Francisco José Camilo Hernandez

**Projeto e Construção de Laboratórios de
Biossegurança NB3 de Baixo Custo**

São Paulo/SP

2008

Francisco José Camilo Hernandez

**Projeto e Construção de Laboratórios de
Biossegurança NB3 de Baixo Custo**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação Interunidades em
Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT,
para obtenção do Título de Mestre em
Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Edison Luiz Durigon

São Paulo/SP

2008

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Francisco falecido muito precocemente, mas que me deixou um exemplo de retidão e perseverança.

A minha mãe que nos abençoa todos os dias e é um exemplo de fortaleza.

A minha esposa e companheira Márcia Neves que com compreensão tem entendido as minhas ausências.

Aos meus irmãos Lourdes, João, Laura, Mauricio e Marina, companheiros nesta jornada da vida.

Aos meus cunhados e quase irmãos Caetano, Vini, Mila, Márcia e Milton, e meus sobrinhos.

Aos amigos do CDDH 10 de Dezembro que por muito tempo caminhamos juntos lutando por justiça social e em especial ao nosso querido Nilson Caetano, que nos deixou precocemente.

Ao meu analista Jorge Broide e os amigos Eneida, Rachel e Paulo.

Ao Dr. Raul Bollinger Jr., grande figura em sabedoria e generosidade.

Aos amigos Celso Tondi, Jairo Rodrigues, Luis Augusto e José Emilio sempre presentes em minha vida.

Aos amigos da Biosafe, Pedro, César, Dona Domingas, Sr. Ernesto e Bruno animados com essa nova empreitada.

Aos amigos da FOF, em especial a Maria Inês, que entendem a minha ausência.

Aos amigos da CHM.

Aos amigos argentinos Sergio Miguel, Horácio Lujan e Valéria Caruso.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Orientador Prof. Dr. Edison Durigon por me abrir as portas na Universidade e pela sua generosidade e orientação.

Ao Prof. Dr. Paolo Zanotto que me apresentou pela primeira vez a um laboratório de biossegurança NB3 em um filme Super 8.

Aos Professores Eduardo Medeiros e Antonio Pignatari presentes no início da minha carreira em Biossegurança.

Ao Irineu Silva Jr. e Luis Mir presentes no início desse trabalho.

A Anna Collela funcionária da CHM que colaborou na confecção deste trabalho.

Aos alunos do Prof. Durigon que muito me ajudaram no processo do meu retorno aos bancos escolares após tanto tempo afastado deles.

Ao meu irmão João Camilo que revisou com maestria este trabalho.

A Maria Luisa Barbosa (Malu) que muito me ajudou na confecção deste trabalho.

Aos profissionais Antonio Carlos, Delci, Edvan e Elenildo.

Aos colaboradores da SMART, principalmente Celso Tondi, Luis Pinheiro, Truffa, Diego.

A Deck, principalmente Eduardo Longhini, Dalton Roiten e Tânia Agabatuler.

A Trane, principalmente William Seckel, Manuel Gameiro e Diogo Prado.

A Trox, principalmente Celso Simões, Milton Shimada e Flávio V. do Nascimento.

Aos Profs. Cláudio Panutti, João Candeias, Paula Rahal, Maria Inês Pardini, Eurico de Arruda, Mirthes Ueda e Luiz Tadeu pela tolerância e compreensão de que um trabalho inovador tem os seus percalços.

Aos Drs. Diana Pinheiro, Adriana Leite e Cid Alencar do Lanagro de Recife.

RESUMO

Hernandes FJC. Projeto e Construção de Laboratórios de Biossegurança NB3 de Baixo Custo [Dissertação]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2008.

Laboratórios de biossegurança são classificados em quatro níveis de risco (1 a 4), sendo constituídos de combinações de práticas e técnicas de laboratório, equipamento de segurança e instalações do laboratório. Cada combinação é especificamente adequada para as operações realizadas, vias de transmissões documentadas ou suspeitas de agentes infecciosos e em monitoramento das atividades de laboratórios. O objetivo deste trabalho foi o de tornar possível a construção de laboratórios de biossegurança Nível 3 (NB3) com baixo custo, mantendo-se as condições mínimas de biossegurança no aspecto da engenharia. Como resultado seis laboratórios NB3 foram construídos para o projeto da FAPESP, denominado Rede de Diversidade Genética Viral (VGDN), com finalidade de diagnóstico de vírus respiratórios e mais um laboratório para o Ministério da Agricultura, situado no LANAGRO de Pernambuco na cidade de Recife. Esse laboratório, em conjunto com outros cinco, que serão implantados pelo Ministério da Agricultura (Pará, Pernambuco, Goiás, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) terão a finalidade de monitoramento da Influenza Aviária em Aves Migratórias e de Produção em todo território nacional. Os projetos, dos laboratórios da Agricultura, foram realizados e aperfeiçoados com base nos projetos e construções dos NB2+ da rede VGDN. Como resultado, obtivemos um modelo de laboratórios NB3 de baixo custo e manutenção fácil, para serem construídos em todos os Estados brasileiros.

Palavras-chave: Laboratórios NB3, Biossegurança, Projeto, Construções de baixo custo.

ABSTRACT

Hernandes FJC. Projeto e Construção de Laboratórios de Biossegurança NB3 de Baixo Custo [Dissertação]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2008.

Biosafety laboratories are classified into four levels of risk (1 to 4), and consist of combinations of laboratory practices and techniques, safety equipment and facilities of the laboratory. Each combination is particularly suitable for the operations; routes of transmission documented or suspected infectious agents in tracking the activities of laboratories. The objective of this work was to make possible the construction of laboratories for Biosafety Level 3 (BSL3) with low cost, remaining the minimum conditions of biosecurity in the aspect of engineering. As results were built six laboratories BSL3 of FAPESP for the project, called Viral Genetics Diversity Network (VGDN), with the purpose of diagnosis of respiratory viruses and another laboratory for the Ministério da Agricultura, located in LANAGRO of Pernambuco in the city of Recife. This laboratory is part together with other five more laboratories to be deployed by the Ministério da Agricultura , composing a network in six Brazilian states (Pará, Pernambuco, Goiás, Sao Paulo, Santa Catarina and Rio Grande do Sul) with the aim of tracking Influenza in Migratory Birds and production throughout the national territory. The design of the laboratories of Agriculture were made based on projects and constructions of NB2 + VGDN network, and improved learning based on the construction of the laboratories. In conclusion, we obtained a model of laboratories BSL3 of low cost and easy maintenance and possible to be built in all Brazilian states.

Keywords: Laboratories BSL3, Biosafety, Project, Construction of low cost.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Condicionador de ar <i>Wall Mounted</i>	53
Figura 2	Steril-Aire UVC.....	55
Figura 3	Leitora biométrica V-Station.....	58
Figura 4	Porta de entrada do Laboratório do Lanagro de Recife.....	60
Figura 5	Manômetro diferencial – <i>Magnehelic</i>	60
Figura 6	Pesquisadora com EPIs.....	61
Figura 7	Porta de acesso ao laboratório.....	61
Figura 8	Porta de saída do laboratório.....	62
Figura 9	Painel de comando remoto.....	63
Figura 10	Porta de saída do laboratório.....	63
Figura 11	Arquitetura e termomecânica do laboratório NB3 do ICB-II da Universidade de São Paulo.....	64
Figura 12	Fotografia da construção final do laboratório NB3 do ICB-II da Universidade de São Paulo.....	64
Figura 13	Arquitetura e termomecânica do laboratório NB3 do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo.....	65
Figura 14	Fotografia da construção final do laboratório NB3 do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo.....	65
Figura 15	Arquitetura do laboratório NB3 da UNESP de São José do Rio Preto, São Paulo.....	66
Figura 16	Fotografia da construção final do laboratório NB3 da UNESP de São José do Rio Preto – SP.....	67
Figura 17	Fotografia da construção final do laboratório NB3 da UNESP de Botucatu – SP.....	67
Figura 18	Arquitetura e termomecânica do laboratório NB3 do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo.....	68

Figura 19	Arquitetura e termomecânica do laboratório NB3 da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.....	69
Figura 20	Arquitetura e termomecânica do laboratório NB3 do Ministério da Agricultura, LANAGRO de Recife – PE.....	70
Figura 21	Fotografia da construção final do laboratório NB3 do Ministério da Agricultura, LANAGRO de Recife – PE.....	71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Requisitos para área física e instalações conforme o nível de Biossegurança (NB 1 a NB 4).....	49
TABELA 2	Equipamentos necessários para Laboratório de Biossegurança nível NB1 a NB4.....	50
TABELA 3	Planilha Comparativa de Custo.....	74

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Laboratório	13
1.2	Princípios de Biossegurança	18
1.3	Projeto e Construção das Instalações (Barreiras Secundárias)	18
1.4	Níveis de Biossegurança	19
1.4.1	Nível de Biossegurança 1	20
1.4.2	Nível de Biossegurança 2	20
1.4.3	Nível de Biossegurança 3	21
1.4.4	Nível de Biossegurança 4	22
1.5	Características Laboratoriais para o Nível de Biossegurança 3 (NB-3)	23
1.5.1	Práticas Padrões de Microbiologia Aplicáveis ao NB3	23
1.5.2	Práticas Especiais	24
1.5.3	Equipamento de Segurança (Barreiras Primárias)	27
1.5.4	Instalações do Laboratório (Barreiras Secundárias)	28
1.6	Avaliação dos Riscos	31
1.7	Níveis de Biossegurança Recomendados para Agentes Infecciosos e Animais Infectados	32
1.8	Segurança do Laboratório e Resposta de Emergência para Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia	35
1.8.1	Controle de Acesso de Pessoal nas Áreas do Laboratório	37
1.8.2	Controle de Acesso de Entrada de Material nas Áreas do Laboratório	38
1.8.3	Controle de Acesso de Saída de Material nas Áreas do Laboratório	38
1.8.4	Plano de Emergência	38
1.8.5	Protocolo para Relato de Incidentes	39
1.9	Ventilação Geral	39
1.9.1	Filtragem Absoluta	41
2	OBJETIVOS	42
3	MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1	Laboratórios NB3 Clássicos	43
3.1.1	Laboratórios do VGDN/FAPESP	43
3.1.1.1	ICB II	43
3.1.1.2	USP- RIBEIRÃO PRETO	44
3.1.1.3	UNESP-BOTUCATU-SP	45
3.2	LABORATÓRIOS NB3 DE BAIXO CUSTO	45
3.2.1	ICB II	45
3.2.2	INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL-IMT-USP	46
3.2.3	INSTITUTO ADOLFO LUTZ	46
3.2.4	UNESP-BOTUCATU-SP	47
3.2.5	UNESP-SÃO JOSÉ DO RIO PRETO-SP	47
3.2.6	RIBEIRÃO PRETO-USP-SP	47
3.2.7	LANAGRO-RECIFE-PE	47
3.3	Estratégia Arquitetônica: Projeto e Construção	48
3.4	Desenvolvimento de Sistema Despresurizador - Biosafe Air System	50

4	RESULTADOS.....	51
4.1	Descrição do Funcionamento do Sistema.....	51
4.2	Descrição técnica dos principais componentes.....	53
4.2.1	Condicionador de Ar Central tipo Self Contained do tipo wall mounted.....	53
4.2.2	Steril – Aire UVC: Emissor de Radiação Ultravioleta C.....	55
4.2.3	Sistema de insuflamento de ar.....	55
4.2.3.1	Dutos de ar.....	55
4.2.3.2	Difusores de ar.....	56
4.2.3.3	Grelhas.....	56
4.2.4	Sistema de exaustão.....	56
4.2.4.1	Ventilador.....	56
4.2.4.2	Caixa de filtragem.....	56
4.2.4.3	Grelhas de Exaustão	57
4.2.5	Damper de vazão constante.....	57
4.2.6	Antecâmaras e ambiente interno do NB3.....	57
4.2.6.1	Porta de acesso.....	57
4.2.6.2	Visores	57
4.2.6.3	Piso em manta vinílica e paredes em tinta acrílica.....	57
4.2.7	Automação e controle de acesso ao laboratório.....	58
4.2.7.1	Painel de controle microprocessado.....	58
4.2.7.2	Leitora biométrica: V-Station.....	58
4.2.8	Instalações Elétricas.....	59
4.2.8.1	Rede Elétrica.....	59
4.3	Manual de operação.....	59
4.4	Arquitetura e Construção dos Laboratórios NB3.....	64
4.5	Avaliação Comparativa de Custo entre Laboratórios NB3 Clássicos e de Baixo Custo	72
5	DISCUSSÃO.....	74
6	CONCLUSÃO.....	78
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
	ANEXO 1.CLASSIFICAÇÃO DE RISCO.....	82

1 INTRODUÇÃO

1.1 Laboratório

Conforme Houaiss (2001), laboratório é “palavra originada do latim medieval *laboratorium* ‘local de trabalho’, provincianismo pelo francês *laboratoire*, ‘lugar em que são feitas experiências’. Significa o local provido de instalações, aparelhagem e produtos necessários a manipulações, exames e experiências efetuados no contexto de pesquisas científicas, de análises médicas, análises de materiais, de testes técnicos ou de ensino científico e técnico”.

Entende-se por laboratório, segundo Buarque (1996), o “lugar destinado ao estudo experimental de qualquer ramo da ciência, ou à aplicação dos conhecimentos científicos com objetivo prático (exame e/ou preparo de medicamentos, fabricação de explosivos, exame de líquidos e tecidos do organismo, etc.)”.

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. As infecções contraídas em laboratório têm sido descritas por meio da história da microbiologia. Os relatórios de microbiologia publicados na virada do século descrevem casos de tifo, cólera, mormo, brucelose e tétano associados a laboratórios (Weden, 1975).

Meyer e Eddie, em 1941, publicaram uma pesquisa de 74 casos de brucelose, ocorridos nos Estados Unidos, associados ao laboratório, concluíram que a manipulação de culturas ou espécies, ou ainda a inalação da poeira contendo a bactéria *Brucella* é eminentemente perigosa para os trabalhadores de um laboratório. Inúmeros casos foram atribuídos à falta de cuidados ou a uma técnica inadequada de manuseio de materiais infecciosos (Meyer, Eddie, 1941).

Sulkin e Pike (1949) 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 (Sulkin, Pike, 1949).

Sulkin e Pike (1951) publicaram a segunda de uma série de pesquisas baseada em um questionário enviado a 5.000 laboratórios (Sulkin, Pike, 1951). Somente um terço dos 1.342 casos citados foram relatados na literatura. A brucelose

era a infecção mais freqüentemente encontrada nos relatórios, dentre as infecções contraídas em um laboratório, e juntamente com a tuberculose, a tularemia, o tifo e a infecção estreptocócica contribuíam para 72% de todas as infecções bacterianas e 31% das infecções causadas por outros agentes.

O índice total de mortalidade era de 3%. Somente 16% de todas as infecções relatadas estavam associadas a acidentes documentados. A maioria destes estava relacionada ao uso de pipetas, seringas e agulhas. Essa pesquisa foi atualizada em 1965 quando houve um acréscimo de 641 novos casos ou de casos que não haviam sido relatados anteriormente (Pike et al., 1965). Em 1976 houve uma nova atualização, perfazendo um total acumulativo de 3.921 casos. A brucelose, o tifo, a tularemia, a tuberculose, a hepatite e a encefalite eqüina venezuelana eram as infecções mais comumente relatadas. Menos de 20% de todos os casos estavam associados a um acidente conhecido. A exposição aos aerossóis infecciosos era considerada uma fonte plausível, mas não confirmada, de infecção para mais de 80% dos casos em que as pessoas infectadas haviam “trabalhado com o agente” (Pike, 1976).

Hanson e colaboradores (1967) relataram 428 casos patentes de infecções de arbovírus, associados ao 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 (Hanson et al., 1967).

Skinholj (1974) publicou os resultados de uma pesquisa mostrando que o corpo de funcionários dos laboratórios clínicos dinamarqueses relatava uma incidência de Hepatite de 2,3 casos ao ano por 1.000 funcionários, um índice sete vezes maior que o da população em geral (Skinholj, 1974). De maneira semelhante, uma pesquisa, realizada por Harrington e Shannon (1976), 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” (Skinholj, 1974).. A hepatite B e a shigelose também eram conhecidas por serem um continuo risco ocupacional. Junto com a tuberculose, essas eram as três causas mais comuns de infecções associadas a laboratório relatadas na Grã-Bretanha.

Embora os relatórios acima sugerissem que os funcionários de laboratórios corriam um elevado risco de se contaminarem pelos agentes que eles próprios manipulavam, os índices atuais de infecção não se encontram disponíveis. Porém, os estudos de Harrington e Shannon (1976) e os de Skinholj (1974) indicam que as equipes laboratoriais apresentavam maiores índices de tuberculose shigelose e de Hepatite B do que a maioria da população em geral (Harrington, Shannon 1976; Skinholj, 1974).

Ocorrências documentadas de infecções contraídas por funcionários de laboratórios que trabalham com agentes infecciosos não tem representado ameaça à sociedade. Por exemplo, embora 109 casos de infecções associadas a laboratórios tenham sido registrados no Centers for Disease Control and Prevention (CDC) de 1947 a 1973 (Richardson, 1972), nenhum caso secundário foi relatado nos membros da família ou em contatos comunitários. O Centro Nacional de Doença Animal dos Estados Unidos relatou uma experiência 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 (Sullivan, Songer, Estrem, 1978). Através de um caso secundário da Doença de Marburg contraído pela esposa de um caso primário, concluiu-se que a infecção havia sido sexualmente transmitida dois meses após o marido ter recebido alta do hospital (Martini, Schmidt, 1968). Três casos secundários de varíola foram relatados em dois surtos associados a laboratório na Inglaterra (Report of the Committee of Inquiry into the Smallpox Outbreak in London in March and April, 1973; World Health Organization, 1978). Relatos anteriores de seis casos de febre Q entre os funcionários de uma lavanderia comercial, os quais lavavam os uniformes e roupas de um laboratório que manipulava o agente (Oliphant, Parker, 1948), um caso de uma pessoa que visitava o laboratório (Oliphant, Parker, 1948) e dois casos de febre Q em contatos domiciliares de um rickettsiologista (Beeman, 1950) também foram constatados. Existe o relato de um caso de transmissão do herpes vírus B de macaco de um tratador de animais infectados para a sua esposa, aparentemente provocado pelo contato do vírus com a pele lesionada do indivíduo (Holmes et al. 1990). 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, Pike chegou a conclusão que “o conhecimento, as técnicas e o equipamento para a prevenção das infecções laboratoriais já estão disponíveis” (Pike, 1979). Nos Estados Unidos, porém, nenhum código de prática, padrões, diretrizes ou outras publicações proporcionaram descrições detalhadas das técnicas, equipamento e outras considerações ou recomendações para uma maior esfera de ação das atividades laboratoriais conduzidas com uma variedade de agentes infecciosos exóticos e nativos. O folheto Classificação dos Agentes Etiológicos Conforme o Grau de Risco (Centers for Disease Control, Office of Biosafety 1974) 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 Microbiológicos* (BLBM).

Essa quarta edição do BLBM continua a descrever especificamente as combinações 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 (National Institutes of Health, 1994), (National Cancer Institute, Office of Research Safety, and the Special Committee of Safety and Health Experts. 1978), estão de acordo com os critérios gerais originalmente usados para a designação dos agentes infecciosos para as Classes 1-4 na Classificação dos Agentes Etiológicos Baseando-se no Grau de Risco (Centers for Disease Control and Prevention, Office of Biosafety, 1974). Quatro níveis de Biossegurança também são determinados para as atividades de doenças infecciosas utilizando pequenos animais de laboratórios. As recomendações para os níveis de biossegurança para agentes específicos são feitas com base no risco potencial do agente, da função ou da atividade do laboratório.

Desde o início dos anos 80, os laboratórios aplicam esses fundamentos em atividades associadas com manipulações envolvendo o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Mesmo antes do HIV ter sido identificado como o agente causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), os princípios que regulam a

manipulação de um patógeno presente no sangue já eram considerados adequados para um trabalho laboratorial seguro. Normas também foram publicadas para os trabalhadores da área de saúde sob o título de Precauções Universais (Centers for Disease Control and Prevention, 1988). De fato, as recomendações contidas nessa publicação tornaram-se a base do manuseio seguro de sangue e fluidos corporais, como descrito na recente publicação da OSHA, intitulada *Padrão de Patógenos Sanguíneos* (U.S.Department of Labor, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule).

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 (U.S. Congress, 1988). Os princípios estabelecidos nos volumes anteriores do BLBM para o manuseio de dejetos potencialmente infecciosos como um risco ocupacional foram reforçados pela Pesquisa do Conselho Nacional intitulada Biossegurança em Laboratórios: Práticas Prudentes para o Manuseio e Remoção de Materiais Infecciosos (Biosafety in the Laboratory. Prudent Practices for the Handling and Disposal of Infectious Materials, 1989).

No ano de 2000, houve uma preocupação crescente em relação ao reaparecimento do *M. tuberculosis* e a segurança dos trabalhadores de laboratórios e equipamentos da área de saúde. Os princípios descritos no BLBM que tentam assegurar as práticas, procedimentos e instalações de segurança na saúde, são aplicáveis ao controle desse patógeno aéreo, que incluem suas cepas resistentes a inúmeras drogas (multidrogas resistentes) (Centers for Disease Control, 1990, 1992).

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 realizada quando nos referimos a essas atividades e a seus resultados desconhecidos.

A experiência tem demonstrado a importância das precauções tomadas com as práticas, procedimentos e instalações dos Níveis de Biossegurança 1-4, descritas para as manipulações de agentes etiológicos em montagem de laboratórios e dependências animais. Embora não exista nenhum tipo de relatório nos Estados Unidos que descreva as infecções associadas a laboratórios, casos curiosos sugerem que uma rígida adesão a essas normas contribui para um meio de trabalho mais seguro e saudável para a equipe do laboratório, seus colaboradores e a comunidade

ao redor. Para reduzir ainda mais o potencial de risco de infecções associadas a laboratórios, as normas apresentadas nos manuais de biossegurança devem ser consideradas como uma orientação mínima para contenção das infecções. Tais normas devem ser adaptadas para cada laboratório em particular e podem ser utilizadas juntamente com outras informações científicas disponíveis.

1.2 Princípios de Biossegurança

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

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

1.3 Projeto e Construção das Instalações (Barreiras Secundárias)

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

As barreiras secundárias recomendadas dependerão do risco de transmissão dos agentes específicos. Por exemplo, o risco das exposições para a maioria dos trabalhos laboratoriais em dependência de um Nível de Biossegurança 1 e 2 será o contato direto com os agentes ou as exposições inadvertidas por um meio de trabalho contaminado. As barreiras secundárias nesses laboratórios podem impedir o acesso público na área de trabalho e disponibilizar uma dependência para descontaminação, por exemplo, uma autoclave, e uma dependência para higienização das mãos.

Quando o risco de contaminação pela exposição aos aerossóis infecciosos estiver presente, níveis mais elevados de contenção primária e barreiras de proteção secundárias poderão ser necessários para evitar que agentes infecciosos escapem para o meio ambiente. Estas características do projeto incluem sistemas de ventilação especializados em assegurar o fluxo de ar unidirecionado, sistemas de tratamento de ar para a descontaminação ou remoção do ar liberado, zonas de acesso controlado, câmaras pressurizadas como entradas de laboratório, separados ou módulos para isolamento do laboratório. Os engenheiros responsáveis pelo projeto devem levar em consideração as recomendações específicas para ventilação como as encontradas em Manuais de Aplicações para Calefação, Ventilação e Refrigeração (Applications Handbook for Heating, Ventilation and Air-Conditioning – HVAC) publicados anualmente pela Sociedade Americana de Engenheiros de Calefação, Refrigeração e Condicionamento de Ar (American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers (ASHRAE, 1999).

1.4 Níveis de Biossegurança

Os quatro níveis de Biossegurança (NB) são denominados de 1 a 4, e consistem em combinações de práticas e técnicas de laboratório, equipamento de segurança e instalações do laboratório. Cada combinação é especificamente adequada para as operações realizadas, vias de transmissões documentadas ou suspeitas de agentes infecciosos e funcionamento ou atividade do laboratório.

Os níveis de biossegurança recomendados para os organismos representam as condições sob as quais esses agentes podem ser manuseados com segurança. O diretor do laboratório é especificamente e primariamente o responsável pela avaliação dos riscos e pela aplicação adequada dos níveis de biossegurança recomendados.

Geralmente, o trabalho com agentes desconhecidos deve ser conduzido em um nível de biossegurança recomendado pela classificação do agente infeccioso. Quando temos uma informação específica disponível que possa sugerir a virulência, a patogenicidade, os padrões de resistência a antibióticos, a vacina e a disponibilidade de tratamento, ou outros fatores significativamente alterados, práticas mais, ou menos, rígidas poderão ser adotadas.

1.4.1 Nível de Biossegurança 1

As práticas, o equipamento de segurança e o projeto das instalações são apropriados para o treinamento educacional secundário ou para o treinamento de técnicos e de professores de técnicas laboratoriais. Esse conjunto também é utilizado em outros laboratórios onde se realiza o trabalho, com cepas definidas e caracterizadas de microorganismos viáveis e conhecidos por não causarem doenças em homens adultos e saudáveis. Muitos agentes que geralmente não estão associados a processos patológicos em homens são, entretanto, patógeno-oportunistas e que podem causar uma infecção em jovens, idosos e indivíduos imunossupressivos ou imunodeprimidos. As cepas de vacina que tenham sofrido múltiplas passagens in vivo não deverão ser consideradas inofensivas simplesmente por serem cepas de vacinas.

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

1.4.2 Nível de Biossegurança 2

As práticas, os equipamentos, a planta e a construção das instalações são aplicáveis aos laboratórios clínicos, de diagnóstico, laboratórios escolas e outros laboratórios onde o trabalho é realizado com um maior espectro de agentes nativos de risco moderado presentes na comunidade e que estejam associados a uma patologia humana de gravidade variável (Anexo 1).

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 Nível de Biossegurança

2 é adequado para qualquer trabalho que envolva sangue humano, líquidos corporais, tecidos ou linhas de células humanas primárias onde a presença de um agente infeccioso pode ser desconhecida. Os laboratoristas que trabalham com materiais humanos devem consultar o livro da OSHA, Padrão de Patógenos Transmitidos pelo Sangue, para as precauções específicas necessárias (U.S.Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 1991).

Os riscos primários para os funcionários que trabalham com esses agentes estão relacionados com acidentes percutâneos, com as exposições da membrana mucosa ou com a ingestão de materiais infecciosos. Deve-se tomar 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 Câmara de Segurança Biológica (CSB) ou os copos de segurança centrífuga. Outras barreiras primárias, como os escudos para borrifos, proteção facial, aventais e luvas devem ser utilizados de maneira adequada.

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

1.4.3 Nível de Biossegurança 3

As práticas, o equipamento de segurança, o planejamento e construção das dependências são aplicáveis para laboratórios clínicos, de diagnósticos, laboratório-escola, de pesquisa ou de produções. Nesses locais, realiza-se o trabalho com agentes nativos ou exóticos que possuem um potencial de transmissão por via respiratória e que podem causar infecções sérias e potencialmente fatais (Anexo 1). 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 protegemos os funcionários de áreas contíguas, a comunidade e o meio ambiente contra a exposição aos aerossóis potencialmente infecciosos. Por

exemplo, todas as manipulações deverão ser realizadas em uma Cabine de Segurança Biológica ou (CBS) em um outro equipamento de contenção, como uma câmara hermética de geração de aerossóis. As barreiras secundárias para esse nível incluem o acesso controlado ao laboratório e sistemas de ventilação que minimizam a liberação de aerossóis infecciosos do laboratório.

1.4.4 Nível de Biossegurança 4

As práticas, o equipamento de segurança, o planejamento e construção das dependências são aplicáveis para trabalhos que envolvam agentes exóticos perigosos, que representam um alto risco por provocarem doenças fatais em indivíduos. Estes agentes podem ser transmitidos via aerossóis, e até o momento não há nenhuma vacina ou terapia disponível. Os agentes que possuem uma relação antigênica próxima ou idêntica aos dos agentes do Nível de Biossegurança 4 também deverão ser manuseados neste nível. Quando possuímos dados suficientes, o trabalho com esses agentes deve continuar neste nível ou em um nível inferior (Anexo 1).

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

O completo isolamento dos trabalhadores de laboratórios em relação aos materiais infecciosos aerossolizados é realizado preferencialmente 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 liberação de agentes viáveis no meio ambiente.

O diretor do laboratório é o principal responsável pela operação segura do laboratório. O conhecimento e julgamento dele/dela são fundamentais para a avaliação de riscos e para a aplicação adequada destas recomendações. O nível de

Biossegurança recomendado representa as condições sob as quais o agente pode ser manipulado com segurança. As características especiais dos agentes utilizados, o treinamento e experiência dos empregados e a natureza da função do laboratório poderão posteriormente influenciar o diretor quanto à aplicação dessas recomendações.

1.5 Características Laboratoriais para o Nível de Biossegurança 3 (NB-3)

O Nível de Biossegurança 3 é aplicável para o trabalho com agentes exóticos potencialmente fatais, se inalados.

1.5.1 Práticas Padrões de Microbiologia Aplicáveis ao NB3

O acesso ao laboratório deve ser limitado ou restrito de acordo com a definição do diretor do laboratório, quando experimentos estiverem sendo realizados.

Os técnicos devem lavar as mãos após a manipulação de materiais infecciosos, após a remoção das luvas e antes de saírem do laboratório.

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 laboratório deverão também usar óculos de proteção ou protetores faciais.

Os alimentos devem ser armazenados fora do ambiente de trabalho, em armários ou geladeiras utilizadas somente para esse fim.

É proibido pipetar com a boca, devem ser utilizados dispositivos mecânicos.

Devem ser instituídas normas para o manuseio de agulhas.

Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente a fim de minimizar a criação de areossóis.

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

Todas as culturas, colônias e outros resíduos relacionados devem ser descontaminados antes de serem descartados, através de um método de descontaminação aprovado, como por exemplo, autoclavação. Os materiais a serem 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.

Deve ser providenciado um programa rotineiro de controle de insetos e roedores.

1.5.2 Práticas Especiais

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

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

O diretor do laboratório deverá estabelecer normas e procedimentos pelos quais só serão admitidas no laboratório ou nas salas dos animais pessoas que já tiverem recebido informações sobre o potencial de risco, que atendam todos os requisitos para a entrada, por exemplo, imunização, e que obedeçam a todas as regras para entrada e saída no laboratório.

Quando materiais infecciosos ou animais infectados estiverem presentes no laboratório ou no módulo de contenção, deve ser colocado em todas as portas de acesso do laboratório e das salas de animais um sinal de alerta contendo o símbolo universal de risco biológico e a identificação do agente, do nome do pesquisador principal, ou de outro responsável, e endereço completo. O sinal de alerta também deverá indicar qualquer requisito especial necessário para a entrada no laboratório, tais como a necessidade de imunização, respiradores ou outras medidas de proteção individual.

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 de tuberculose) e exames periódicos são recomendados.

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.

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

A equipe do laboratório e a equipe de apoio deverão receber treinamento adequado sobre os riscos potenciais associados ao trabalho desenvolvido, os cuidados necessários para evitar uma exposição perigosa ao agente infeccioso e sobre os procedimentos de avaliação da exposição. A equipe do laboratório deverá freqüentar cursos de atualização anuais ou treinamento adicional, quando necessário e também em caso de mudanças de normas e procedimentos.

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 as práticas e técnicas padrões de microbiologia e demonstrar habilidade também nas práticas e operações específicas do laboratório. Podendo estar incluída uma experiência anterior em manipulação de patógenos humanos ou culturas de células, ou um treinamento específico proporcionado pelo diretor do laboratório ou por outros peritos na área de manejo de práticas e técnicas microbiológicas seguras.

Deve-se tomar uma extrema precaução quando objetos cortantes, incluindo seringas e agulhas, lâminas, pipetas, tubos capilares e bisturis, forem manipulados.

Agulhas e seringas hipodérmicas ou outros instrumentos cortantes devem ficar restritos ao laboratório. Recipientes plásticos devem ser substituídos por recipientes de vidro sempre que possível.

Devem ser usadas somente seringas com agulha fixa ou agulha e seringa em uma unidade descartável, por exemplo, quando a agulha é parte integrante da

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

Seringas que possuem um envoltório para a agulha, ou sistemas sem agulhas e outros dispositivos de segurança deverão ser utilizados quando necessários.

Vidros quebrados não devem ser manipulados diretamente com a mão, devem ser removidos através de meios mecânicos, com uma vassoura e uma pá de lixo, pinças ou fórceps. Os recipientes que contêm agulhas, equipamentos cortantes e vidros quebrados contaminados deverão passar por um processo de descontaminação, antes de serem desprezados, de acordo com os regulamentos locais, estaduais ou federais..

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. A limpeza deverá ser facilitada através do uso de toalhas absorventes, com uma face de plástico voltada para baixo, recobrando as superfícies de trabalho não perfuradas das cabines de segurança biológica.

O equipamento laboratorial e as superfícies de trabalho deverão ser descontaminadas rotineiramente com um desinfetante eficaz após a conclusão do trabalho com materiais infecciosos, especialmente no caso de derramamento, vazamentos ou de outras contaminações por materiais infecciosos.

Vazamentos de materiais infecciosos deverão ser descontaminados, contidos e limpos pela equipe de profissionais especializados, ou por outras pessoas adequadamente treinadas e equipadas, que trabalharemos com material infeccioso concentrado. Os procedimentos para vazamento deverão ser desenvolvidos e notificados. 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.

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

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

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.

Animais e plantas que não estiverem relacionados ao trabalho em desenvolvimento não deverão ser admitidos dentro do laboratório.

1.5.3 Equipamento de Segurança (Barreiras Primárias)

Roupas de proteção como jalecos com uma frente inteira, macacão ou uniforme de limpeza deverão ser usados pela equipe quando estiver dentro do laboratório. A roupa de proteção não deverá ser usada fora do laboratório. Antes de ser lavada essa roupa deverá ser descontaminada e deverá ser trocada depois de contaminada.

Todos deverão usar luvas quando estiverem manuseando materiais infecciosos, animais infectados e equipamentos contaminados.

Recomenda-se a mudança freqüente das luvas, acompanhada de lavagem das mãos. As luvas descartáveis não deverão ser reutilizadas.

Todas as manipulações de materiais infecciosos, necropsias de animais infectados, coleta de tecidos ou líquidos de animais infectados ou de ovos embrionados, etc., deverão ser conduzidas em uma cabine de segurança biológica de Classe II ou de Classe III.

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, centrifugas de segurança e frascos selados.

A proteção facial e o respirador deverão ser usados quando a equipe estiver dentro de salas contendo animais infectados.

1.5.4 Instalações do Laboratório (Barreiras Secundárias)

O laboratório deverá ser separado das áreas de trânsito irrestrito do prédio, com acesso restrito. É exigido um sistema de dupla porta com sistema de intertravamento automático, como requisito básico para entrada no laboratório.

As portas deverão conter fechaduras. Uma sala para a troca de roupas deverá ser incluída no laboratório

Cada sala do laboratório deverá possuir uma pia para higienização das mãos. A pia deverá ser acionada automaticamente sem o uso das mãos e estar localizada perto da porta de saída.

As superfícies das paredes internas, pisos e tetos das áreas, onde os agentes de NB-3 são manipulados, deverão ser construídas e mantidas de forma que facilitem a limpeza e a descontaminação. Toda a superfície deve ser selada e sem reentrâncias.

As paredes, tetos e pisos deverão ser lisos, impermeáveis e resistentes a substâncias químicas e a 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.

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.

Os móveis do laboratório deverão suportar cargas e usos. O Laboratório deverá ter espaçamento suficiente entre móveis, bancadas, cabines e equipamentos para

permitir acesso fácil para a limpeza. As cadeiras e outros móveis utilizados em um laboratório deverão ser cobertos por um material que não seja tecido e possa ser facilmente descontaminado.

Todas as janelas do laboratório deverão ser fechadas e lacradas.

Um método para descontaminação de todos os dejetos do laboratório deverá estar disponível para a equipe e utilizado de preferência dentro do laboratório, por exemplo, autoclave, desinfecção química, incineração, ou outros métodos aprovados de descontaminação. Devem-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.

Deverão existir cabines de segurança biológica em todos os laboratórios. Essas cabines deverão estar localizadas distantes de portas, de venezianas, do almoxarifado e de áreas do laboratório que possuam um grande movimento.

O laboratório deverá ter um sistema de ar independente, com ventilação unidirecional, em que o fluxo de ar penetre no laboratório através da área de entrada. O sistema de ar deverá retirar o ar “contaminado” para fora do laboratório e jogar o ar de áreas “limpas” para dentro dele. 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 do Filtro Absoluto. 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 de ar condicionado, para evitar uma pressurização positiva contínua do laboratório. Alarmes audíveis também são recomendados para notificar a equipe de uma possível falha no sistema de ar condicionado.

O ar exaurido de uma cabine de segurança biológica Classe II, filtrado pelo Absoluto, 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, isto deverá ser feito de tal maneira que previna uma pressurização positiva das cabines.

Centrífugas de fluxo contínuo ou outros equipamentos que possam produzir aerossóis deverão ser refreados através de dispositivos que liberem o ar através de filtros Absoluto, antes de ser descarregado no filtro Absoluto do laboratório. Esses sistemas de filtração Absoluta deverão ser testados anualmente. Uma alternativa seria jogar o ar de saída das cabines para fora, em locais distantes das áreas ocupadas ou das entradas de ar.

As linhas de vácuo deverão ser protegidas por sifões contendo desinfetantes líquidos e filtros Absoluto, ou equivalente. Os filtros deverão ser substituídos quando necessário. Uma alternativa é usar uma bomba a vácuo, portátil, também adequadamente protegida com sifões e filtros.

Dispositivo lava-olhos deve estar disponível no laboratório.

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

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.

Proteções adicionais ao meio ambiente, por exemplo, chuveiros para a equipe, filtros Absoluto 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.

1.6 Avaliação dos Riscos

A palavra “risco” indica a probabilidade de 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 dos trabalhadores e do meio ambiente a um agente perigoso. A intenção desta seção é de 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 formaldeído, depois da descontaminação do laboratório, a avaliação quantitativa poderá ser realizada. Mas em muitos casos, os dados quantitativos estarão incompletos ou ausentes, por exemplo, a investigação de um agente desconhecido ou de uma amostra sem rótulo. Os tipos, subtipos e variantes dos agentes infecciosos envolvendo vetores diferentes ou raros, a dificuldade de avaliar as medidas de um potencial de amplificação do agente e as singulares considerações dos recombinantes genéticos são alguns dos vários desafios na condução segura de um laboratório. Diante 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 responsável pela avaliação dos riscos que implique o estabelecimento de níveis de biossegurança para o trabalho. Isto deverá ser realizado em colaboração com a Comissão de biossegurança à qual o Laboratório está vinculado. No caso da não existência dessa comissão, fica sob responsabilidade do diretor ou pesquisador principal.

Ao realizar a avaliação do risco qualitativo, todos os fatores de risco deverão ser identificados e explorados. Informações relacionadas deverão estar disponíveis, na forma de um manual. Consultas às Normas do NIH de DNA Recombinante, Normas de Biossegurança em Laboratórios Canadenses e Normas de Segurança da Organização Mundial de Saúde deverão ser consideradas. Em alguns casos,

devemos confiar nas fontes de informações, como os dados de campo de um especialista no assunto. Essa informação deverá ser interpretada pela sua tendência em aumentar ou diminuir o risco de uma infecção adquirida em laboratório (Knudsen, 1988).

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

1.7 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. 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 função do laboratório; os procedimentos e manipulações envolvendo o agente; a endemicidade do agente e a disponibilidade de vacinas ou de medidas terapêuticas eficazes.

A relação sumária dos agentes estão apresentados no Anexo 1 e proporcionam um guia para a seleção dos níveis de biossegurança adequados. As informações específicas sobre riscos laboratoriais relacionados com um agente em particular e as recomendações sobre uma conduta segura de procedimentos que possam reduzir significativamente o risco de doenças associadas ao trabalho laboratorial, também se encontram relacionadas no Anexo 1. 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 infecciosos; o potencial para as infecções associadas ao trabalho laboratorial é elevado mesmo na falta de um documento prévio das infecções adquiridas em laboratório; ou as consequências da infecção serão graves.

As avaliações dos riscos e os níveis de biossegurança recomendados nas relações sumárias dos agentes referem-se a uma população de indivíduos imune competentes. As pessoas com a imunocompetência alterada poderão ser 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 consequência de uma infecção pode também ser influenciado por fatores tais como: idade, sexo, raça, gravidez, cirurgias, predisposição a doenças, por exemplo, diabetes, lupus eritematoso, ou uma função fisiológica alterada. Estas e outras variáveis deverão ser consideradas na aplicação das avaliações dos riscos às atividades específicas dos indivíduos selecionados.

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

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

Haverá casos em que o diretor do laboratório terá de selecionar um nível de biossegurança maior que o recomendado. 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, 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.

Nas situações em que é recomendado Nível de Biossegurança 3, pode-se conseguir um nível satisfatório de proteção nas operações rotineiras ou repetitivas, como por exemplo em procedimentos diagnóstico que envolve a multiplicação de agentes 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.

O trabalho de rotina para o diagnóstico do vírus da imunodeficiência humana (HIV) com amostras clínicas pode ser feito com segurança em um nível de Biossegurança 2, usando práticas e os procedimentos do Nível de Biossegurança 2. A pesquisa incluindo co-cultivo, estudos de replicação do vírus, ou manipulações envolvendo o vírus concentrado pode ser feita em instalações NB-2, usando as práticas e os procedimentos do NB-3. As atividades de produção do vírus, incluindo as concentrações virais, requerem instalações NB-3 e o uso de práticas e procedimentos de NB-3 (Anexo 1).

A decisão de adaptar as recomendações do Nível de Biossegurança 3, deverá ser tomada somente pelo responsável do laboratório. Essa adaptação, porém, não é indicada para as operações ou atividades de produção de agentes cujos procedimentos freqüentemente são mudados. O diretor do laboratório também deverá ter uma atenção especial ao estabelecer procedimentos de segurança para os materiais que possam conter um agente suspeito. Por exemplo, soro de origem humana pode conter vírus da Hepatite B e dessa forma, todo o sangue ou fluidos derivados do sangue deverão ser manuseados sob condições que evitem ao máximo a exposição cutânea, da membrana mucosa ou parenteral do pessoal. O escarro enviado ao laboratório para o ensaio do bacilo da tuberculose deverá ser manipulado sob condições que evitem a formação de aerossóis durante a manipulação dos materiais clínicos ou das culturas.

Os agentes infecciosos que atendam os critérios anteriormente estabelecidos estão relacionados pela categoria do agente no Anexo 1. Para usar esses sumários, primeiramente localize o agente na lista através da categoria adequada ao mesmo, depois utilize as práticas, os equipamentos de segurança e o tipo de instalação recomendada nas relações dos agentes, como descrito no Anexo 1, para o trabalho com materiais clínicos, culturas, agentes infecciosos, ou animais infectados.

O responsável do laboratório também será 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.

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

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

Embora os laboratórios clínicos e de pesquisas possam conter uma variedade de materiais biológicos, químicos e radioativos perigosos, até o momento, existem poucos relatórios sobre uso intencional de quaisquer desses materiais para ferir trabalhadores de laboratórios ou outras pessoas (Torok et al, 1997) (Kolavic et al, 1997) (Report to Congresso on Abnormal Occurences with occurred between July.and September, 1995) (U. S. Nuclear Regulatory Comission, 1995, 1998) (NIH, 1997).

Entretanto há uma crescente preocupação sobre o possível uso de materiais biológicos, químicos e radioativos como agentes para o terrorismo (Atlas, 1998) (Ruys, 1990). Em resposta a essas preocupações, as seguintes normas orientam essas questões de segurança laboratorial (por exemplo, prevenção de entrada de pessoas não autorizadas em áreas laboratoriais e prevenção da remoção não autorizada de agentes biológicos perigosos).

Os seguintes itens são oferecidos como normas para os laboratórios que usam agentes biológicos ou toxinas capazes de causarem doenças sérias ou fatais aos homens e aos animais. A maioria destes laboratórios estaria trabalhando sob

condições de Níveis de Biossegurança 3 ou 4. Porém os laboratórios de pesquisa, de produção e laboratórios clínicos que trabalham com patógenos recentemente identificados, patógenos animais de alto nível, e/ou toxinas não cobertas pelas recomendações dos Níveis de Biossegurança 3 ou 4, deverão também seguir essas normas para minimizar as oportunidades de remoção acidental ou intencional desses agentes de um laboratório.

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

Envolver profissionais com experiência em segurança e proteção para avaliação e desenvolvimento das recomendações para um dado local ou laboratório.

Revisar as normas e os procedimentos de segurança regularmente. A administração deverá revisar as normas para garantir que estejam adequadas para as condições atuais e de acordo 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

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-chaves ou dispositivos similares deverão ser usados para permitir a entrada nas áreas do laboratório e nas de cuidado do animal.

Todas as entradas incluindo aquelas entradas para visitantes, trabalhadores de manutenção, trabalhadores para realização de reparos e outros que precisarem entrar ocasionalmente, deverão ser registradas por um dispositivo semelhante a um cartão-chave (preferível) ou através de assinatura no livro de entrada.

Somente os trabalhadores necessários para a realização de um trabalho deverão receber permissão para entrar somente nas áreas e nos horários que um trabalho em particular for realizado.

- a) O acesso para estudantes, cientistas, etc., deverá ser limitado ao horário em que os funcionários regulares estiverem presentes.
- b) O acesso para a limpeza, manutenção e consertos rotineiros deverá ser limitado ao horário em que os funcionários estiverem presentes.

Os freezers, geladeiras, cabines e outros containers, onde estoques de agentes biológicos, materiais clínicos ou radioativos são guardados, deverão ser trancados quando não estiverem à vista dos trabalhadores, por exemplo, quando localizados em áreas de armazenamento não freqüentadas regularmente.

1.8.1 Controle de acesso de pessoal 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. Esses crachás deverão conter no mínimo uma fotografia, o nome do indivíduo e a data de vencimento. O uso de marcadores coloridos ou de outros símbolos facilmente identificáveis sobre os crachás seria útil para a identificação e liberação de entrada em áreas restritas, por exemplo, laboratórios de NB-3 ou 4, áreas de tratamento de animal.

Os visitantes deverão ser identificados com crachás e deverão ser acompanhados ou autorizados a entrar seguindo os mesmos procedimentos usados para os trabalhadores.

1.8.2 Controle de acesso de entrada de material nas áreas do laboratório

Todos os materiais deverão ser verificados, visualmente ou por raios-x, antes de serem introduzidos no 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.

1.8.3 Controle de acesso de saída de material nas áreas do laboratório

Os materiais e toxinas biológicas que serão removidos para outros laboratórios deverão ser embalados e rotulados de acordo com todos os regulamentos locais, federais e internacionais aplicáveis (U.S. Public Health Service, 1996).

- a) As licenças necessárias deverão ser obtidas antes que os materiais sejam acondicionados ou rotulados.
- b) Os recipientes, de preferência, ou o local de recebimento dos materiais deverão ser conhecidos pelo remetente, e este deverá fazer um esforço para assegurar que os materiais sejam enviados para um local equipado com recursos para manipular esses 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 saírem da área do laboratório. Os materiais químicos e radioativos deverão ser descartados de acordo com os regulamentos locais, estaduais e federais.

1.8.4 Plano de Emergência

O controle do acesso às áreas do laboratório poderá fazer com que os procedimentos de emergência sejam dificultados. 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 realizada antes que um plano de emergência seja desenvolvido.

- b) Os administradores, diretores, principais pesquisadores e trabalhadores do laboratório e os trabalhadores responsáveis pela segurança do local deverão estar envolvidos no planejamento de emergência.
- c) A polícia, o corpo de bombeiro ou outras pessoas envolvidas em situações de emergência deverão ser informados quanto aos tipos de materiais biológicos em uso nas áreas laboratoriais e deverão dar uma assistência no planejamento dos procedimentos de emergência nas áreas laboratoriais.
- d) Os planos deverão incluir a 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.

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.

1.8.5 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.

1.9 Ventilação Geral

A ventilação geral pode ser utilizada para diluir e remover o ar contaminado, controlar o fluxo de ar dentro do Laboratório e controlar a direção do fluxo de ar no mesmo.

A diluição é feita pela entrada de ar não contaminado que se mistura ao ar contaminado do Laboratório, que subsequentemente, é removido pelo sistema de exaustão.

No Sistema sem recirculação, o ar é capturado do ambiente externo, filtrado, resfriado e/ou aquecido, filtrado com filtro fino e/ou absoluto e insuflado no ambiente. Após a passagem do ar pelo ambiente beneficiado, 100% do ar que foi insuflado mais o ar que adentrou no ambiente por frestas, em função da pressão negativa, é exaurido para o ambiente externo.

No Sistema com recirculação, uma pequena porção do ar exaurido descarregada para o ambiente externo, e o restante do ar é recirculado. A recirculação poderia resultar em uma concentração de contaminantes. A prevenção para que isso não aconteça pode ser feita com a instalação de filtro Absoluto na exaustão.

A taxa de ventilação recomendada é expressa em numero de trocas por hora (air changes per hour-ACH), sendo esse número igual à vazão de ar que é insuflado no ambiente ($Q\text{-m}^3/\text{h}$) dividido pelo volume do ambiente ($V\text{-m}^3$)

$$\text{ACH} = Q/V$$

O Sistema de ventilação geral deve ser projetado de forma a obter o fluxo de ar adequado nos ambientes, prevenindo a estagnação e o curto-circuito de ar, ou seja, a passagem de ar diretamente do insuflamento para a exaustão. Um método efetivo é o insuflamento de ar estar localizado próximo do teto e a exaustão próxima ao chão.

Os fluxos de ar podem ser influenciados por diferenciais de temperatura, disposição de mobílias, movimentação dos profissionais e configuração do espaço. Testes de fumaça podem ser utilizados para visualizar o fluxo de ar.

O Sistema de ventilação geral deve ser projetado para conter o ar contaminado a fim de prevenir a disseminação para áreas não-contaminadas. O fluxo de ar deve fluir da área menos contaminada para a mais contaminada. O fluxo de ar pode ser conduzido de uma área de maior pressão para uma área de menor pressão. A pressão negativa no ambiente é atingida quando a exaustão de ar é maior que o insuflamento de ar.

Controlar a direção do fluxo de ar entre o ambiente condicionado e as áreas adjacentes previne o escape do ar contaminado para outras áreas.

A pressão negativa pode ser alterada por mudanças no sistema de ventilação, nas portas, nos corredores e janelas que são abertas e fechadas. É essencial que todas as portas e janelas permaneçam fechadas.

A pressão negativa deve ser monitorada por indicador de sentido de fluxo ou pela medida da pressão diferencial entre o ambiente e as áreas adjacentes.

1.9.1 - Filtragem Absoluta

A filtragem absoluta pode ser usada como um método de limpeza do ar. Os filtros Absolutos têm demonstrado eficiência documentada para a remoção mínima de 99,97% de partículas maiores ou iguais a 0,3 μm de diâmetro; são efetivos na redução da concentração de esporos de *Aspergillus* abaixo dos níveis detectáveis.

Quando o sistema de filtragem absoluta é utilizado, é necessário cuidados na instalação para evitar vazamentos entre o filtro, a moldura e a armação que suportará o mesmo.

Um cronograma de manutenção é necessário para monitorar o funcionamento dos filtros e possíveis vazamentos. O teste de vazamento e do desempenho do filtro pode ser realizado com *dioctylphthalate* (DOP), que é um teste de penetração. Este teste deve ser realizado na instalação e a cada troca e a cada um ano em Laboratórios NB3.

Um manômetro ou outro dispositivo de indicação de pressão diferencial deve ser instalado no filtro Absoluto a fim de fornecer dados exatos e objetivos, que determinarão a saturação e necessidade de troca do filtro. A instalação do filtro permitirá a manutenção sem risco de contaminação do sistema, áreas adjacentes e principalmente o profissional de manutenção. Por isso é recomendável a utilização de caixas de filtro do tipo *Bagin Bagout*. O cronograma de manutenção incluirá a remoção e o descarte dos elementos filtrantes, bem como a reinstalação de um novo elemento. A manutenção dos filtros Absolutos será realizada por pessoal treinado, usando EPIs apropriados.

2 OBJETIVOS

O objeto de estudo deste trabalho é a unidade de biocontenção nível de biossegurança 3 de baixo custo aplicada à virologia, enfocando o planejamento arquitetônico de edificações, especialmente o projeto e suas diretrizes, com ênfase nos aspectos relativos à biossegurança. Seu principal objeto de análise são as características prediais do laboratório de biossegurança nível 3.

O primeiro objetivo a destacar, compreende a análise dos aspectos relevantes no planejamento arquitetônico e das instalações de laboratórios de biossegurança no Brasil.

O segundo objetivo envolve a sistematização e a disponibilização de informações aos profissionais envolvidos no planejamento de laboratórios com nível de biossegurança mais elevado, sejam eles arquitetos, engenheiros, bioquímicos, biólogos ou administradores públicos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Laboratórios NB3 Clássicos

3.1.1 Laboratórios do VGDN/FAPESP

3.1.1.1 ICB II

O primeiro laboratório NB3 clássico executado foi no Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, em São Paulo-SP.

Foram retiradas todas as paredes da área onde seria implantado o NB3, em uma área de aproximadamente 60 m². Retirou-se também todo o revestimento do piso. Construiu-se uma parede contígua as paredes existentes, usando-se bloco de concreto autoclavado (Siporex), de 9 cm de espessura, fechando-se inclusive janelas existentes.

Sobre o piso existente construiu-se um novo piso de concreto fechando assim calhas existentes. Antes disso foram retiradas todas as tubulações que lá havia. Foi construído um contrapiso com cantos arredondados junto às paredes.

Na cobertura logo acima do NB3 retirou-se o telhado, impermeabilizou-se a laje, construiu-se bases para os equipamentos, fez-se a cobertura e fechamento da área técnica com alambrado.

No Sistema de Climatização foi instalado um sistema de água gelada contando com um chiller Hitachi de 20 TR e dois conjuntos moto bombas, um condicionador de ar do tipo fancoil bastante robusto, contando com: serpentina de resfriamento, estagio de aquecimento, ventilador centrifugo *limit load*, atenuador de ruído, filtro fino F3, filtro absoluto A3, rede de dutos aparente, toda ela construída em chapa de aço inoxidável AISI 304 e bocas de ar de insuflamento.

O sistema de automação ali instalado controla a pressão negativa dentro do laboratório, mantendo-a constante -40 Pa. Mantém também constantes a temperatura interna e a umidade relativa; e monitora os filtros mostrando se estão limpos ou sujos, isto em função da perda de carga, indicada através de manômetros diferenciais.

Esse laboratório possui um sistema de vedação ativa de portas de entrada e saída. Para seu funcionamento foi necessário instalar um sistema de automação

independente, com PLC e compressores de ar comprimido, para inflar as gaxetas de vedação colocadas nas portas.

O sistema de exaustão de ar que garante a pressão negativa possui dois ventiladores centrífugos de simples aspiração do tipo *limit load*, trabalhando em paralelo e em conjunto, sendo que os dois ventiladores possuem capacidade de, trabalhando sozinhos, conseguirem manter a pressão negativa dentro do Laboratório. No circuito de exaustão foram instaladas duas caixas de filtro do tipo *bagin bagout*, contendo filtros Absolutos, sendo que elas são redundantes. E as caixas possuem dois filtros absolutos em serie, cada uma. Nesse Laboratório foram instaladas duas cabines de biossegurança Classe II B2, as quais trabalham sem recirculação de ar, com 100% de ar externo. Quando se colocou o sistema para funcionar notou-se que quando as cabines de biossegurança eram ligadas, a pressão negativa chegava a valores próximos de -120 Pa, e quando as cabines eram desligadas, por uns instantes a pressão ficava positiva dentro do Laboratório. Então foi promovida uma alteração na instalação, colocou-se um condicionador de ar do tipo *fancoil* com filtros finos para insuflar ar novo nas tomadas de ar das cabines CI II B2.

3.1.1.2 USP-RIBEIRÃO PRETO

O segundo laboratório executado foi o da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto. As intervenções feitas em construção civil foram menores. A construção era nova e na fase do projeto executivo algumas providências foram tomadas a fim de preparar a área para instalação do NB3. As instalações do NB3 foram semelhantes as do laboratório do ICB II

Nesse laboratório uma importante mudança que foi efetuada foi a instalação de três cabines de biossegurança Classe II B3, que são cabines que trabalham com renovação de 30% de ar externo e recirculação de 70% .Em função da experiência vivida no laboratório do ICB II, optamos por este tipo de cabine, pois este tipo de cabine economiza energia térmica e não causa desbalanceamento na pressão negativa do laboratório.

3.1.1.3 UNESP-BOTUCATU-SP

O laboratório seguinte foi o do Hemocentro da Faculdade de Medicina da UNESP de Botucatu. Nesse laboratório foi disponibilizada uma área onde seria instalado o laboratório com divisórias em alvenaria e laje técnica. Na execução do projeto verificou-se que várias paredes existentes teriam que ser retiradas e que algumas com função estrutural. Para isso foi necessária a execução de reforços na laje técnica

O projeto do laboratório NB3 seguiu os mesmos critérios do laboratório da USP de Ribeirão Preto.

3.2 Laboratórios NB3 de Baixo Custo

3.2.1 ICB II

O primeiro a ser executado foi o laboratório de virologia do Departamento de Microbiologia do ICB – USP. Este laboratório possui três áreas em um espaço de 54 m².

Uma área de cultura de células com 9 m², que possui pressão positiva. Tal pressão positiva é obtida por um filtro terminal Absoluto com um ventilador conjugado. Um laboratório vestibular NB2 com área de 27m². E um laboratório NB3, com área de 18m², que é o laboratório NB3 de baixo custo.

No início pensou-se em executar os serviços necessários em um mês. Porém as dificuldades com a mão de obra e com o acréscimo de serviços, ocorridos durante a execução da obra, fizeram com que este prazo se alongasse por quatro meses.

Nesse Laboratório foram executados os seguintes trabalhos:

- Foram retirados todos os revestimentos das paredes existentes na área onde seria implantado o Laboratório, em uma área de aproximadamente 54 m².
- Sobre o piso existente aplicou-se uma manta vinílica com cantos arredondados junto as paredes.
- No Sistema de Climatização foi instalado um sistema de expansão direta contando com dois condicionadores de ar do tipo *Split* para dutos, sendo um de 3 e outro de 5TR com Ventilador centrifugo *limit load*, filtro fino F3, rede de dutos construída em chapa de aço galvanizada e bocas de ar de insuflamento.

- No Sistema de Automação que controla a pressão negativa dentro do Laboratório, mantendo constante a pressão de -40 Pa. A temperatura interna é controlada por um termostato on off. O monitoramento dos filtros, mostrando se estão limpos ou sujos, se dá através de manômetros diferenciais.

- O sistema de exaustão de ar que garante a pressão negativa possui um ventilador centrífugo do tipo *limit load*. Na aspiração do ar de exaustão foi instalada uma caixa de filtro do tipo *bagin bagout*, contendo um filtro Absoluto (A3). Neste Laboratório foi instalada uma cabine de biossegurança Classe II B3.

- A Vazão de ar do Sistema de Climatização foi dimensionada considerando os seguintes parâmetros:

a) Vazão necessária para atender as necessidades térmicas do ambiente condicionado;

b) Vinte renovações por hora.

A vazão de ar de insuflamento foi a de maior valor

3.2.2 INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL-IMT-USP

O segundo Laboratório que foi executado foi o do IMT-USP. Inicialmente havia sido projetado que a área de laboratório seria de 10 m², porém no decorrer dos serviços esta área triplicou de tamanho. Nesse Laboratório foram executados trabalhos semelhantes ao NB3 de baixo custo do ICB.

3.2.3 INSTITUTO ADOLFO LUTZ

O laboratório NB3 do Instituto Adolfo Lutz foi instalado no 10º andar do Edifício da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo na AV. Dr. Arnaldo na Capital-SP. Pelas condições e pelas dificuldades encontradas, decidiu-se pela instalação de divisórias do tipo para salas limpas e teto semelhante, para que acima do forro se instalasse equipamentos, criando-se assim uma área técnica acima do forro. Nesse laboratório foram executados trabalhos semelhantes ao NB3 de baixo custo do ICB.

3.2.4 UNESP-BOTUCATU-SP

O laboratório do Instituto de Biologia da UNESP de Botucatu inicialmente seria instalado em outra área. Porém entre a contratação e o início da execução o local do laboratório foi mudado para uma nova área de 20 m². Nesse laboratório foram executados trabalhos semelhantes ao NB3 de baixo custo do ICB. O que diferiu foi a construção de um forro do tipo de sala limpa na antecâmara para abrigar os equipamentos de climatização, com acesso pelo corredor interno do edifício. Nesse laboratório também foi fornecido e instalado uma autoclave de dupla porta com capacidade de 100l.

3.2.5 UNESP-SÃO JOSÉ DO RIO PRETO-SP

O laboratório de virologia da UNESP de São José do Rio Preto começou a ser projetado quando ainda estava em fase de construção o edifício que hoje abriga o NB3. Foi então elaborado um projeto e solicitadas mudanças necessárias para instalação do laboratório. Nesse laboratório foram executados trabalhos semelhantes ao NB3 de baixo custo do ICB. O que diferiu foi a construção de divisória interna para uma sala escura. Nesse Laboratório também foi fornecido e instalado uma autoclave de dupla porta com capacidade de 100l.

3.2.6 RIBEIRÃO PRETO-USP-SP

O Laboratório do núcleo de virologia da Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto, quando começou a ser projetado, estava previsto ser instalado em uma área de 15 m², onde era o antigo Laboratório que ele ocupava. Porém, entre a contratação e o início da instalação, o novo edifício de laboratórios de virologia ficou pronto, e então o NB3 foi instalado em uma área maior, de 30 m². Para esse novo local foi necessária a construção de um forro técnico para a manutenção. Os equipamentos de climatização foram instalados entre o forro e a laje. Nesse laboratório foram executados trabalhos semelhantes ao NB3 de baixo custo do ICB.

3.2.7 LANAGRO-RECIFE-PE

Nesse Laboratório instalou-se o equipamento de despressurização denominado Biosafe Air System. O que vale ressaltar é o tempo recorde para execução, pois entre o pregão eletrônico para a compra do referido equipamento e a entrega da instalação decorreram quatro meses, ressaltando que os serviços foram concluídos em três meses, porém não gostamos do resultado estético e refizemos grande parte dos

serviços de instalações. Isso foi possível pela experiência acumulada nos outros Laboratórios, o que fez com programassem as compras e as entregas com um rígido cronograma. E outro fator importante foi a dedicação da equipe, em tempo integral à execução do trabalho, sem outras interferências que normalmente ocorrem.

3.3 Estratégia Arquitetônica: Projeto e Construção

Laboratórios de Biossegurança Nível 3 são concebidos e equipados para trabalhar com microrganismos do Grupo de Risco 3 e com grandes quantidades ou altas concentrações de microrganismos do Grupo de Risco 2, que constituem um risco acrescido de propagação de aerossóis. Nas Tabelas 1 e 2, podemos ver os requisitos necessários para os Laboratórios NB3 e que foram utilizados em nossa metodologia de projeto e construção de laboratórios de biocontenção, além de modificações realizadas empregando nossa experiência na execução desses projetos (Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ, 2005).

TABELA 1 - Requisitos para área física e instalações conforme o nível de Biossegurança (NB 1 a NB 4)

Requisito	NB1	NB2	NB3	NB4
Sinalização com símbolo de risco biológico	R	O	O	O
Laboratório separado de passagens públicas	R	O	O	O
Laboratório com acesso				
Controlado	R	O	-	-
Restrito	-	-	R	O
Local para armazenar jalecos e EPI's de uso exclusivo no Laboratório	R	R	O	O
Lavatório p/ mãos próximo à entrada/saída do laboratório	O	O	O	O
Torneira com acionamento sem o uso das mãos	-	R	O	O
Ventilação				
Fluxo interno de ar	-	R	O	O
Sistema Central de Ventilação	-	R	O	O
Filtragem HEPA de exaustão	-	-	O	O
Laboratório				
Janelas vedadas	-	R	R	-
Sem janelas	-	-	R	O
Pressão Negativa	-	-	O	O
Antecâmara	-	-	O	-
- com lavatório e local para jalecos	-	R*	R*	-
- dotada de portas c/ intertravamento	-	-	O	O
- com chuveiro	-	-	O	O
- pressurizada com chuveiro	-	-	R*	-
Paredes, tetos e pisos lisos, impermeáveis e resistentes à Desinfecção	R	O	O	O
Tratamento de efluentes	-	-	R*	O
Sistema de geração de emergência de energia elétrica	-	R*	O	O
Selagem/vedação de frestas nas paredes, tetos, piso e demais superfícies	-	-	O	O
Cabine de segurança biológica (CBS)	-	R**	O	O
Autoclave				
- próxima ao laboratório	R	O	O	-
- no laboratório	-	-	R	O
- dupla porta	-	-	R	O
Monitoração de segurança (visor, circuito interno de TV, Interfone, etc)	-	-	R	O

* A adoção de barreiras adicionais, tais como antecâmaras, chuveiros, tratamento (descontaminação) de efluentes e filtros HEPA na exaustão do ar deverá ser determinada pela avaliação de risco biológico e possíveis impactos no entorno. A avaliação de risco deve proceder a determinação dos níveis de biossegurança e medidas de contenção a serem adotadas, considerando, além do perigo potencial do agente, as atividades do laboratório e as condicionantes locais. A concepção de ambientes laboratoriais deve ter por princípio a facilidade de limpeza, descontaminação e manutenção.

** Obrigatória nos casos em que há potencial geração de aerossóis.

Requisitos Recomendados (R) ou Obrigatórios (O)

TABELA 2 - Equipamentos necessários para Laboratório de Biossegurança nível NB1 a NB4

Equipamento	NB1	NB2	NB3	NB4
Lava-olhos disponível	R	O	O	O
Trabalho em CSB* tipo I (sem necessidade de exaustão própria)	R	-	-	-
Trabalho em CSB* tipo II (com filtração HEPA de ar emergente)	R	-	O	-
Trabalho em CSB* tipo II (com 100% de exaustão e Filtração Absoluta do ar emergente)	-	R	O	-
Trabalho em CSB tipo III (com 100% de exaustão e Filtração Absoluta do ar emergente e com área de trabalho fechada acessível apenas por luvas)	-	-	R	O
Agitações feitas apenas na CSB	R	R	O	O
Homogeneizações feitas apenas na CSB	R	R	O	O
“Sonicagens” feitas apenas na CSB	R	R	O	O
Centrifugar em suportes tampados	R	R	O	O
Carregar suporte de centrífuga na CSB	R	R	O	O
Retirar tubos de suporte de centrífuga apenas na CSB	R	R	O	O

*CSB = Cabine de Segurança Biológica

Requisitos Recomendados (R) ou Obrigatórios (O).

3.4. Desenvolvimento de Sistema Despresurizador - Biosafe Air System.

O “Biosafe Air System” é um conceito de sistema compacto, de despresurização do ambiente laboratorial, de baixo custo e de fácil manutenção, que permite um ambiente de trabalho com alta segurança para os usuários. Este foi idealizado para se adequar a diferentes dimensões de laboratórios em conformidade com as necessidades do usuário.

4 RESULTADOS

Este trabalho traduz o processo de idealização, projeto e construção de um modelo de laboratório com nível de biossegurança 3 com os requisitos mínimos de baixo custo com tecnologia nacional e pioneirismo. Esses laboratórios foram denominados por nós de NB 3 de baixo custo para diferenciá-los dos NB3 clássicos. As intervenções nos Laboratórios NB3 Clássicos foram maiores do que nos NB3 de baixo custo.

Os Laboratórios NB3 de Baixo custo foram projetados para serem laboratórios simples, com custo inicial e operacional reduzido, porém sem perder as condições mínimas de biossegurança.

Como resultados desse trabalho foram construídos seis laboratórios NB3 de baixo custo para o projeto VGDN da FAPESP, como parte da tarefa coordenada de vírus respiratório, para atender uma demanda emergencial em caso da entrada no Brasil do coronavírus humano SARS e na resposta diagnóstica de uma possível pandemia de Influenza. Esses laboratórios foram construídos seguindo a rede de L2 do VGDN, distribuídos no Estado de São Paulo, sendo três na capital e três no interior (ICB/USP; IAL; IMT; UNESP/Botucatu; UNESP Rio Preto e USP/Ribeirão Preto).

Foi construído também como parte desse trabalho, um laboratório para o Ministério da Agricultura, com finalidade de diagnóstico da Influenza Aviária, situado no LANAGRO de Recife no Estado de Pernambuco. Este laboratório foi o primeiro a ser construído no Brasil, como parte da rede de seis laboratórios do Ministério da Agricultura, a ser implantados estrategicamente nas diferentes regiões geográficas do Brasil para monitoramento da Influenza Aviária em Aves Migratórias e de Produção.

4.1 Descrição do Funcionamento do Sistema

Memorial Descritivo do *Biosafe Air System*

Sistema de Despressurização de ar de Laboratórios com Nível de Biossegurança 3 (NB3).

O *Biosafe Air System* é um sistema compacto, de baixo custo e de fácil manutenção, que permite um ambiente de trabalho com alta segurança para os usuários.

O sistema foi desenvolvido para se adequar a diferentes dimensões de laboratórios em conformidade com as necessidades do usuário.

Em linhas gerais, o *Biosafe Air System* realiza, os seguintes processos:

O ar resfriado e irradiado com UVC é insuflado no ambiente e circula por todo ambiente do laboratório sendo a seguir exaurido junto com a parcela de ar que penetra por frestas e portas.

Esse ar é exaurido pela caixa de filtro do tipo *Bagin Bagout*, que possui um filtro Absoluto. Após esta etapa, parte do ar será recirculado (70%) e parte é descarregado para o ambiente exterior.

A temperatura interna do Laboratório está regulada em $22 \pm 2^\circ \text{C}$.

A pressão do laboratório está regulada em - 40 Pa em relação ao ambiente externo. A pressão negativa é garantida pela diferença de vazão de ar insuflado e ar exaurido sendo que a exaustão é sempre maior que o insuflamento.

O controle da pressão é efetuado por um sistema micro-processado atuante em um variador de frequência interligado ao exaustor. Por sua vez, um sensor diferencial de pressão, instalado no ambiente entre o laboratório NB3 e o ambiente externo, enviará um sinal para a controladora.

Os dutos de insuflamento e exaustão são estanques a vazamentos, isolados quando necessário.

4.2 Descrição técnica dos principais componentes

4.2.1 Condicionador de Ar Central tipo *Self Contained* do tipo *wall mounted*

Figura 1 –Condicionador de ar *Wall Mounted*

Principais Características:

Os componentes foram criteriosamente selecionados para suportar as mais rígidas condições climáticas, mantendo a durabilidade do equipamento. Os gabinetes fabricados em chapa de aço galvanizado são submetidos a tratamento superficial e pintura própria para alta durabilidade. São utilizados parafusos de aço inox 304 ou cromatizados com alta resistência à corrosão, mesmo quando submetidos à atmosfera agressiva. É adotado compressor scroll de alta durabilidade, projetado para atender às mais rígidas condições de operação.

Dados gerais:

Modelos	SWMB-030
TR Nominal	3
Capacidade Total Efetiva (kcal/h)	9.270
Capacidade Sensível Efetiva (kcal/h)	7.330
Consumo Nominal Total (kW)	4,59
Corrente Nominal Total (A)	16,20
Dimensões Físicas	
Comprimento (mm)	850
Profundidade (mm)	575
Altura (mm)	1.840
Peso Líquido (kg)	231
Compressor	
Tipo	Scroll
Quantidade	1
Serpentina Evaporadora	
Rows	3
Tipo	Tubular de cobre com aletas de alumínio Wavy 3B
Ventilador do Evaporador	
Tipo	Centrífugo
Quantidade	2
Motor 220V/60Hz/1f (CV - pólos)	3/4-6
Vazão de Ar (m3/h)	2265
Serpentina Condensadora	
Rows	4
Tipo	Tubular de cobre com aletas de alumínio Wavy 3B
Ventilador do Condensador	
Tipo	axial
Quantidade	1
Motor 220V/60Hz/1f (CV - pólos)	3/4-6

4.2.2 Steril – Aire UVC: Emissor de Radiação Ultravioleta C

O *Biosafe Air System* é equipado com lâmpadas emissoras de radiação ultravioleta C, *Steril-Aire UVC Emitters*, estrategicamente instaladas para a emissão de UVC na serpentina de refrigeração do equipamento *Self contained*.

Figura 2 – *Steril – Aire UVC*

Este componente representa os seguintes incrementos:

Qualidade microbiana do ar de insuflamento, pois tem ação direta no crescimento microbiano (biofilme) na serpentina e rede de dutos, prevenindo a dispersão bacteriana, fúngica e viral no ambiente laboratorial;

Redução dos custos de manutenção do Biosafe Air System, pois dispensa a necessidade de limpeza e desinfecção química da serpentina de refrigeração e rede de dutos, aumentando a longevidade dos filtros Absolutos (diminui a sua saturação);

4.2.3 Sistema de insuflamento de ar TABELA 2 - Equipamentos necessários para Laboratório de Biossegurança nível NB1 a NB4

4.2.3.1 Dutos de ar

Os dutos de ar de secção convencional (quadrados ou retangulares) são executados em chapa de aço galvanizada nas bitolas recomendadas pela SMACNA, em função da classe de pressão. Estes são pré-fabricados e flangeados com sistema TDC. Os detalhes construtivos e espessuras de chapa estão de acordo com as recomendações da SMACNA, para dutos de classe de pressão de 500 Pa.

A ligação dos dutos com a descarga de ventiladores, bem como com os dutos de retorno aos condicionadores de ar, é feita por meio de uma conexão flexível de lona; a mesma consideração é utilizada para interligação da rede de dutos aos equipamentos de ventilação.

O isolamento térmico de dutos é executado com manta elastomérica.

Os dispositivos de fixação e sustentação (suportes, ferragens, etc.), são perfilados metálicos galvanizados, suspensos por vergalhões roscados, também galvanizados.

4.2.3.2 Difusores de ar

Difusores são executados em perfis de alumínio extrudado, anodizado.

4.2.3.3 Grelhas

Grelha com aletas frontais fixas ou ajustáveis, como indicado, e fixação invisível, executadas em perfis de alumínio extrudado, anodizado.

4.2.4 Sistema de exaustão

4.2.4.1 Ventilador

O ventilador adotado é do tipo centrífugo tubular, construção em chapa de aço com tratamento anticorrosivo, balanceado estática e dinamicamente, completo com rolamentos blindados, auto-alinhantes e autolubrificadas. Acionado por motor elétrico de indução, de alto rendimento, a prova de pingos e respingos, montado sobre calços antivibrantes.

4.2.4.2 Caixa de filtração

Dotada de sistema *Bagin Bagout* de troca de filtros, tipo Absoluto, classe A3 eficiência mínima 99,97% DOP. Os filtros são bactericidas, construídos com papel de micro fibra de vidro com separadores em resina sintética e moldura em chapa de aço galvanizada. A caixa é feita de chapa de aço galvanizada com tampa de inspeção nas laterais.

4.2.4.3 Grelhas de Exaustão

Grelhas de exaustão ou retorno, simples deflexão, aletas frontais fixas ou ajustáveis, como indicado, deverão ser executadas em perfis de alumínio extrudado, anodizado.

4.2.5 Damper de vazão constante

Damper de vazão constante do tipo RN com vazão de ar regulada na fábrica, colocados no insuflamento e no ar externo, a fim de manter constantes tais vazões.

4.2.6 Antecâmaras e ambiente interno do NB3

4.2.6.1 Porta de acesso

É utilizada porta de acesso fabricada em poliuretano injetado com revestimento em chapa fenólica e acabamento melamina texturizada, e equipada com ferragens apropriadas para salas classificadas e com visor em vidro.

4.2.6.2 Visores

Os visores são montados com vidros de 8 mm de espessura tipo “fumê” com cantos arredondados com raio de 5 cm e com acabamento através de aplicação de silicone asséptico entre junta.

4.2.6.3 Piso em manta vinílica e paredes em tinta acrílica

Estes revestimentos de piso (manta vinílica) e parede (em esmalte epóxi 15%) conferem alta resistência à água e desinfetantes, facilitando a descontaminação do local e garantindo a impermeabilidade destas superfícies.

4.2.7 Automação e controle de acesso ao laboratório

4.2.7.1 Painel de controle microprocessado

O sistema dispõe de controlador digital programável com display e teclado para alteração de parâmetros, sensor de temperatura, de pressão diferencial para ar, manômetro diferencial e alarme visual ou sonoro.

4.2.7.2 Leitora biométrica: V-Station

O acesso restrito ao laboratório será controlado por meio de uma leitora biométrica, “V-Station”, utilizando o teclado integrado sem o auxílio de um PC.

Figura 3 – Leitora biométrica: V-Station

4.2.8 Instalações Elétricas

4.2.8.1 Rede Elétrica

Geral

Faz parte do escopo desta especificação técnica todas as interligações elétricas entre os painéis e os equipamentos e todas as interligações do sistema de controle. Foi dimensionada e instalada toda a fiação elétrica de interligação para alimentação e comando entre os equipamentos e os seus respectivos quadros elétricos.

Fiação Elétrica

Os cabos de força e comando são unipolares, em condutor de cobre, com encapsamento termoplástico, anti-chama classe de isolamento 750V, temperatura de operação de 70° C em cabos singelos.

Calhas Dutotec

Toda distribuição elétrica interna do Laboratório foi executada com calhas de distribuição elétrica do tipo Dutotec.

4.3 Manual de operação

O Biosafe Air System foi projetado para funcionar automaticamente, mantendo os parâmetros de pressão em - 40Pa e temperatura em torno de 22,5 °C demandando o mínimo de intervenção do usuário do sistema.

Acesso ao laboratório

O passo a passo para ter acesso ao Laboratório e acionamento do Biosafe Air System estão descritos a seguir:

Identificação do usuário pelo sensor biométrico:

Basta o usuário cadastrado pressionar suas digitais no sensor biométrico localizado na porta de entrada. Se autorizado à porta de acesso abrirá automaticamente.

Figura 4– Porta de entrada do Laboratório do Lanagro de Recife

Acionamento do Biosafe Air Sytem

Após adentrar a antecâmara, o operador deve girar a chave seletora, no painel de controle remoto (PCR) para a esquerda (A). As seguintes ações devem ser realizadas:

A) Observar a estabilização do sistema: – 40Pa no manômetro (Magnehelic) (B)

Figura 5 – Manômetro diferencial - *Magnehelic*

B) Paramentar-se (A) e pressionar botão preto de acesso para entrar no Laboratório (B): A luz verde no display de acesso indica a abertura automática da porta de acesso ao laboratório.

Figura 6 – Pesquisadora com EPIs

Figura 7 – Porta de acesso ao laboratório

Saída do laboratório:

Os passos para sair do Laboratório e desligar o Biosafe Air System estão descritos abaixo:

a) Acesso a antecâmara:

O operador deve pressionar o botão preto e observar a luz verde no display de acesso ambos localizado no interior do laboratório. Este sinal é indicativo do destravamento da porta.

Figura 8 – Porta de saída do laboratório

b) Desativação do sistema:

O usuário trocar-se-á e desligará o sistema no painel de comando remoto girando o botão para a esquerda. Em função do desligamento a pressão irá a 0 Pa, o que ocasionará o disparo do alarme sonoro. O usuário deverá, portanto acionar o botão cala alarme no PCR (A).

A seguir o operador acionará o botão preto para o destravamento da porta de acesso ao ambiente externo indicado pela lâmpada verde no display de acesso da antecâmara (B).

Figura 9 – Painel de comando remoto

Figura 10 – Porta de saída do laboratório

4.4 Arquitetura e Construção dos Laboratórios NB3

As figuras de 11 a 21 mostram as plantas de arquitetura e sistemas de termomecânica final dos sete laboratórios construídos nesse projeto.

Figura 11- Arquitetura e termomecânica do laboratório NB3 do ICB-II da Universidade de São Paulo.

Figura 12 - Fotografia da construção final do laboratório NB3 do ICB-II da Universidade de São Paulo.

Figura 13 – Arquitetura e termomecânica do laboratório NB3 do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo.

Figura 16 – Fotografia da construção final do laboratório NB3 da UNESP de São José do Rio Preto - SP.

Figura 17 – Fotografia da construção final do laboratório NB3 da UNESP de Botucatu - SP.

Figura 18 – Arquitetura e termomecânica do laboratório NB3 do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo.

Figura 19 – Arquitetura e termomecânica do laboratório NB3 da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Figura 20 – Arquitetura e termomecânica do laboratório NB3 do Ministério da Agricultura, LANAGRO de Recife – PE

Figura 21 – Fotografia da construção final do laboratório NB3 do Ministério da Agricultura, LANAGRO de Recife – PE

4.5 Avaliação Comparativa de Custo entre Laboratórios NB3 Clássicos e de Baixo Custo

A avaliação comparativa de custo entre laboratórios NB3 clássicos e os de baixo custo pode ser feita nos resumos dos preços de venda na tabela 3, onde destacamos:

As diferenças econômicas de investimento inicial dos laboratórios NB3 de baixo custo são bastante significativas, em relação aos laboratórios NB3 clássicos.

Nos itens de climatização e sistema de automação, que são itens principais em laboratório NB3, notamos que a redução é significativa.

Na climatização adotou-se o sistema de recirculação do ar (70%), ao invés do laboratório clássico que se adotou sistema sem recirculação de ar (100% de ar externo). Isso permitiu que pudéssemos utilizar um único equipamento de condicionamento de ar do tipo expansão direta, sem a necessidade de grandes instalações de resfriamento com resfriadores de líquido, bombas centrífugas, redes de água gelada.

No sistema de automação o barateamento se dá pela simplificação do sistema empregado, pois a instalação conta com um PLC que controla a pressão, temperatura, umidade e saturação dos filtros e um estação de acesso com um sensor biométrico *stand alone*.

Quanto ao custo de manutenção e operação apesar de não termos um levantamento comparativo, sabemos que o custo operacional do laboratório NB3 de baixo custo será bem menor, pois os itens instalados são em menor quantidade.

TABELA 3 Planilha Comparativa de Custos(R\$)*

ITENS DE FORNECIMENTO	NB 3 CLÁSSICO			NB3 LIGHT		
	Porto Alegre/LACEN - RS	Ribeirão Preto-SP	Porto Velho-RO**	Rede VGDN	Recife/Lanagro-PE	Concordia/Embrapa-SC
	11/8/2003	1/9/2003	3/8/2007	2/9/2004	dez/06	ago/07
CLIMATIZAÇÃO						
CHILLER	47.082,00	64.860,00	133.774,00	0,00	0,00	0,00
BAG	2.779,00	6.486,00	17.310,00	0,00	0,00	0,00
REDE AG	19.290,00	15.134,00	38.723,00	0,00	0,00	0,00
QUADRO ELÉTRICO	6.948,00	12.972,00	18.167,00	4500,00	6240,00	7500,00
REDE ELÉTRICA	7.765,00	17.296,00	22.249,00	10000,00	10000,00	10000,00
REDE DE DUTOS E BOCAS	29.345,00	35.997,00	132.787,00	9750,00	9750,00	13000,00
REDE FRIGORÍFICA	0,00	0,00	0,00	1800,00	0,00	0,00
CAIXAS DE FILTRO	31.088,00	74.589,00	25.857,00	9100,00	5500,00	7500,00
EXAUSTORES	9.916,00	10.810,00	33.472,00	2110,00	2300,00	5300,00
FANCOIL	19.832,00	34.592,00	24.928,00	0,00	0,00	0,00
COND. EXP. DIRETA	0,00	0,00	0,00	10285,00	15400,00	17400,00
ENG ^a , TESTES,ACESSÓRIOS	19.618,00	38.000,00	38.723,00	10000,00	10000,00	20000,00
SUBTOTAL CLIMATIZAÇÃO	193.663,00	310.736,00	485.990,00	57.545,00	59.190,00	80.700,00
SISTEMA DE AUTOMAÇÃO	197.875,00	141.750,00	285.996,00	19890,00	32200,00	40575,00
REDE HIDRAÚLICA	13390	16215,00	40.216,00	3000,00	0,00	0,00
REDE ELÉTRICA	135548	34592,00	311.797,00	10000,00	15700,00	15700,00
OBRA CIVIL P/SISTEMA	61000	18370,00	126.861,00	10000,00	17910,00	13025,00
TOTAL	601.476,00	521.663,00	1.250.860,00	100.435,00	125.000,00	150.000,00

* Os valores são referentes somente aos Laboratórios NB3

** Valores da planilha de concorrência feita pela SVS em 24/12/2007.

5 DISCUSSÃO

A implantação de laboratórios com níveis de biossegurança 3 se justifica pelo fato de serem encontrados, ainda hoje, em amostras de sangue de funcionários de laboratórios, vírus por eles manipulados. Isso ocorre mesmo quando essas pessoas não foram vítimas de nenhum acidente com perfuro cortantes ou absorção pelo contato com a pele. Fatos como esses evidenciam que, no conjunto de condicionantes desse tipo de contaminação, os ambientes e as edificações desempenham um papel relevante, uma vez que a contenção primária, feita pelos equipamentos de proteção individual – EPI e pelos equipamentos de proteção coletiva – EPC, não foram suficientes para evitar a contaminação. A comunidade científica, especialmente o Ministério da Saúde, tem constatado a inadequação dos atuais laboratórios a esses tipos de risco aos agentes infecciosos.

Os procedimentos e os riscos que as atividades laboratoriais oferecem são, normalmente, desconhecidos para profissionais de arquitetura e engenharia. Sendo assim, é necessário um envolvimento direto desses com: biólogos, bioquímicos, médicos e farmacêuticos. Esse envolvimento, o qual é multidisciplinar, proporcionou o embasamento necessário para a definição de fluxos e ambientes que determinaram as barreiras físicas adequadas aos procedimentos ali realizados. Um projeto de arquitetura e instalações eficientes pode contribuir para a redução de contaminação de funcionários e do meio ambiente.

Nesse sentido, o laboratório dá ênfase às diretrizes que norteiam os projetos de arquitetura, especialmente as soluções técnicas de arquitetura, de instalações e procedimentos, adaptadas às situações características de nossos processos construtivos e realidades tecnológicas, bem como epidemiológicas.

O que motivou o desenvolvimento deste trabalho foi a discussão das condições de biossegurança nas instituições de ensino, pesquisa, desenvolvimento tecnológico e de prestação de serviços, causada pelo comportamento diversificado das doenças infecciosas. O manejo e a avaliação de riscos foram fundamentais para a definição de critérios e ações, e têm por objetivo minimizar os riscos que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos. Foram importantes, também, para visualização espacial da análise do projeto, como um dos parâmetros principais para garantir a biossegurança em tais ambientes de trabalho.

A análise foi realizada baseada na integração de cinco parâmetros fundamentais na elaboração do programa de necessidades e do projeto de arquitetura e engenharia. São eles: a experiência dos pesquisadores “de bancada”, o conhecimento técnico dos arquitetos, o conhecimento técnico dos engenheiros, a utilização da literatura especializada e a consulta a normas pertinentes ao assunto.

Os pesquisadores participantes foram profissionais que trabalham diretamente com os procedimentos laboratoriais e com os microrganismos de nível 3, e, portanto, já conheciam os riscos e as rotinas necessárias para tais procedimentos.

Os arquitetos e os engenheiros envolvidos possuíam conhecimento técnico em edificações de saúde e em áreas de contenção potencialmente contaminadas.

A literatura especializada estrangeira e nacional foi utilizada para a definição dos conceitos de biossegurança e das barreiras de contenção adequadas a organismos de risco 3, bem como para se tomar ciência das novas tecnologias empregadas em construções onde há necessidade de controle de contaminação.

Foram respeitadas normas, portarias e diretrizes que abordam questões ligadas a biossegurança, a segurança do trabalho, a edificações de saúde e a materiais de construção e acabamento.

Quando se começou a pensar e discutir projeto e construção de laboratórios NB3, que na época chamava-se de P3. Pouco ou nenhum exemplo se tinha de laboratórios de biossegurança, conseguiu-se então uma visita as instalações da fábrica de vacinas de aftosa da Vallé em Montes Claros-MG. A visita contou com a presença de vários pesquisadores. Essa visita influenciou no projeto dos NB3 Clássicos, pois muito do que se viu ali, foi projetado nos NB3 Clássicos.

Tal conceito fez-se com que excessos de segurança fossem feitos. Como exemplo pode-se citar: vedação ativa com gaxetas pressurizadas nas portas; redundância nos Filtros Absolutos, em série e em paralelo; redundância nos exaustores; utilização de no-breaks trifásicos no sistema de exaustão; sistema de climatização com 100% de ar externo sem recirculação; tratamento de efluentes; passtrought com tratamento químico; autoclave de porta dupla; banho obrigatório na saída; rede de dutos em chapa Inox AISI 304.

Essa tendência de duplicidade de sistemas e excesso de zelo pode ser notada nas narrativas do Arquiteto Luis Fernando Nunes de Azeredo em sua tese de

mestrado (Azeredo, 2004), onde relata que nas reuniões técnicas que discutiram os critérios de planejamento das instalações dos laboratórios NB3 projetados no Vigisus houve certa resistência por especialistas de ar condicionado em concordar com um sistema em que o ar exaurido do laboratório não pudesse ser aproveitado para o próprio laboratório depois de ser filtrado pelo filtro Absoluto, pois, teoricamente, estaria estéril e mais puro do que o ar retirado do exterior. Para esses profissionais era muito difícil, então, aceitar a quase duplicação dos custos, que implicaria em não circular o “ar puro”. Seria mesmo necessário descartar um ar potencialmente estéril, quando este poderia ser reaproveitado novamente para o laboratório? Não estariam os especialistas corretos na sua afirmação de que não recircular o ar seria excesso de prevenção? Estas instituições terão verba suficiente para bancar o consumo de energia que este sistema de ar representará para os laboratórios? E quanto à manutenção? Os filtros Absolutos devem ser trocados dentro de um prazo fixado, pois, do contrário deixam de ser eficazes. Estas instituições públicas continuarão recebendo recursos para manter estes laboratórios funcionando com segurança? Ou, com, o passar dos anos, serão fechados por serem economicamente inviáveis?

O relato do arquiteto Azeredo acertou em suas preocupações, pois o que vemos hoje são laboratórios parados por não terem recursos para manutenção. Nossa intenção de criar laboratórios NB3 de baixo custo e de fácil manutenção para serem implantados em todos os Estados Brasileiros, se fundamentou nas preocupações descritas por Azeredo e principalmente na certeza que tínhamos que esses laboratórios seriam implantados na rede pública de Saúde Humana e Animal, onde os recursos de fomento a pesquisa são escassos e os pesquisadores e técnicos da área laboratorial trabalham muitas vezes em condições não favoráveis de biossegurança.

O mercado brasileiro de construções de laboratórios de biossegurança é muito limitado e isto acarreta alguns problemas para empresas especializadas neste tipo de construção e a empresa que se especializa não consegue se sustentar somente com este mercado.

A legislação atual de concorrências (8666) permite que empresas sejam eleitas em licitações para execução de laboratórios de biossegurança por possuírem a melhor oferta econômica para o licitante. Porém na maioria dos casos tais empresas não possui qualificações para executar tal empreendimento.

Há um outro problema que é o de continuidade, pois sendo um mercado restrito e com concorrentes sem qualificação, a empresa especializada fica grande espaço de tempo sem serviço. Isto certamente poderia ser resolvido se as Instituições que possuem laboratórios de biossegurança firmassem contratos de manutenção preventiva e corretiva com as empresas que construíram tais laboratórios. Isto não tem acontecido, pois a maioria dos Laboratórios executados por órgãos governamentais, não contrataram tais serviços.

6 CONCLUSÃO

Os projetos de NB3 de baixo custo implantados pelo programa VGDN da FAPESP, mostrou que é possível construir uma rede de laboratórios de biocontenção voltados para responder rapidamente as doenças emergentes, com um custo baixo em relação aos laboratórios NB3 clássicos.

A experiência obtida na implantação da rede de laboratórios NB3 de baixo custo no Estado de São Paulo permitiu o desenvolvimento de um sistema único de despressurização de ambientes laboratoriais, denominado de Biosafe Air System, com tecnologia totalmente nacional e de fácil instalação, operação e manutenção.

O sistema Biosafe Air System desenvolvido neste trabalho, garante todas as condições de biossegurança oferecida pelos sistemas clássicos de NB3, com a vantagem de poder ser implantados em áreas laboratoriais pré existentes exigindo mínimas adequações de construção civil.

O NB3 de baixo custo é uma ferramenta bastante acessível a todos que hoje trabalham com agentes de risco biológicos, pelas suas características de baixo custo e simplicidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Society of Heating, Refrigerating, and air conditioning Engineers, Inc. 1999. Laboratories In: ASHRAE Handbook, Heating, Ventilation, and air Conditioning Applications, Chapter 13.

Atlas RM. Biological weapons Pose Challenge for Microbiology Community. ASM News. 1998; 64:383-389.

Azeredo LFN. Análise do Planejamento Arquitetônico e das Instalações de Laboratórios Públicos Considerando a Biossegurança [dissertação]. Brasília: Faculdade de Arquitetura e Urbanismo-Área de Concentração em Tecnologia da Arquitetura; 2004.

Beeman, E.A.1950. Q-fever- an epidemiological note. Pub Hlth Rep 65 (2): 88-92

Biosafety in the laboratory. Prudent Practices for the Handling and Disposal of Infectious Materials. National Research Council. Washinhgton, D.C.: National Academy Press; 1989.

Buarque AH. Dicionário Aurélio Eletrônico. São Paulo: Editora Nova Fronteira;1996.

Centers for Disease Control. National Action Plan to Combat Multi-Drug-Resistant Tuberculosis. Meeting the Challenge of Multi-Drug-Resistant Tuberculosis: Summary of a Conference Management of Persons Exposed to Multi-Drug-Resistant Tuberculosis; 1992.

Centers for Disease Control. Guidelines for Preventing the Transmission of Tuberculosis in Health-Care Settings, with Special Focus on HIV-Related Issues; 1990.

Centers of Disease Control, Office of Biosafety. Classification of Etiologic Agents on the Basis of Hazard, 4th Edition. U.S.Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service;1974.

Centers of Disease Control. Update: Universal Precautions for Prevention of Transmission of Human Immunodeficiency Virus, Absolutotitis Virus and Other Bloodborne Pathogens in Healthcare Settings. MMWR. 1988;37:377-382,387,388.

Centers of Disease Control. Office of Biosafety. 1974;9(20).

Hanson RP, Sulkin SE, Buescher EL et al. Arbovirus Infections os laboratory workers. Science. 1967;158:1283-86.

Harrington JM, Shannon HS. Incidence of tuberculosis workers. Br Med. 1976;1:759-62.

Holmes GP, Hilliard JK, Klontz KC, Rupert AH, Schindler CM, Parrish E, et al. B. virus (Herpesvirus simiae) Infection in Humans:Epidemiologic Investigation of a Cluster. Ann Intern Med 1990;112:833- 839.

Howaiss, A. Dicionário da Língua Portuguesa Eletrônico. São Paulo: Editora Objetiva; 2001

Knudsen RC. Risk Assessment for Biological Agents in the Laboratory. In: Richmond J, editor. Rational Basis for Biocontainment: Proceedings of the Fifth National Symposium on Biosafety. Mundelein: American Biological Safety Association; 1998.

Kolavic SA, Kimura A, Simons SL, Slutsker L, Barth S, Haley CE. An Outbreak of *Shigella dysenteriae* Type 2 Among Laboratory Workers due to Intentional Food Contamination. JAMA. 1997; 278:396-398.

Martini GA, Schmidt HA. Spermatogenic transmission of Malburg virus. Klin Wschr. 1968; 46:398-400.

Meyer K.F. Eddie B. Laboratory Infections due to Brucella. J Infect Dis. 1941;68:24-32.

National Cancer Institute, Office of Research Safety, and the Special Committee of Safety and Health Experts. Laboratory Safety Monograph: A Supplement to the NIH Guidelines for Recombinant DNA Research. Bethesda, MD: National Institute of Health; 1978.

National Institutes of Health (NIH). Issuance of Director's Decision: The NIH Incident. Federal Register. 1997 September 24;62(185): 50018-50033.

National Institutes of Health. Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules. Washington: GPO Federal Register 59FR34496; 1994.

Oliphant JM, Parker RR. Q-fever: Three cases of laboratory infection. Public Health Rep. 1948;63(42):1364-1370.

Pike RM. Laboratory-associated infections: Summary and analysis of 3,921 cases. Hlth Lab Sci. 1976;13:105-114.

Pike RM..Laboratory-associated infections, incidence, fatalities, causes and prevention. Ann Rev Microbiol. 1979;33:41-66.

Pike RM, Sulkin SE, Schulze ML. Continuing importance of laboratory- acquired infections. Am J Public Health. 1965;55:190-199.

Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ, Comissão Técnica de Biossegurança da FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2005 Novembro;41,43.

Report of the Committee of Inquiry into the Smallpox Outbreak in London in March and April 1973. London: Her Majesty's Stationery Office; 1974.

Report to Congress on abnormal Occurences which occurred between July and September 1995, In: 3rd Event: NIH Incident. Federal Register. 1996; Feb. 26:61. Report No.: 38, pp. 7123-7124.

Richardson JH. Provisional summary of 109 laboratory-associated infections at the Centers for Disease Control, 1947-1973: 16th Annual Biosafety Conference; Ames, Iowa; 1972.

Ruys, Theodorus. New York: Laboratory Design principles. In: Ruys T, editor. Handbook of facilities Planning. New York: Van Nostrand Reinhold;1990; p. 257-264.

Skinholj P. Occupational risks in Danish clinical chemical laboratories. II Infections. Scand J Clin Lab Invest. 1974;33:27-29.

Sulkin SE, Pike RM. Viral Infections Contracted in the Laboratory. New Engl Med. 1949; 241; (5):205-213.

Sulkin SE, Pike RM..Survey of laboratory-acquired infections. Am J Public Health. 1951;41(7):769-781.

Sullivan JF, Songer JR, Estrem IE. Laboratory-acquired Infections at the National Animal Disease Center, 1960-1976. Health Lab Sci. 1978;15(1):58-64

Török TJ, Tauxe RV, Wise RP, Livengood JR, Sokolow R, Mauvais S, et al. A large community outbreak of salmonellenosis caused by intentional contamination of restaurant salad bars. JAMA. 1997;278:389-395.

U.S. Nuclear Regulatory Commission. NUREG 1535, Ingestion of Phosphorus-32 at MIT. Cambridge (MA); 1995 Aug. 19.

U.S. Nuclear Regulatory Commission. Preliminary Notification of Event or Unusual Occurrence PNO-1-98-052, Subject: Intentional Ingestion of Iodine-125 Tainted Food (Brown University). 1998 Nov 16.

U.S. Public Health Service. Final Rule: Additional Requirements for Facilities Transferring or Receiving_Select Agents. Federal Register; 1996 Oct. 24. 61 FR 29237.

U.S. Congress 1988: Medical waste Tracking Act; 1988. H.R. 3515, 42 U.S.C. 6992-6992k.

U.S. Department of Labor, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens. Final Rule. Federal Register; 56:64175-64182.

U.S. Department of Labor. Occupational Safety and Health Administration. Occupational Exposure to Bloodbone Pathogens, Final Rule. Fed. Register; 1991. 56.

Wedum AG. History of microbiological safety: personnel and otherwise. In: 18th Annual Meeting Biological Safety Conference. Lexington, Kentucky; 1975. p. 8.

World Health Organization. Smallpox Surveillance. Weekly Epidemiological Record. 1978.53(35):265-266.

ANEXO 1.CLASSIFICAÇÃO DE RISCO

Os agentes biológicos que afetam o homem, os animais e as plantas são distribuídos em classes de risco definidas pelo Ministério da Saúde (2006):

CLASSE DE RISCO 1

Compreende os agentes biológicos não incluídos nas classes de risco 2,3 e 4 e que não demonstraram capacidade comprovada de causar doença no homem ou em animais saudáveis.

A não classificação de agentes biológicos nas classes de risco 2, 3 e 4 não implica na sua inclusão automática na classe de risco 1. Para isso deverá ser conduzida uma avaliação de risco, baseada nas propriedades conhecidas e/ou potenciais desses agentes e de outros representantes do mesmo gênero ou família.

CLASSE DE RISCO 2

AGENTES BACTERIANOS, INCLUINDO CLAMÍDIAS E RICKÉTSIAS

Acinetobacter baumannii (anteriormente *Acinetobacter calcoaceticus*)

Actinobacillus spp

Actinomadura mdruae, *A. pelletieri*

Actinomyces spp; *A.gerencseriae*, *A.israeli*, *Actinomyces pyogenes* (anteriormente *bacterium pyogenes*)

Aeromonas hydrophila

Amycolata autotrophica

Archanobacterium haemolyticum (anteriormente *Corynebacterium haemolyticum*)

Bacteróides fragilis

Bartonella spp (*Rochalimea* spp), *B.bacilliformis*, *B.henselae*, *B.quintana*, *B. vinsonii*

Bordetella bronchiseptica, *B. parapertussis*, *B.pertussis*

Borrelia spp, *B.anserina*, *B.burgdorferi*, *B.duttoni*, *B.persicus*, *B. recurrentis*, *B. theileri*, *B.vincenti*

Burkholderia spp (*Pseudomonas*), exceto aquelas listadas na classe de risco 3

Campylobacter spp, *C.coli*, *C.fetus*, *C.jejuni*, *C.septicum*

Cardiobacterium hominis

Chlamydia pneumoniae, *C.trachomatis*

Clostridium spp, *C.chauvoei*, *C.haemolyticum*, *C.histolyticum*, *C.novyi*, *C.perfringens*,
C.septicum, *C.tetani*
Corynebacterium spp, *C. diphtheriae*, *C.equi*, *C.haemolyticum*, *C.minutissimum*,
C.pseudotuberculosis, *C.pyogenes*, *C.renale*
Dermatophilus congolensis
Edwardsiella tarda
Ehrlichia spp (*Rickettsia* spp), *Ehrlichia sennetsu*
Eikenella corrodens
Enterobacter aerogenes, *E. cloacae*
Enterococcus spp
Erysipelothrix rhusiopathiae
Escherichia coli, todas as cepas enteropatogênicas, enterotoxigênicas,
enteroinvasivas e detentoras do antígeno K1
Haemophilus ducreyi, *H. influenzae*
Helicobacter pylori
Klebsiella spp
Legionella spp, *L. pneumophila*
Leptospira interrogans, todos os sorotipos.
Listeria spp
Moraxella spp
Mycobacterium asiaticum, *M. avium*, *M.bovis* BCG vacinal, *M. intracellulare*,
M.chelonae, *M. fortuitum*, *M. Kansasii*, *M.leprae*, *M. malmoense*, *M.marinum*,
M.paratuberculosis, *M.scrofulaceum*, *M.simiae*, *M.szulgai*, *M. xenopi*
Mycoplasma caviae, *M.hominis*, *M. pneumoniae*
Neisseria gonorrhea, *N. meningitidis*
Nocardia asteróides, *N. brasiliensis*, *N.farcinica*, *N.nova*, *N. otitidiscaviarum*,
N.transvalensis
Pasteurella spp, *P. multocida*
Peptostreptococcus anaerobius
Plesiomonas shigelloides
Porphyromonas spp
Prevotella spp
Proteus mirabilis, *P.penneri*, *P.vulgaris*
Providencia spp, *P. alcalifaciens*, *P. rettgeri*

Rhodococcus equi
Salmonella spp, todos os sorotipos
Serpulina spp
Shigella spp, *S. boydii*, *S.dysenteriae*, *S.flexneri*, *S.sonnei*
Sphaerophorus necrophorus
Staphylococcus aureus
Streptobacillus moniliformis
Streptococcus spp, *S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *S.suis*
Treponema spp, *T. carateum*, *T. pallidum*, *T. pertenue*
Vibrio spp, *V.cholerae* (01 e 0139), *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*
Yersinia spp, *enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*

PARASITAS

Acanthamoeba castellani
Ancylostoma humano e animal, *A. ceylanicum*, *A.duodenale*
Angiostrongylus spp, *A. cantonensis*, *A. costaricensis*
Ascaris spp. *A.lumbricoides*, *A.suum*
Babesia spp, *B.divergens*, *B.microti*
Balantidium coli
Brugia spp, *B. malayi*, *B. pahangi*, *B. timori*
Capillaria spp, *C. philippinensis*
Clonorchis sinensis, *C. viverrini*
Coccidia spp
Cryptosporidium spp, *C. parvum*
Cyclospora cayetanensis
Cysticercus cellulosae (cisto hidático, larva de *T.solium*)
Dactylaria galopava (*Ochroconis gallopavum*)
Dipetalonema streptocerca
Diphyllbothrium latum
Dracunculus medinensis
Echinococcus spp, *E.granulosus*, *E.multilocularis*, *E.vogeli*
Emmonsia parva var. *crescens*, *Emmosia parva* var. *parva*
Entamoeba histolytica
Enterobius spp

Fasciolopsis buski
Fonsecaea compacta, *F. pedrosoi*
Giardia spp, *Giardia lamblia* (*Giardia intestinalis*)
Heterophyes spp
Hymenolepis spp, *H. diminuta*, *H. nana*
Isospora spp
Leishmania spp, *L. brasiliensis*, *L. donovani*, *L. ethiopica*, *L. major*, *L. mexicana*,
L. peruviana, *L. tropica*
Loa loa
Madurella grisea, *M. mycetomatis*
Mansonella ozzardi, *M. perstans*
Microsporidium spp
Naegleria fowleri, *N. gruberi*
Necator spp, *N. americanus*
Onchocerca spp, *O. volvulus*
Ophisthorchis spp, *Ophisthorchis felinus*
Paragonimus westermani
Plasmodium spp humano e símio, *P. cynomolgi*, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*,
P. vivax
Sarcocystis spp, *S. suis hominis*
Scydosporium apiospermum (*Pseudallescheria boidii*), *Scydosporium prolificans*
(inflatum)
Schistosoma haematobium, *S. intercalatum*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. mekongi*
Strongyloides spp, *S. stercoralis*
Taenia saginata, *T. solium*
Toxocara spp, *T. canis*
Toxoplasma spp, *T. gondii*
Trichinella spiralis
Trichuris trichiura
Trypanosoma spp, incluindo *T. brucei brucei*, *T. brucei gambiense*, *T. brucei*
rhodesiense, *T. cruzi*, *T. evansi*, *T. vivax*
Wuchereria bancrofti

FUNGOS

Aspergillus flavus, *A.fumigatus*

Blastomyces dermatitidis

Candida albicans, *C.tropicalis*

Cladophialophora bantiana (*Xylophora bantiana*, *Cladosporium batianum* ou *C.trichoides*), *Cladophialophora carrioni* (*Cladosporium carrioni*)

Cryptococcus neoformans, *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (*Filobasidiella bacillispora*), *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (*Filobasidiella neoformans* var.*neoformans*)

Emmonsia parva var. *créscens*, *Emmonsia parva* var. *parva*

Epidermophyton spp, *E. floccosum*

Exophiala (*Wangiella*) *dermatitidis*

Fonsecaea compacta, *F.pedrosoi*

Madurella spp, *M.grisea*, *M.mycetomatis*

Microsporum spp, *M. aldouinii*, *M.canis*

Neotestudina rosatii

Paracoccidioides brasiliensis (na fase de esporulação apresenta maior risco de infecção)

Penicillium marneffe

Pneumocystis carinii

Scedosporium apiospermum (*Pseudallescheria boidii*), *Scedosporium prolificans* (*inflatum*)

Sporothrix schenckii

Trichophyton spp, *Trichophyton rubrum*

FUNGOS EMERGENTES E OPORTUNISTAS

Acremonium falciforme, *A.kiliense*, *A.potronii*, *A.recifei*, *A.roseogriseum*

Alternaria anamorfo de *Pleospora infectoria*

Aphanoascus fulvescens

Aspergillus amstelodami, *A.caesiellus*, *A.candidus*, *A.carneus*, *A.glaucus*, *A.oryzae*,
A.penicilliioides, *A.restrictus*, *A.sydneyi*, *A.terreus*, *A.unguis*, *A.verisolor*

Beauveria bassiana

Candida lipolytica, *C.pulcherrima*, *C.ravautii*, *C.wiswanathii*

Chaetoconidium spp
Chaetomium spp
Chaetosphaeronema larense
Cladosporium cladosporioides
Conidiobolus incongruus
Coprinus cinereus
Cunninghamella geniculata
Curvularia pallescens, *C. senegalensis*
Cylindrocarpon tonkinense
Drechslera spp
Exophiala manoliae
Fusarium dimerum, *F. nivale*
Geotrichum candidum
Hansenula polymorpha
Lasiodiplodia theobromae
Microascus desmoporus
Mucor rouxianus
Mycelia sterilia
Mycocentrospora acerina
Oidiodendron cerealis
Paecilomyces lilacinus, *P. variotti*, *P. viridis*
Penicillium chrysogenum, *P. citrinum*, *P. commune*, *P. expansum*, *P. spinulosum*
Phialophora hoffmannii, *P. parasítica*, *P. repens*
Phoma ribernica
Phyllosticta spp, *P. ovalis*
Pyrenochaeta ungüis-hominis
Rhizoctonia spp
Rhodotorula pilimanae, *R. rubra*
Schizophyllum commune
Scopulariopsis acremonium, *S. brumptii*
Stenella araguata
Taeniolella stilbospora
Tetraploa spp
Trichosporon capitatum

Tritirachium oryzae

Volutella cinerescens

VÍRUS

Adenovírus humanos, caninos e de aves

Arenavírus do Novo Mundo (complexo Tacaribe): vírus Amapari, Latino, Paraná, Pichinde, Tamiami, exceto os listados nas classes de risco 3 e 4.

Arenavírus do Velho Mundo : vírus Ippy, Mobala, coriomeningite linfocitária (amostras não neurotrópicas)

Astrovírus, todos os tipos.

Birnavírus, todos os tipos, incluindo o vírus Gumboro e vírus relacionados,

Picobirnavirus e Picotrinavirus

Bunyavírus, todos os tipos, incluindo vírus Belém, Mojuí dos Campos, Pará, Santarém, Turlock, e Grupo *Anopheles A* (*Arumateua, Caraipé, Lukuni, Tacaiuma, Trombetas, Tucuruí*), Grupo *Bunyamwera* (*Iaco, Kairi, Macauã, Maguari, Sororoca, Taiassuí, Tucunduba, Xingu*), Grupo C (*Apeu, Caraparu, Itaquí, Marituba, Murutucu, Nepuyo, Oriboca*), Grupo *Capim* (*Acara, Benevides, Benfica, Capim, Guajará, Moriche*), Grupo da encefalite da Califórnia (*Inkoo, La Crosse, Lumbo, San Ângelo, Snow hare, Tahyna*), Grupo *Guamá* (*Ananindeua, Bimiti, Catú, Guamá, Mirim, Moju, Timboteua*), Grupo *Melão* (*Guaroa, Jamestown Canyon, Keystone, Serra do Navio, South River, Trivittatus*), Grupo *Simbu* (*Jatobal, Oropouche, Utinga*)

Circovirus, incluindo vírus TT e vírus relacionados.

Coronavírus, todos os tipos incluindo vírus humanos, gastroenterite de suínos, Hepatite murina, Coronavírus de bovinos, caninos, ratos e coelhos, peritonite infecciosa felina, bronquite infecciosa aviária.

Flavivírus, todos os tipos, incluindo vírus Bussuquara, Cacipacoré, dengues tipos 1,2,3 e 4, Febre Amarela vacinal; encefalite de São Luis, Ilhéus, Kunjin, Nilo Ocidental

Hantavírus, incluindo Prospect Hill e Puumala e exceto os listados na classe de risco 3

Hepacivírus, todos os tipos, incluindo o vírus da Hepatite C.

Herpesvírus, todos os tipos, incluindo Citomegalovírus, Herpes simplex 1 e 2, Herpes vírus tipo 6 (HHV6), Herpes vírus tipo 7 (HHV7), Herpes vírus tipo 8 (HHV8), Varicela-Zoster

Naiovírus, incluindo Hazara

Norovírus, todos os tipos, incluindo, vírus Norwalk e Saporó

Orthohepadnavírus, todos os tipos, incluindo vírus da Hepatite B e vírus da Hepatite D (Delta)

Orthomyxovírus, todos os tipos, incluindo vírus da Influenza A,B e C, e os tipos transmitidos por carrapatos, vírus Dhori e Thogoto, exceto as amostras aviárias asiáticas de influenza A, como H5N1, que deverão ser listadas na classe de risco 4

Papillomavírus, todos os tipos, incluindo os vírus de papilomas humanos.

Paramyxovírus, todos os tipos, incluindo vírus da Caxumba, doença de NewCastle (amostras não asiáticas), Parainfluenza 1 a 4, Pneumovírus, Sarampo, Nipah, vírus Respiratório Sincicial, exceto os listados na classe de risco 4

Parvovírus, todos os tipos, incluindo Parvovírus Humano B-19

Pestivirus, todos os tipos, incluindo os vírus da diarreia bovina

Phlebovirus, todos os tipos, incluindo vírus Alenquer, Ambé, Anhangá, Ariquemes, Belterra, Bujarú, Candiru, Icoarací, Itaituba, Itaporanga, Jacundá, Joa, Morumbi, Munguba, Nápoles, Oriximia, Pacuí, Serra Norte, Tapará, Toscana, Uriurana, Urucuri, Uukuvírus

Picornavírus, todos os tipos, incluindo vírus Cocksackie, vírus da conjuntivite hemorrágica aguda (AHC), vírus da Hepatite A (enterovírus humano tipo 72), vírus da poliomielite, vírus ECHO, Rhinovírus

Polyomavirus, todos os tipos incluindo vírus BK e JC, e vírus Símio 40 (SV40)

Poxvírus, todos os tipos, incluindo Buffalopox, Cotia, Cowpox e vírus relacionados isolados de felinos domésticos e de animais selvagens, nódulo do ordenhador, Molluscum contagiosum, Myxoma, Parapoxvírus, Poxvirus de caprinos, suínos e aves, Vaccinia, vírus Orf, Yatapox Tana

Reovírus gênero Orthoreovírus, todos os tipos, incluindo os 1,2 e 3, Coltivirus, Orbivirus, Reovirus isolados na Amazônia dos grupos Changuinola e Corriparta, Rotavirus humanos, vírus Leri, Itupiranga e Tembê.

Retrovirus (classificados na classe de risco 2 apenas para sorologia, para as demais operações de manejo em laboratório estes vírus devem ser considerados na

classe de risco 3), vírus da imunodeficiência Humana HIV-1 e HIV-2, vírus linfotrópico da célula T do adulto HTLV-1 e HTLV-2 e vírus de primatas não humanos.

Rhabdovirus, incluindo vírus Aruac, Duvenhage, Inhangapi, Xiburema, vírus da Raiva amostras de vírus fixo, Grupo da Estomatite Vesicular (Alagoas VSV-3, Carajás, Cocal VSV-2, Indiana VSV-1, Juruna, Marabá, Marabá VSV-4, Piry), Grupo Hart Park (Hart Park, Mosqueiro), Grupo Mussuri (Cuiabá, Marco), Grupo Timbó (Chaco, Sena Madureira, Timbó)

Togavírus, todos os tipos, gênero Alphavírus incluindo vírus Aura, Bebaru, Bosque Semliki, Chikungunya, encefalomielite eqüina ocidental, encefalomielite eqüina oriental, encefalite eqüina Venezuela amostra TC 83; Mayaro, Mucambo, O'nyong-nyong, Pixuna, Rio Ross, Sindbis, Una, gênero Rubivirus incluindo o vírus da rubéola

Vírus da Hepatite E

VÍRUS ONCOGÊNICOS DE BAIXO RISCO

Adenovírus 1 aviário (CELO vírus)

Adenovírus 7- Simian vírus 40 (Ad7-SV40)

Herpesvirus de cobaias

Polyoma virus

Rous sarcoma vírus

Shope fibroma virus

Shope papilloma virus

Vírus da Doença de Marek

Vírus da Leucemia de Hamsters

Vírus da Leucemia de Murinos

Vírus da Leucemia de Ratos

Vírus da Leucose Aviária

Vírus da Leucose Bovina Enzoótica

Vírus do Papiloma Bovino

Vírus do Sarcoma Canino

Vírus do Sarcoma Murino

Vírus do Tumor Mamário do Camundongo

Vírus Lucke de rãs

Vírus Mason-Pfizer de símios

VÍRUS ONCOGÊNICOS DE RISCO MODERADO

Adenovírus 2-Simian vírus 40 (Ad2-SV40)

Epstein-Barr virus (EBV)

Poxvírus Yatapox Yaba

Vírus da Leucemia de Gibões (GaLV)

Vírus da Leucemia Felina (FeLV)

Vírus do Sarcoma de Símios (SSV-1)

Vírus do Sarcoma Felino (FeSV)

CLASSE DE RISCO 3

AGENTES BACTERIANOS INCLUINDO RIQUÊTSIAS

Bacillus anthracis

Bartonella, exceto listados na classe de risco 2

Brucella spp, todas as espécies

Burkholderia mallei (*Pseudomonas mallei*), *Burkholderia pseudomallei* (*Pseudomonas pseudomallei*)

Chlamydia psittaci (cepas aviárias)

Clostridium botulinum

Coxiella burnetti

Escherichia coli, cepas verotoxigênicas como 0157:H7 ou O103

Francisella tularensis (tipo A)

Haemophilus equigenitalis

Mycobacterium bovis, exceto a cepa BCG, *M.tuberculosis*

Pasteurella multocida tipo B amostra buffalo e outras cepas virulentas

Rickettsia akari, *R.australis*, *R.canada*, *R.conorii*, *R.montana*, *R.wazekii*, *R.rickettsii*,
R.siberica, *R.tsutsugamushi*, *R.typhi* (*R.mosseri*) *Yersinia pestis*

PARASITA

Nenhum

FUNGOS

Coccidioides immitis culturas esporuladas; solo contaminado

Histoplasma capsulatum, todos os tipos, inclusive a variedade *duboisii* e variedade *capsulatum*

VÍRUS E PRÍONS

Arenavírus do Novo Mundo, incluindo vírus *Flexal*, exceto os listados na classe de risco 2 e 4

Arenavírus do Velho Mundo, incluindo vírus da coriomeningite linfocítica (amostras neurotrópicas)

Flavivírus, incluindo vírus da encefalite da Austrália (encefalite do Vale Murray), encefalite Japonesa B, Febre Amarela não vacinal, Powassan, Rocio, Sal Vieja, San Perlita, Spondweni, exceto os listados na classe de risco 2

Hantavírus, incluindo vírus Andes, Dobrava (Belgrado), Hantaan (febre hemorrágica da Coreia), Juquitiba, Seoul, Sin Nombre e outras amostras do grupo isoladas recentemente

Herpesvírus, incluindo *Rhadinovirus* (herpesvírus de Ateles e herpesvírus de Saimiri)
Oncornavirus C e D

Príons, incluindo agentes de encefalopatias espongiformes transmissíveis: encefalopatia espongiforme bovina (BSE), scrapie e outras doenças animais relacionadas, doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD), insônia familiar fatal, síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker e Kuru

Retrovirus, incluindo os vírus da imunodeficiência humana (HIV-1 e HIV-2), vírus linfotrópico da célula T humana (HTLV-1 e HTLV-2) e vírus da imunodeficiência de símios (SIV)

Togavírus vírus da encefalite eqüina venezuelana (exceto a amostra vacinal TC-83)

Vírus da Raiva amostras de rua (*Lyssavirus*)

CLASSE DE RISCO 4

AGENTES BACTERIANOS INCLUINDO RIQUÉTSIAS

Cowdria ruminantium (heart water)

FUNGOS

Nenhum

PARASITAS

Theileria annulata, *T.bovis*, *T.hirci*, *T.parva* e agentes relacionados.

VÍRUS E MICOPLASMAS

Arenavírus agentes de febres hemorrágicas do Velho Mundo (Lassa) e do Novo

Mundo (Guaranito, Junin, Machupo, Sabiá, e outros vírus relacionados)

Encefalites transmitidas por carrapatos (vírus da encefalite da Europa Central com

suas várias amostras, vírus da encefalite primavera-verão russa, vírus da febre hemorrágica de Omsk, vírus da floresta de Kyasanur)

Filovírus, incluindo vírus Marburg, Ebola e outros vírus relacionados

Herpesvírus do macaco (vírus B)

Nairovírus agente da febre hemorrágica (Criméia-Congo)

Varíola do camelo (camel-pox)

Varíola do macaco (monkey-pox)

Varíola major e alastrim

Vírus da aftosa com seus diversos tipos e variantes

Vírus da cólera suína

Vírus da doença de Borna

Vírus da doença de Newcastle (amostras asiáticas)

Vírus da doença de Teschen

Vírus da doença de Wesselbron

Vírus da doença hemorrágica de coelhos

Vírus da doença Nairobi do carneiro e vírus relacionados como Ganjam e Dugbe

Vírus da doença vesicular do suíno
Vírus da enterite viral de patos, gansos e cisnes
Vírus da febre catarral maligna de bovinos e cervos
Vírus da febre do vale do Rift
Vírus da febre efêmera de bovinos
Vírus da febre petequial infecciosa bovina
Vírus da hepatite viral do pato 1, 2 e 3
Vírus da Influenza A aviária (amostras de epizootias)
Vírus da língua azul (bluetongue)
Vírus da lumpy skin
Vírus da peste aviária
Vírus da peste bovina
Vírus da peste dos pequenos ruminantes
Vírus da peste eqüina africana
Vírus da peste suína africana
Vírus da peste suína clássica (amostra selvagem)
Vírus do louping ill de ovinos
Mycoplasma agalactiae (caprinos e ovinos)
Mycoplasma mycoides mycoides (pleuropneumonia bovina)