Creutzfeldt-Jakob</i>	<i>Trypanosoma evansi</i>
Vírus da febre efemeral	<i>Trypanosoma vivax</i>
Vírus da doença da mão-e-boca*	Encefalomielite equina venezuelana
<i>Histoplasma</i> (<i>Zymonema</i>) <i>farciminosum</i>	Vírus do exantema vesicular
Vírus da encefalite bovina	Estomatite vesicular
Vírus da doença da pele granulosa	Doença hemorrágica viral de coelhos
<i>Mycobacterium bovis</i>	Vírus da doença de <i>Wesselsbron</i>
<i>Mycoplasma agalactiae</i>	

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

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

Maiores informações poderão ser obtidas escrevendo para:

U.S. Department of Agriculture

Animal and Plant Health Inspection Service

Veterinary Services, National Center for Import and Export

4700 River Road, Unit # 40

Riverdale, Maryland 20737-1231

Telefone: (301) 734-3277

Fax: (301) 734-8226

Internet: <http://www.aphis.usda.gov/ncei>

APÊNDICE E

FONTES DE INFORMAÇÕES

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

Centers for Disease Control and Prevention

Attention: External Activities Program

Atlanta, Georgia 30333

Telefone: (404) 639-4418

National Institutes of Health

Attention: Division of Safety

Bethesda, Maryland

Telefone: (301) 496-1357

National Animal Disease Center

U.S Department of Agriculture

Ames, Iowa 50010

Telefone: (515) 862-8258

United States Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration

Exposição Ocupacional aos Patógenos do Sangue, Regra Final

Fed Reg 1991; 56: 64041-64182

http://www.osha-slc.gov/OshStd_data/1910_1030.html.

Regra Proposta para TB:

http://www.osha-slc.gov/FedReg_osh_data/FED19980205.html.

Padrões de Segurança e de Saúde. Ocupacional 29 CFR Parte 1910:

http://www.osha-slc.gov/OshStd_toc/OSHA_Std_toc_1910.html

Normas:**Centros de Prevenção e Controle de Doenças*****Tuberculose:***

1994: <http://www.cdc.gov/nchstp/tb/pubs/250001.pdf>

1997 (labs): <http://www.cdc.gov/od/ohs/tbdoc2.html>

Imunização para Trabalhadores da Área de Saúde:

<http://www.cdc.gov/epo/mmwr/preview/rr4618.html>

Normas para Controle de Infecções em Trabalhadores da Área de Saúde, 1998:

http://www.cdc.gov/ncidod/hip/draft_gu/waisgate.txt

Profilaxia para o HIV:

http://www.cdc.gov/epo/mmwr/mmwr_rr.html

Departamento do Exército, DOD. 32 CFR Partes 626, 627***–Programa de Segurança da Defesa Biológica:***

<http://www.gpo.gov>

Comitê Nacional para Padrões de Laboratórios Clínicos (NCCLS)

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

Institutos Nacionais de Saúde***Normas do NIH para Moléculas de DNA Recombinante:***

<http://www.NIH.gov/od/orda/toc.html>

Escritório do NIH para Atividades com DNA Recombinante:

<http://www.NIH.gov/od/orda>

APÊNDICE F

SEGURANÇA DO LABORATÓRIO E RESPOSTA DE EMERGÊNCIA PARA LABORATÓRIOS BIOMÉDICOS E DE MICROBIOLOGIA

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

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

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

Os seguintes itens são oferecidos como normas para os laboratórios que usam agentes biológicos ou toxinas capazes de causar doenças sérias ou fatais aos homens e aos animais. A maioria desses laboratórios estaria trabalhando sob condições de níveis de biossegurança 3 ou 4 descritas nas seções II e III. Porém, os laboratórios de pesquisa, de produção e os clínicos que trabalham com patógenos recentemente identificados, patógenos animais de alto nível e/ou toxinas não-cobertas pelas recomendações dos ní-

veis de biossegurança 3 ou 4 deverão também seguir essas normas para minimizar as oportunidades de remoção acidental ou intencional dos agentes de um laboratório.

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

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

2. Acesso controlado às áreas onde agentes biológicos ou toxinas estejam sendo usados ou armazenados

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

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

3. *Saber quem está nas áreas do laboratório*

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

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

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

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

- Os materiais/toxinas biológicas que serão removidos para outros laboratórios deverão ser embalados e rotulados de acordo com todos os regulamentos locais, federais e internacionais aplicáveis.⁹
 - a. As licenças necessárias (por exemplo, PHS, DOT, DOC, USDA) deverão ser obtidas antes que os materiais sejam acondicionados e rotulados.
 - b. Os recipientes (de preferência) ou o local de recebimento dos materiais deverão ser conhecidos pelo remetente. Este deverá fazer um esforço para assegurar que os materiais sejam enviados para um local equipado com recursos para manipular os materiais com segurança.
- O transporte manual de materiais e toxinas biológicas para outros laboratórios é considerado inadequado. Se os materiais ou toxinas biológicas a serem carregados manualmente forem transportados por carregadores comuns, todos os regulamentos deverão ser seguidos.
- Materiais contaminados ou possivelmente contaminados deverão ser descontaminados antes de sair da área do laboratório. Os materiais químicos e radioativos deverão ser descartados de acordo com os regulamentos locais, federais e estaduais.

6. *Tenha um plano de emergência*

- O controle do acesso às áreas do laboratório poderá fazer com que os procedimentos de emergência sejam dificultados.

tados. Esse fato deverá ser considerado quando os planos de emergência forem desenvolvidos.

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

7. *Possua um protocolo para relato de incidentes*

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

APÊNDICE G

GERENCIAMENTO INTEGRADO DE ROEDORES E DE INSETOS

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

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

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

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

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

- **PROJETO DO LOCAL:** A inclusão de questões e requisitos para o gerenciamento de roedores e de insetos no planejamento, no projeto e na construção proporciona a oportunidade de incorporar características que auxiliam a impedir a presença de roedores e de insetos, a minimizar o seu habitat e a promover condições sanitárias adequadas. Isso poderá ajudar a reduzir a necessidade de futuros serviços corretivos de gerenciamento de roedores e de insetos, que podem ser um obstáculo para as operações de pesquisa.
- **MONITORAMENTO:** Armadilhas, inspeções visuais e entrevistas com os funcionários são usadas para identificação das áreas e das condições que possam abrigar roedores e insetos. O monitoramento é a atividade central de um programa de GIRI e é usado no lugar de tratamentos preventivos com pesticidas.
- **MANUTENÇÃO DO LOCAL E DO SANEAMENTO BÁSICO:** Muitos dos problemas com roedores e insetos podem ser prevenidos ou corrigidos ao usarmos um saneamento adequado, reduzindo a desordem e o habitat desses. A manutenção de registros das deficiências estruturais e das condições de manutenção do local pode ajudar a detectar problemas e determinar se as ações corretivas foram concluídas de maneira satisfatória.

- **COMUNICAÇÃO:** Um membro da equipe do laboratório pode ser designado para se reunir com os funcionários do gerenciamento de roedores e de insetos, para assisti-los nas resoluções de questões específicas do laboratório que tenham impacto sobre o gerenciamento de roedores e de insetos. As informações sobre as atividades de roedores e de insetos e as recomendações sobre as práticas e as condições do local que possam impactar o gerenciamento de roedores e de insetos devem ser retransmitidos verbalmente ou por escrito para aquelas pessoas. O treinamento dos indivíduos em questões relacionadas à identificação, à biologia e às condições sanitárias pode também promover a compreensão e a cooperação com os objetivos do programa de GIRI.
- **MANUTENÇÃO DE REGISTROS:** Um livro de registro pode ser usado para anotar a atividade dos roedores e dos insetos e as condições pertinentes ao programa de GIRI. O livro poderá conter os protocolos e os procedimentos para os serviços de GIRI naquela instalação, folhas de dados sobre a segurança dos pesticidas, rótulos dos mesmos, registros de tratamento, planos para o uso, relatórios de pesquisa, etc.
- **CONTROLE DE ROEDORES E DE INSETOS SEM O USO DE PESTICIDAS:** Os métodos de controle como o uso de armadilhas, calafetagem ou vedação, lavagem e congelamento podem ser aplicados de forma segura e eficiente, quando usados juntamente com condições sanitárias e reparos estruturais adequados.
- **CONTROLE DE ROEDORES E DE INSETOS USANDO PESTICIDAS:** As aplicações preventivas dos pesticidas deverão ser desencorajadas, e os tratamentos deverão ficar restritos às áreas de atividades conhecidas de roedores e dos insetos. Quando os pesticidas são aplicados, deve-se usar e aplicar produtos menos tóxicos, de melhor eficácia, de maneira segura.
- **AVALIAÇÃO E GARANTIA DE QUALIDADE DO PROGRAMA:** A revisão do programa e a garantia da qualidade deverão

proporcionar uma avaliação contínua e objetiva das atividades e da eficácia do GIRI. Isso é feito para assegurar que o programa esteja realmente controlando os roedores e os insetos e atendendo as necessidades básicas do programa de instalação e de seus ocupantes. Baseado nessa revisão, os protocolos de gerenciamento de roedores e de insetos podem ser modificados e novos procedimentos podem ser implementados.

- **PERÍCIA TÉCNICA:** Um entomologista qualificado pode fornecer um guia técnico útil ao desenvolvimento e à implementação de um programa GIRI. As pessoas responsáveis pelo gerenciamento de roedores e de insetos deverão ser licenciadas e certificadas por uma agência regulamentadora adequada.
- **SEGURANÇA:** Ao limitar o espectro dos tratamentos com pesticidas e ao usarmos práticas de controle sem pesticidas, o programa de GIRI poderá minimizar o potencial de exposição do meio ambiente de pesquisa e da equipe de funcionários ao pesticida.

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

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

roedores e de insetos, os estoques de equipamentos para controle e os consultores ou as firmas de gerenciamento de roedores e de insetos. Há também cursos por correspondência em várias universidades, cursos de curta extensão e conferências de treinamento sobre o gerenciamento estrutural de roedores e de insetos.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS:

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

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

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

INTERNET:

Associação Nacional de Controle de Roedores e de Insetos:
<http://www.pestworld.org>

Rede de Biocontrole:
<http://www.bioconet.com>

APÊNDICE H

TRABALHOS COM CÉLULAS E TECIDOS HUMANOS E DE OUTROS PRIMATAS

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

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

RISCOS POTENCIAIS EM LABORATÓRIOS: Os riscos potenciais laboratoriais associados às células e aos tecidos humanos incluem os patógenos do sangue HBV e HIV, assim como agentes tais como *Mycobacterium tuberculosis* que podem estar presentes nos tecidos pulmonares humanos. Outras células e tecidos de primatas também apresentam riscos aos trabalhadores de laboratório.¹⁰ Riscos potenciais aos trabalhadores de laboratório são apresentados por células transformadas por agentes virais, como as SV-40, EBV ou a HBV, assim como as células que carregam material genético vi-

ral. As células humanas tumorigênicas também podem oferecer potenciais riscos como resultado de uma auto-inoculação.¹¹

PRÁTICAS RECOMENDADAS: Células humanas e de outros primatas deverão ser manipuladas usando as práticas e a contenção do nível de biossegurança 2. Todo o trabalho deverá ser realizado em uma cabine de segurança biológica, e todo o material deverá ser descontaminado pela autoclave ou desinfetado antes de ser descartado.^{12, 13, 14, 15} Todos os funcionários que trabalham com células e tecidos humanos deverão ser registrados no Programa de Patógenos do Sangue e trabalhar de acordo com as normas e políticas estabelecidas pelo Plano Institucional de Controle de Infecção.¹⁶ Os empregados deverão fornecer uma amostra do soro, permitir a sua imunização contra o vírus da hepatite B e ser avaliados por um profissional da área de saúde depois de qualquer exposição incidental.

APÊNDICE I

NORMAS PARA O TRABALHO COM TOXINAS DE ORIGEM BIOLÓGICA

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

O material a seguir foi adaptado do Programa de Segurança da Defesa Biológica e dos Requisitos de Segurança Técnica (DA Pamphlet 385-69)¹ e do apêndice A do *United States Department of Labor Occupational Safety and Health Association regulado por Occupational Exposure to Hazardous Chemicals in Laboratories*.²

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

Geral

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

Práticas Padrão

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

Práticas Especiais

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

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

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

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

Equipamentos de Segurança

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

1. Quando utilizando coifas a vapor com abertura frontal ou cabine de segurança biológica, roupa de proteção, incluindo as luvas e uma capa descartável que cubra o corpo e tenha manga comprida (jaleco, avental ou traje semelhante), estes deverão ser usados de maneira que as mãos e os braços estejam completamente cobertos.
2. Uma proteção para os olhos deverá ser utilizada se um sistema de contenção que possua uma abertura na frente for usado.
3. Outro equipamento poderá ser necessário, dependendo das características da toxina e do sistema de contenção. Por exemplo, use uma proteção respiratória adicional se a formação de aerossóis ocorrer e não for possível o uso de um equipamento de contenção ou de outros controles de engenharia de segurança.
4. Quando manipular formas secas de toxinas que sejam eletrostáticas:
 - a. Não use luvas (como as de látex) que ajudem a formar eletricidade estática.
 - b. Use uma *glove box* ou uma cabine com luvas ou uma cabine de segurança biológica de classe III.
5. Quando manipular toxinas que sejam perigosas para a membrana percutânea (irritantes, que provocam necrose no tecido ou sejam extremamente tóxicas para a exposição dermatológica), selecione luvas que sejam impermeáveis à toxina.

6. Considere a toxina e o diluente quando for selecionar luvas e outras roupas de proteção.
7. Se os agentes infecciosos e as toxinas forem usados juntamente com um sistema experimental, considere os dois quando for selecionar os equipamentos e as roupas de proteção.

Instalações do Laboratório

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

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

ÍNDICE REMISSIVO

A

- Agentes Bacterianos 101
- Agentes Parasitários 132
 - Trematódeos 135, 136
- agentes virais 153, 162, 271
- Agulhas e seringas 34, 42, 52
- Antraz 101, 247
- Arbovírus e Arenavírus 182, 185
- Ascaris spp 137, 138
- Avaliação dos Riscos 23, 26, 85, 89, 90, 92, 96, 97, 100, 180

B

- Bacillus anthracis 101
- Bacillus subtilis 23
- Besnoitia Besnoiti 255
- BMBL 253
- Bordetella pertussis 102
- Botulismo 108
- Bovino 110, 139, 143, 168, 176, 177, 255, 256
 - Abortus 103, 255
 - Canis 103, 201
 - Melitensis 103, 201, 202, 255
 - Suis 103
- Brucelose 13, 14, 103, 104

C

- Cabines de Segurança Biológica 20, 21, 24, 25, 27, 31, 32, 36, 38, 43, 46, 47, 49, 54, 55, 57, 59, 63, 73, 79, 81, 82, 86, 88, 103, 116, 119, 129, 160, 163, 168, 235, 237, 238, 239, 246
- Classe I 64, 88, 119, 129, 168, 235, 236, 238, 239, 241
- Classe II 20, 27, 36, 45, 47, 54, 63, 81, 235, 236, 238, 239, 242, 243, 244, 245
- Classe III 21, 25, 47, 53, 54, 55, 57, 58, 59, 64, 81, 82, 85, 86, 88, 156, 160, 235, 238, 239, 240, 246, 276
- Calomys spp. 192
- Campylobacter 105, 106, 202, 203
- Caudriose 256
- Cercopithecus spp. 192
- Chimpanzés 140, 141, 143, 156, 158, 164, 193
- Citomegalovírus 162
- Clostridium 108, 109
- Coccidioides immitis 127
- Cólera 13, 125, 247
- Conídios 127, 132
- Contenção 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 31, 32, 36, 38, 39, 41, 43, 45, 48, 49, 53, 55, 57, 58, 60, 62, 64, 70, 73, 74, 77, 78, 79, 82, 85, 87, 88, 96, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 133, 135, 138, 150, 154, 155, 158, 162, 163, 164, 165, 167, 170, 173, 177, 181, 186, 188, 189, 193, 235, 236, 238, 239, 249, 251, 255, 259, 262, 272, 273, 274
- Contenção primária 19, 22, 24, 49, 53, 73, 78, 87, 99, 103, 105, 108, 120, 121, 126, 133, 135, 138, 158, 163, 170, 177, 235
- Contenção secundária 19
- Coriomeningite Linfocítica 164, 186
- Coxiella burnetii 24, 149, 218
- Cryptococcus neoformans 128, 209
- CSB. *veja* Cabines de Segurança Biológica

D

- Dengue 179, 181, 182, 188

Descontaminação 22, 24, 30, 31, 33, 35, 37, 40, 43, 45, 46, 48, 49,
51, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 74, 80, 81, 82,
88, 89, 108, 142, 146, 174, 188, 239, 257, 275

Difteria 109, 110

Doença da Floresta de Kyasanur 192, 193

E

Ebola 90, 192, 193, 229

Encefalite 186, 190, 193

Encefalomielite eqüina 179, 185, 186, 190, 256

Envio 104, 109, 112, 126, 127, 128, 150, 152, 154, 156, 169, 181,
185, 193, 249, 250

Equipamento de segurança 16, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 29, 32,
39, 64, 66, 99, 100, 157, 178, 180, 185, 187, 191, 276

Escherichia coli 110, 203

F

Fasciola spp 135

Febre Amarela 185, 186, 187, 188, 190, 247

Febre de Pontiac 115

Febre Hemorrágica de Omsk 193

Febre maculosa das Montanhas Rochosas 151

Febre Q 15, 149, 150

Febre tifóide 122

Filovírus 188, 191, 192, 193

Filtro HEPA 47, 58, 62, 63, 81, 236, 239, 240, 241, 242, 243, 244,
245, 246

Francisella tularensis 111, 112, 203

G

Giardia spp 133

H

Hantavírus 153, 189

Heliobacter pylori 112, 203

Hepatite 14, 15, 23, 24, 27, 34, 41, 70, 75, 91, 97, 100, 141, 149,

156, 157, 158, 247, 272

Herpesvírus 94, 162

Histoplasma 129, 256

 Capsulatum 129, 130

 Farcinosum 256

I

Imunoprofilaxia 97, 247

Influenza 98, 163, 223, 255

Instalações animais 96

K

Kuru 139, 141, 175, 176, 214

L

Laboratórios clínicos 14, 23, 24, 26, 27, 38, 66, 104, 259

Laboratório escafandro 54, 59, 60, 63, 82, 156, 160

Legionella pneumophila 115, 204

Leishmania spp 132, 133

Lepra 116, 117

Limpeza 31, 37, 38, 43, 44, 45, 46, 55, 56, 60, 61, 69, 73, 79, 87, 93,
174, 261, 265

Listeria monocytogenes 114, 204

Luvax 21, 24, 30, 31, 32, 37, 39, 44, 45, 52, 64, 68, 71, 72, 76, 78,
86, 88, 105, 107, 114, 115, 120, 124, 126, 131, 133, 135, 136,
137, 142, 143, 144, 145, 147, 148, 157, 158, 161, 170, 171,
177, 178, 181, 236, 238, 239, 240, 246, 274, 275, 276, 277

M

Machupo 192, 193

Malária 132

Marburg 15, 25, 90, 192, 229

Meningitis 121, 206

Metacercária 135, 136

Meyer e Eddie 13

Moldes 148

Mycobacterium 24, 116, 117, 118, 256, 271
 asiaticum 117
 bovis 117, 118, 119, 120, 255, 256
 fortuitum 117
 kansasii 117
 leprae 116, 117, 118
 malmoense 117
 marinum 117
 scrofulaceum 117
 simiae 117, 159, 161, 162, 222
 szulgai 117
 tuberculosis 17, 24, 27, 97, 117, 118, 119, 196, 197, 205, 271
 ulcerans 117
 xenopi 117
 Mycoplasma agalactiae 256
 Mycoplasma mycoides 255

N

Naegleria 23, 134, 135
 fowleri 134, 135
 gruberi 23
 Neisseria 120, 121
 Níveis de Biossegurança (NB) 16, 17, 22, 23, 26, 29, 32, 40, 64, 65,
 66, 88, 89, 90, 93, 96, 97, 98, 179, 235, 259, 276, 277
 Nível de Biossegurança 1 23, 29, 32
 Nível de Biossegurança 2 23, 24, 27, 32, 39, 99, 100, 101, 103, 104,
 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 115, 116, 117,
 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129,
 130, 131, 132, 133, 135, 136, 137, 138, 140, 141, 142, 143,
 149, 151, 154, 157, 158, 160, 162, 163, 164, 165, 166, 168,
 169, 176, 178, 179, 180, 181, 182, 185, 187, 272
 Nível de Biossegurança 3 24, 25, 38, 39, 42, 48, 99, 100, 102, 103,
 104, 105, 107, 108, 112, 116, 119, 120, 121, 122, 126, 128,
 130, 140, 143, 150, 151, 158, 160, 165, 167, 170, 173, 178,
 179, 181, 185, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 238
 Nível de Biossegurança 4 25, 26, 48, 49, 51, 53, 54, 55, 58, 59, 63,
 160, 191, 192, 193
 Nível de Biossegurança Animal 1 66

- Nível de Biossegurança Animal 2 69, 101, 103, 106, 107, 109, 110, 111, 113, 115, 117, 118, 120, 122, 123, 125, 127, 128, 129, 130, 131, 151, 157, 158, 165, 166
- Nível de Biossegurança Animal 3 74, 104, 112, 150, 165
- Nível de Biossegurança Animal 4 82
- Normas 2, 3, 9, 16, 17, 30, 32, 33, 34, 35, 36, 40, 41, 42, 48, 64, 67, 68, 70, 71, 72, 75, 76, 77, 82, 84, 85, 90, 93, 145, 161, 174, 249, 255, 258, 259, 260, 263, 272, 273, 274, 276
- Nova droga de pesquisa 108, 247

O

- Objetos cortantes 32, 35, 42, 43, 53, 68, 148, 172, 239

P

- Patógenos 17, 23, 24, 27, 28, 42, 51, 96, 140, 142, 159, 162, 172, 250, 255, 256, 257, 259, 265
- Patógenos animais 28, 255, 256, 259
- Patógenos do sangue 159, 271, 272
- Pipetagem 30, 32, 40, 104
- Poliovírus 165, 166, 167, 223
- Poxvírus 167, 168
- Praga 255
- Práticas laboratoriais 29
- Precauções universais 16, 90, 95, 171
- Presbytis spp 192
- Primates 68, 73, 116, 117, 118, 119, 123, 137, 151, 156, 157, 158, 161, 164, 165, 171, 172, 173, 175, 176, 192, 193, 271, 272
- Príons 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 176
- Projeto da instalação 19, 48
- Protozoários parasitas 133, 135
- Pseudomonas 105, 255
- pseudomallei 105
- Psittaci 106, 107

Q

- Quantidades de produção 98, 99, 116, 120, 121, 122

R

- Reações alérgicas 137
Retrovírus 94, 170, 172, 173, 175
Rickettsia 150, 219
 akari 150
 australis 150
 conorii 150
 coxiella burnetii 218
 grupo da febre maculosa 151
 mooseri 150
 prowazekii 150
 rickettsii 151, 152, 219
Riscos laboratoriais 97, 98, 113, 145, 187

S

- Salmonella 121, 122, 206
SALS 66, 178, 179, 180, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192
Schistosoma spp 135
Shiguella spp 123
Sífilis 123, 124
Símio 175
Sujeira 31

T

- Taenia solium 136
Tatus 117
Tecnologias do DNA recombinante 94
Tétano 13, 109, 110
Toxinas de origem biológica 273
Toxóides 97
Toxoplasma spp 24, 133
Transporte e Transferência de Agentes Biológicos 249
Treponema pallidum 123
Trypanosoma 132, 256
 cruzi 132, 133, 212
 evansi 256
 vivax 256

Tuberculose 14, 15, 34, 41, 100, 117, 118, 119, 258

Tularemia 14, 111, 203, 247

V

Vacinas 19, 23, 90, 97, 98, 99, 103, 104, 105, 106, 107, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 152, 157, 158, 161, 165, 177, 178, 179, 181, 185, 188, 247, 248

Vacína 94, 167, 168

Variola 15, 151, 168, 255, 256

Vigilância 36, 44, 51, 54, 64, 67, 70, 72, 75, 77, 83, 86, 88, 93, 120, 152, 153, 170, 175, 273, 274

Vírus da doença de Borna 255

Vírus da Estomatite Vesicular (VSV) 177

Vírus da febre do Vale Rift 188, 255

Vírus da febre efemeral 256

Vírus da imunodeficiência humana 16, 100, 170

Vírus da raiva 169

Vírus hendra 220

Vírus Junin 92, 188, 192

Y

Yersinia pestis 125

EQUIPE TÉCNICA E EDITORIAL

Editores da Obra Original – 1999

Jonathan Y. Richmond, Ph. D. – Diretor do Escritório de Saúde e Segurança

Serviço de Saúde Pública
Centros de Prevenção e Controle da Doença
1600 Clifton Road N. E.
Atlanta, Geórgia, 30333

Robert W. McKinney, Ph. D. – Diretor da Divisão de Segurança

Serviço de Saúde Pública
Institutos Nacionais de Saúde
Building 31, Room 1C02
Bethesda, Maryland, 20892

Editores Convidados

Centers for Prevention and Control of the Diseases (United States)

Robert B. Craveb, M. D. – Chefe do Departamento de Epidemiologia

Divisão de Doença Provocada por Arbovírus
Centro Nacional de Doenças Infecciosas

Mark L. Eberhard, Ph. D. – Chefe da Divisão de Biologia e Diagnósticos

Divisão de Doenças Parasitárias
Centro Nacional de Doenças Infecciosas

Thomas Folks, Ph. D. – Chefe da Divisão de HIV e Retrovirologia

Divisão de AIDS, DST e Laboratório de Pesquisa.
Centro Nacional de Doenças Infecciosas

Bradford Kay, Dr. P. H. – Consultor Sênior do Laboratório da Divisão de Bacteriologia e Doenças Micóticas.

Centro Nacional de Doenças Infecciosas

Richard C. Knudsen, Ph. D. – Chefe do Laboratório de Segurança

Secretaria da Saúde e Segurança

Brian W. J. Mahy, Sc. D, Ph. D. – Diretor da Divisão de Doenças Virais e Rickettsiais.

Centro Nacional de Doenças Infecciosas

C.J. Peters, M. D. – Chefe da Divisão de Patógenos Especiais

Centro Nacional de Doenças Infecciosas

Margaret A. Tipple, M. D. – Chefe do Programa de Atividades Externas

Secretaria da Saúde e Segurança

National Institute of Health (United States)

John Bennett, M. D. – Chefe da Seção de Micologia do Instituto

Nacional de Alergias e Doenças Infecciosas

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

Página 4 - A IV

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

Departamento de Segurança

Editores Individuais Convidados

Jonathan Crane, A. I. A. – Arquiteto

Atlanta, GA

Peter J. Gerone, Sc. D. – Diretor do Centro de Pesquisa Regional de Primatas de Tulane

Centro Médico da Universidade de Tulane
Convington, Louisiana

Thomas Hamm, D. V. M., Ph. D. – Consultor

Cary, NC

Debra L. Hunt, Dr. P. H. – Diretor da Segurança Biológica e Controle de Infecções

Centro Médico da Universidade de Duke
Durham, North Carolina

Peter Jahrling, Ph. D. – Cientista Senior de Pesquisa

Divisão de Avaliação da Doença
USAMRIID
Frederick, Maryland.

Thomas Kost, Ph. D. – Chefe do Departamento de Ciências Moleculares

Glaxo Welcome, Inc.
Research Triangle Park, NC

Editor Técnico

Marie J. Murray – Editor – Escritora

Atlanta, GA

Editores da Obra Traduzida

Organização da 1.ª Edição em Português – 2001

Coordenação Nacional de Laboratórios de Saúde Pública

Centro Nacional de Epidemiologia

Fundação Nacional de Saúde

Equipe Técnica

Ana Rosa dos Santos
Maria Adelaide Millington (Coordenadora)
Mário Cesar Althoff

Revisão Técnica da Tradução

Núcleo de Biossegurança/NuBio
Vice-Presidência de Tecnologia
Fundação Oswaldo Cruz

Equipe Técnica

Bernardo Elias Corrêa Soares
Francelina Helena Alvarenga Lima e Silva
Leila Macedo Oda (Coordenadora)
Sheila Sotelino da Rocha
Telma Abdalla de Oliveira Cardoso

Tradução:

Denise Bittar

Revisão Gráfica:

Junio Ferreira da Silva

A coleção institucional do Ministério da Saúde pode ser acessada gratuitamente na Biblioteca Virtual do Ministério da Saúde:

<http://www.saude.gov.br/bvs>

O conteúdo desta e de outras obras da Editora do Ministério da Saúde pode ser acessado gratuitamente na página:

<http://www.saude.gov.br/editora>



EDITORA MS

Coordenação-Geral de Documentação e Informação/SAA/SE
MINISTÉRIO DA SAÚDE

(Normalização, revisão, editoração, impressão, acabamento e exp

SIA, Trecho 4, Lotes 540/610 – CEP: 71200-040

Telefone: (61) 233-2020 Fax: (61) 233-9558

E-mail: editora.ms@saude.gov.br

Home page: <http://www.saude.gov.br/editora>

Brasília – DF, novembro de 2004

OS 0130/2004