



Biossegurança



Prof. Dr. Jansen de Araujo
Departamento de Microbiologia Laboratório BSL3
de Virologia Clínica e Molecular
Universidade de São Paulo
ICB-II/USP



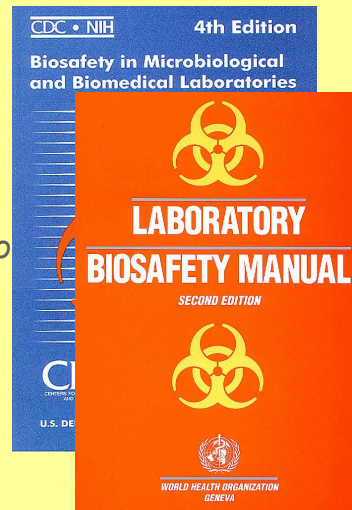
Biossegurança no Campo Para análise de Virus Emergentes



Definição

Biossegurança

Aplicação da combinação das práticas e procedimentos laboratoriais, instalações e equipamentos de segurança para o trabalho com microorganismos potencialmente infecciosos.



Proteção do Procedimento

- Pessoas são a principal fonte de contaminação;
- Pele humana libera de 200 a 1200 partículas/minuto;

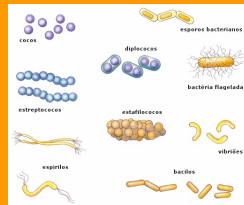
A proteção do procedimento garante:

- Meios estéreis para o crescimento microbiano;
- Redução da contaminação microbiana;
- Instrumentos e aparelhos estéreis;
- Adequada descontaminação.

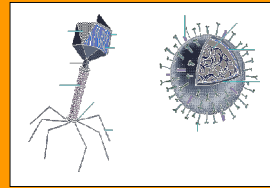
A maioria dos procedimentos que protegem o procedimento também protegem o operador !



Identidade e Caracterização do agente



- Agente;
- Informações sobre a doença;
- Grupo de risco;
- Níveis de biossegurança;
- Histórico de infecções adquiridas
- Pobremente caracterizado ou com poucas informações publicadas, procurar membros da mesma família



Transmissão potencial por atividades laboratoriais

- Respingos: contato com mucosas dos olhos, nariz, boca, cortes e feridas abertas;
- Contaminação das superfícies do laboratório: ingestão ou mucocutânea;
- Material contaminado (agulhas, vidraria quebrada, ...):
- Inoculação;



- Ingestão inadvertida: comer, beber e fumar durante procedimento laboratorial laboratório.

Via de susceptibilidade

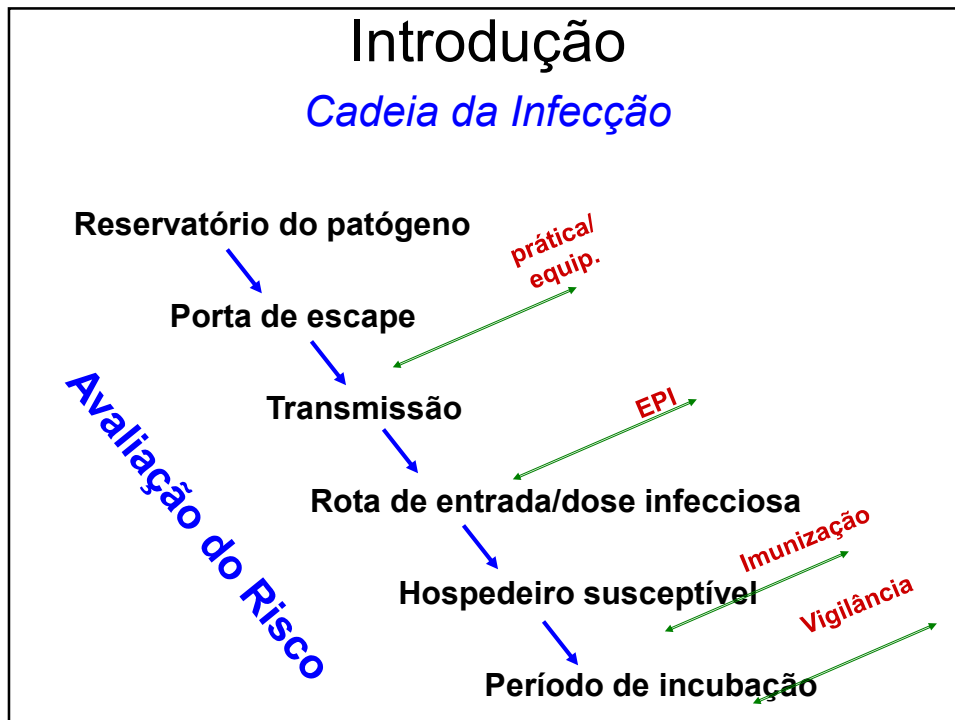
- Para infectar o operador, o microrganismo precisa de uma via susceptível de entrada;
- A via, por sua vez, depende do agente infeccioso;
- Melhor assumir que o agente pode ser transmitido por várias vias;



Habilidade do operador



- Influenciam o nível do risco:
- O grau de conhecimento e experiência do operador em trabalhar com o agente no laboratório;
- Treinamento em segurança biológica e experiência com práticas seguras de trabalho laboratorial (BPL);
- Operador bem treinado tem menor risco de contrair uma infecção no laboratório;
- Quanto maior o nível de biossegurança necessário para trabalhar com um agente, maior deve ser o nível de experiência e treinamento do operador.



PRINCÍPIOS DE BIOSSEGURANÇA

- **CONTENÇÃO:** Proteger pessoas e o meio ambiente
 - Contenção primária
 - Contenção secundária
- Definição do nível de biossegurança em função dos riscos

Níveis de Biossegurança

- **NB1** - agentes conhecidos por não causarem doença.
- **NB2** - agentes associados com doenças em seres humanos.
- **NB3** – agentes nativos/exóticos associados a doenças em seres humanos e com potencial para serem transmitidos via aerossol.
- **NB4** – agentes perigosos/exóticos que ameaçam a vida.

Nível de Biossegurança 1 *Introdução*

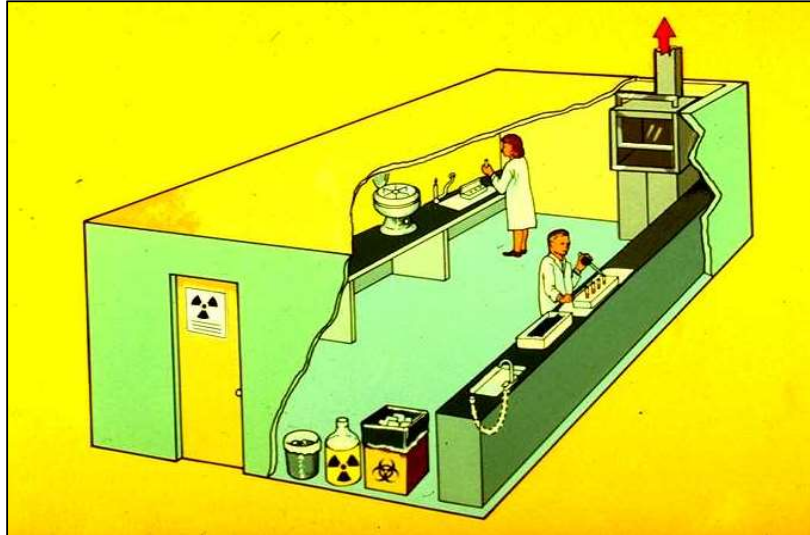
Adequado para o trabalho que envolve agentes bem caracterizados, *conhecidos por não provocarem doenças em adultos humanos sadios e de risco potencial mínimo* para o pessoal do laboratório e para o meio ambiente.

Exemplos:

- Bacillus subtilis, Naegleria gruberi; Vírus infeccioso da hepatite canina ; E. coli

Nível de Biossegurança 1

Projeto da Instalação (Barreira Secundária)



Nível de Biossegurança 1

Projeto da Instalação (Barreira Secundária)



Facilmente limpo
e
descontaminado

Nível de Biossegurança 1

Construção da Instalação (Barreira Secundária)

Exigências:

- Localização: não precisa ser separada
- Estrutura: construção convencional
- Ventilação: nenhuma

Nível de Biossegurança 1

Práticas Padrões de Microbiologia

- Restringir ou limitar o acesso durante o trabalho
- Não permitir comer, beber e fumar
- Proibido pipetar com a boca



Nível de Biossegurança 1

Práticas Padrões de Microbiologia

- Minimizar salpicos e aerossóis
- Descontaminar diariamente as superfícies de trabalho
- Descontaminar lixos
- Manter programa de controle de insetos e roedores

Nível de Biossegurança 1

Equipamento de Segurança (Barreira Primária)

Roupa de proteção

- *Jaleco para laboratório*
- Luvas



Nível de Biossegurança 1

Equipamento de Segurança (Barreira Primária)

Equipamento de proteção individual

- Proteção facial
- Proteção para os olhos



2.3

Nível de Biossegurança 1

Exigências quanto ao treinamento

- **Supervisor**
 - Pesquisador com treinamento geral em microbiologia ou ciência correlata
- **Pessoal do Laboratório**
 - Treinamento específico em procedimentos laboratoriais

Nível de Biossegurança 2

Introdução

Adequado para o trabalho que envolve *agentes com potencial de risco, nível moderado*, ao pessoal e ao meio ambiente.

Exemplos:

- Vírus do sarampo; Salmonella; Toxoplasma spp.; Vírus da hepatite B; Vírus da Raiva

* *A imunização ou o tratamento com antibióticos está disponível à população*

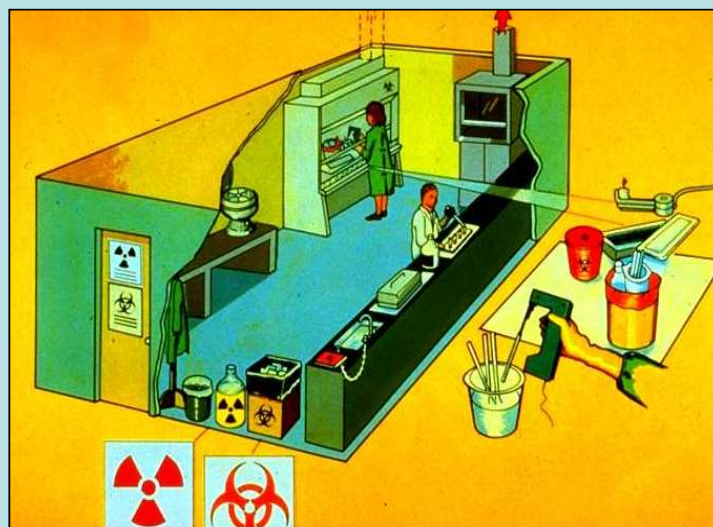
Exemplos:

- Patógenos do sangue
- Fluidos corpóreos humanos / particularmente quando visivelmente contaminados com sangue

* *Extrema precaução com agulhas ou instrumentos perfurocortantes contaminados*

Nível de Biossegurança 2

Projeto da Instalação (Barreira secundária)



Nível de Biossegurança 2

Projeto da Instalação (Barreira Secundária)

Exigências:

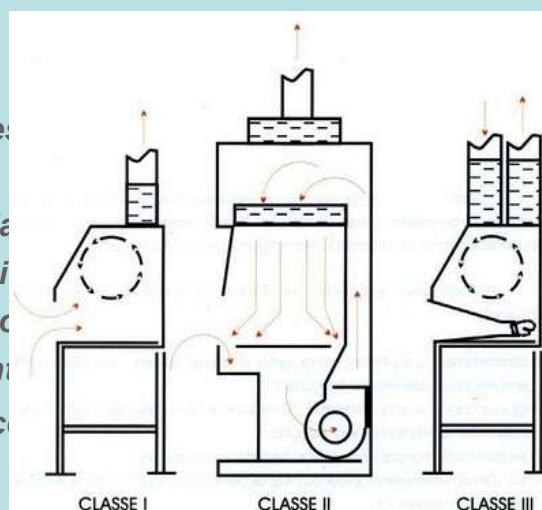
- *Laboratórios possuam portas com trancas*
- *Superfícies de trabalho de fácil limpeza*
- *Bancadas sejam impermeáveis a água*
- *Móveis resistentes*

Nível de Biossegurança 2

Projeto da Instalação (Barreira Secundária)

Exigências (cont.):

- *Instalação de cabine*
- *Iluminação adequada*
- *Lava-olhos a disposi*
- *Fluxo de ar dentro de*
- *as áreas não pertencem*
- *Janelas adaptadas c*



Nível de Biossegurança 2

Construção da Instalação (Barreira Secundária)

Exigências:

- Localização: separada de áreas públicas
- Estrutura: construção normal
- Ventilação: direcionada

Nível de Biossegurança 2

Equipamento de Segurança (Barreira Primária)

Além dos usados em um NB-1:

- Cabines de biossegurança (classe II) ao trabalhar com agentes infecciosos envolvendo:
 - Aerossóis e salpicos
 - Grandes volumes
 - Altas concentrações

Nível de Biossegurança 2

Equipamento de Segurança (Barreira Primária)

- Cabine de Segurança Biológica Classe II
– Técnica



2.4

Nível de Biossegurança 2

Práticas Especiais

Supervisão

- *Supervisor é um pesquisador competente com inúmeras responsabilidades*
 - Limita o acesso se imunocomprometido
 - O acesso se restringe ao imunizado

Pessoal do Laboratório

- *Consciência dos riscos potenciais*
- *Eficiência em práticas/técnicas*

Níveis de Biossegurança 2

Práticas Especiais

- Estatutos e procedimentos para entrada
- Sinalização de risco biológico
- Manual de biossegurança específico para laboratório
- Treinamento com atualização anual



Nível de Biossegurança 2

Práticas Especiais

- Imunizações
- Controle através de amostras sorológicas



Nível de Biossegurança 3

Introdução

Adequado para o trabalho com agentes infecciosos que *podem causar enfermidades sérias ou potencialmente letais* como resultado de uma exposição por inalação.

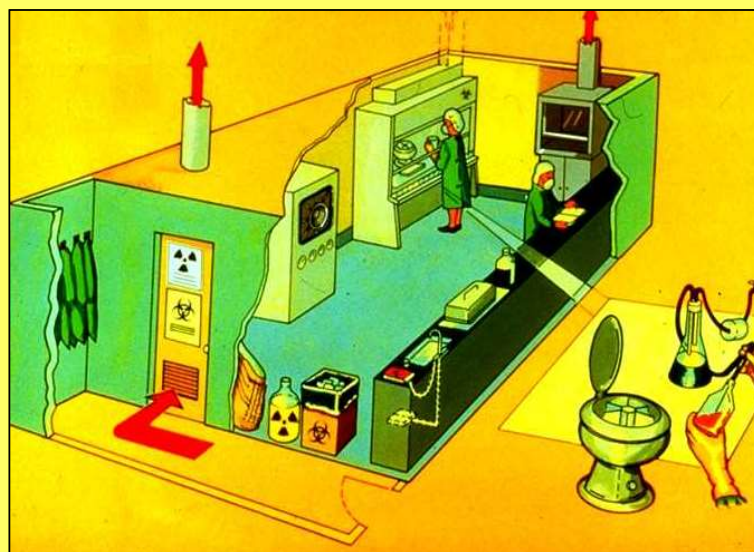
Exemplos:

- Vírus do complexo Encefalite; Arbovirus; Hantavirus; Micobacteria Tuberculose; Vírus de animais silvestres.

Não existem tratamentos e imunizações eficientes.

Nível de Biossegurança 3

Instalações laboratoriais (Barreira Secundária)



Nível de Biossegurança 3

Práticas Padrões de Microbiologia

**Como nos NB
1 e NB -2**



Nível de Biossegurança 3

Equipamento de Segurança (primária barreiras)

- Equipamento de Segurança de NB-1 e de NB - 2 MAIS:
 - A proteção respiratória pode ser indicada



Níveis de Biossegurança 3

Práticas Especiais

- Práticas Especiais de NB-2 MAIS:
- *Trabalhar em CSB certificadas*
 - Usar equipamento de contenção de aerossol biológico
 - Descontaminar rapidamente os derramamentos



Nível de Biossegurança 3

Práticas Especiais

Supervisão

- *O supervisor é um pesquisador competente com experiência no trabalho com agentes*
 - Estabelece os critérios para a entrada
 - Limita o acesso
 - Desenvolve estatutos/procedimentos
 - Treina o pessoal do laboratório

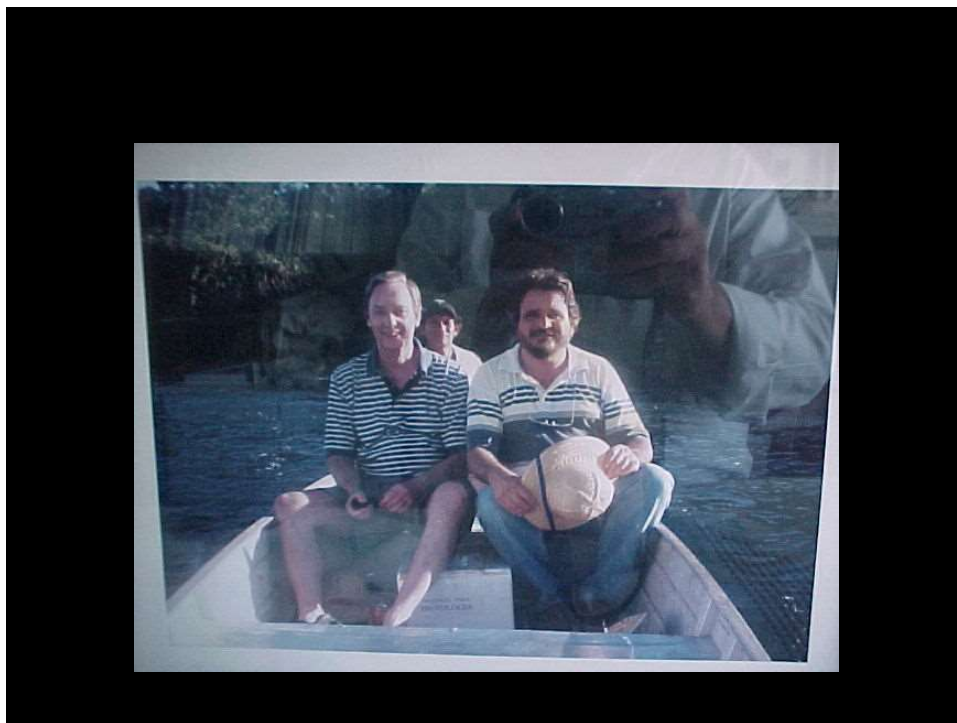
Nível de Biossegurança 3

Práticas Especiais

Pessoal do Laboratório

- *Segue rigidamente as normas*
- *Demonstra eficiência*
- *Recebe treinamento apropriado*
- *Relata incidentes*
- *Participa da vigilância médica*





BSL3+ Laboratory



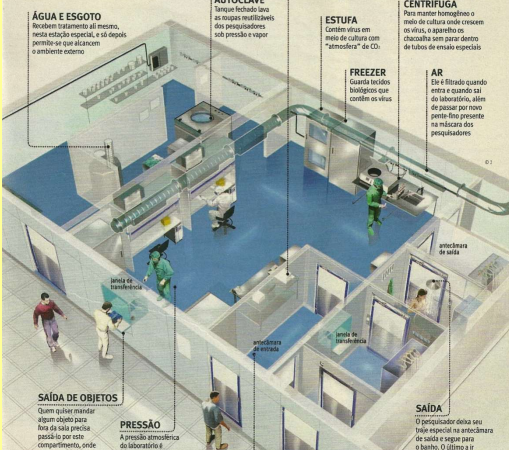
O primeiro
laboratório
de segurança
máxima
nível 3
do país.

Laboratório NB3+ - Prof. Dr. Klaus Eberhard Stewien

BEM-VINDO AO SUPERLABORATÓRIO BRASILEIRO
No mundo todo, só existe uma instalação mais segura que esta

AGUA E ESGOTO
Recidem tratamento até mesmo, nesta estação especial, e só depois permitem que alcancem o ambiente externo

SEQÜENCIADOR DE DNA
A máquina lê as "letras" químicas do material genético dos vírus e traduz os dados para o laptop acoplado. Os pesquisadores identificam o organismo em tempo real



AUTOCLEAVE
Tanque fechado lava as roupas, materiais dos pesquisadores sob pressão e vapor

ESTUFA
Contêm vírus em meio de cultura com "nutrientes" do CD.

CENTRÍFUGA
Para manter homogêneo o meio de cultura onde crescem os vírus, o aparelho os chacoalha sem parar dentro de tubos de ensaio especiais

FREEZER
Guarda reações biológicas que contêm os vírus

AR
É filtrado quando entra e quando sai do laboratório, além de passar por novo pente-fino presente na máscara dos pesquisadores

SAÍDA DE OBJETOS
Quem quiser mandar algum objeto para fora da sala precisa passá-lo por este compartimento, onde ele leva um banho de estéril e de radiação ultravioleta para matar os microorganismos contaminantes

PRESSÃO
A pressão atmosférica do laboratório é ligeiramente mais baixa que a de fora. Isso que há um problema para a circulação dos pesquisadores: ali dentro - não há - nenhum problema, é o ar de fora que entra, e não o de dentro que escapa

ENTRADA
Na antecâmara de entrada, o visitante se despe e deposita sua roupa pessoal na prateleira à direita. Então coloca o traje especial para o trabalho: máscara, capuz, luvas, lona e pantufas

PORTAS
Também em operação. Para abrir uma delas, o técnico deve estar fechado. Todas são vedadas com uma borracha que infla para impedir qualquer circulação de ar

SAÍDA
O pesquisador deixa seu traje especial na estância de saída e segue para a banheira. O filtro de embora lava as máscaras (de cabeça para baixo) na autoclave. O banho é tomado com 30 litros de água com cloro desinfetante mais 30 litros de água destilada. Por fim, o cientista pega sua roupa na prateleira que está para a antecâmara de entrada e pode sair

Fevereiro 2004, **EL 23**





Nível de Biossegurança 4

Introdução

Adequado para o trabalho com agentes exóticos e perigosos que *oferecem um alto risco individual de infecções e doenças laboratoriais de grande risco transmitidas por aerossóis*, ou que possuam risco de transmissão desconhecido; Infecção possivelmente fatal

Exemplos:

- *Virus Ebola Zaire*; *Virus Sin Nombre*; *Virus da Febre do Vale Rift*

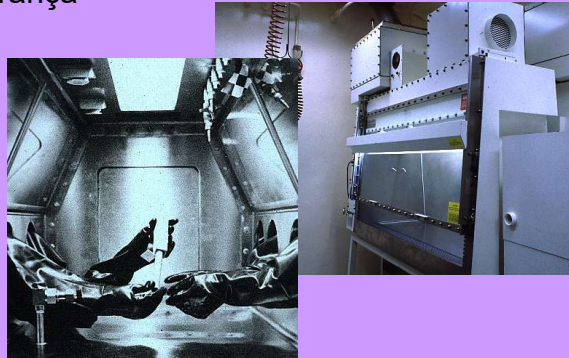


Ebola Zaire

Nível de Biossegurança 4

Equipamento de Proteção (Barreiras Primárias)

- Equipamento de Segurança de NB 1, 2, e 3 MAIS:
 - Cabine de segurança biológica de Classe II (B2) ou Classe III para manipulação de material infeccioso



Nível de Biossegurança 4

Equipamento de Proteção (Barreiras Primárias)

- Equipamento de Proteção de NB 1, 2, e 3 MAIS:
 - Macacão individual de pressurização positiva



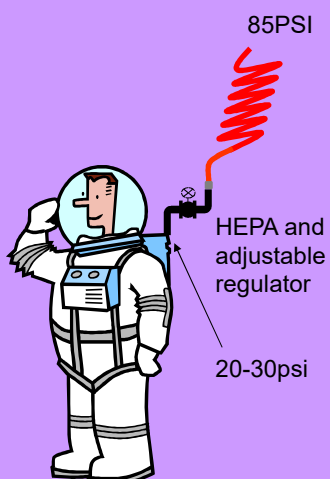
Nível de Biossegurança 4

Práticas Especiais

- Práticas Especiais de NB3, MAIS:
 - Decontaminar todos os efluentes líquidos
 - Decontaminar todos os dejetos sólidos



BSL- 4



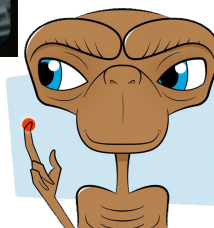


Níveis de Biossegurança



nça;
umanos;
enças em seres
em transmitidos via
n a vida.

- **NB5 ???**- agentes extraterrestres



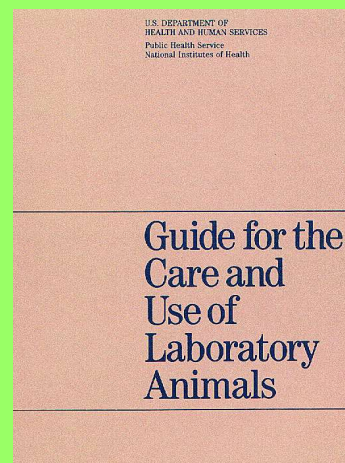
Biossegurança Animal



Biossegurança Animal

Introdução

- O trabalho com animais apresenta problemas singulares para os laboratoristas.
- A gerência deve proporcionar:
 - *qualidade ambiental*
 - *segurança*
 - *cuidado com a qualidade*



Riscos com animais :

- *aerossóis*
- *mordidas*
- *arranhões*
- *doenças zoonóticas*



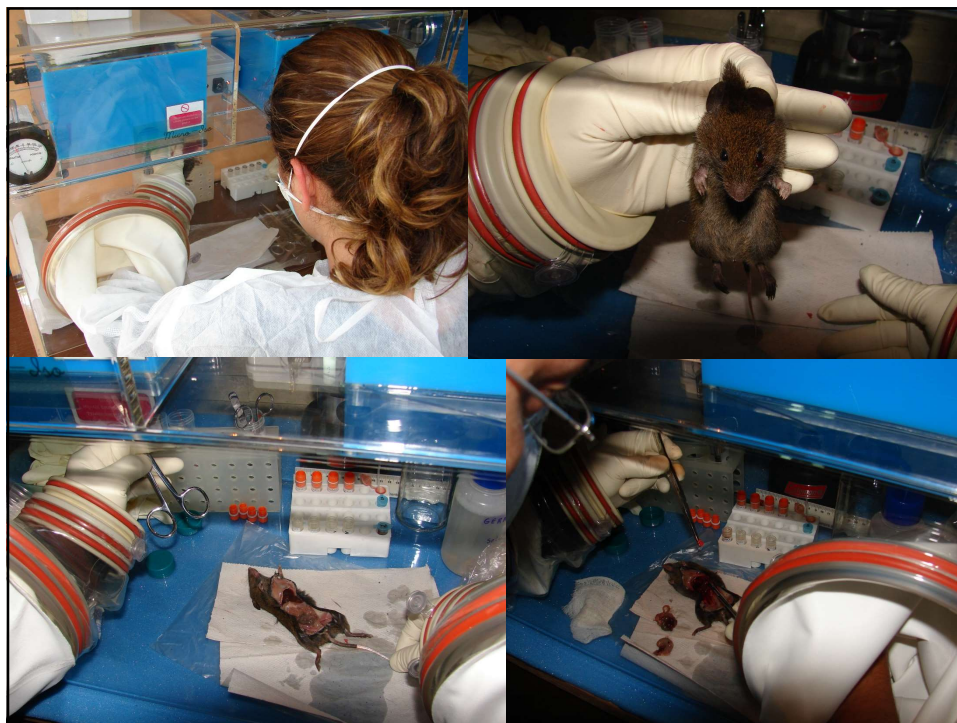
Biossegurança no Campo



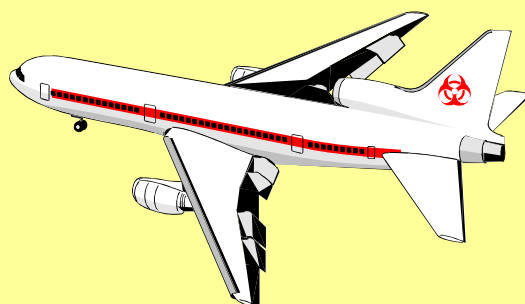
Equipe móvel







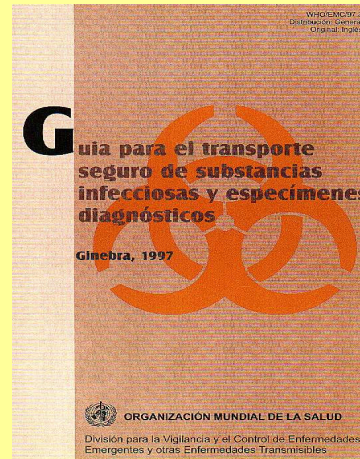
Transporte de Amostras Biológicas



Transporte de Amostras Biológicas

Estatutos

- Recomendações do Comitê de Produtos Perigosos



Transporte de Amostras Biológicas

Regulamentações

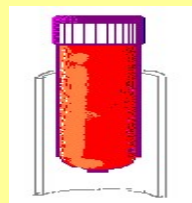
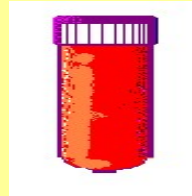
- **PHS:** 42 CFR Parte 72.
- **DOT:** 49 CFR Parte 171-178
- **USPS:** Manual de Correspondência Doméstica
- **IATA:** Associação Internacional de Transporte Aéreo
- **ICAO:** Organização Internacional da Aviação Civil

Transporte de Amostras Biológicas

Substância Infecciosa

Acondicionamento

- Embalagem Primária
– Vedação Positiva
- Material Absorvente

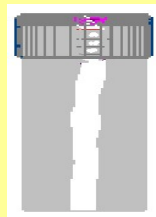
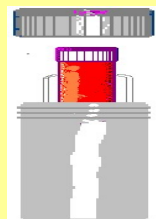


Transporte de Amostras Biológicas

Substância Infecciosa

Acondicionamento

- Embalagem Secundária
- Hermética/à prova de vazamento

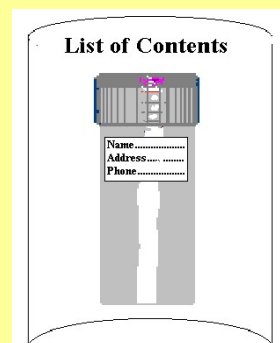


Transporte de Amostras Biológicas

Substância Infecciosa

Acondicionamento

- Entre a Embalagem Secundária e a Exterior
 - Relação do Conteúdo
 - Etiqueta do Transportador
 - Nome
 - Endereço
 - Telefone

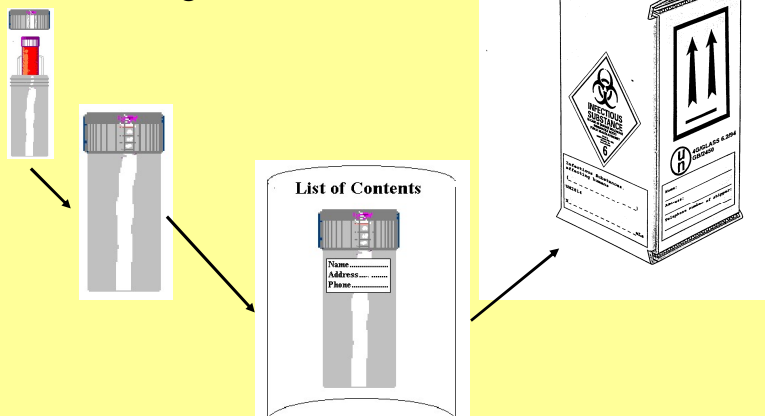


Transporte de Amostras Biológicas

Substância Infecciosa

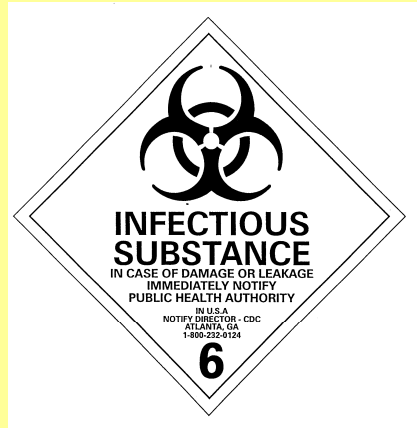
Acondicionamento

- Embalagem de fora

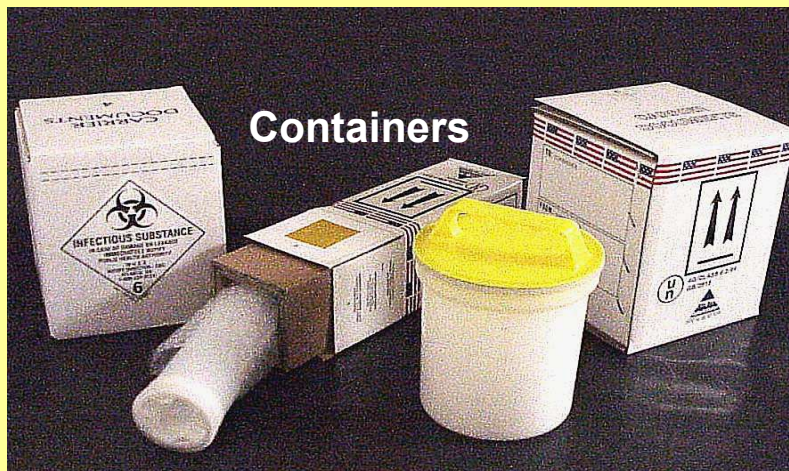


Transporte de Amostras Biológicas **Substância Infecciosa**

Rótulo da embalagem



Transporte de Amostras Biológicas **Substância Infecciosa**

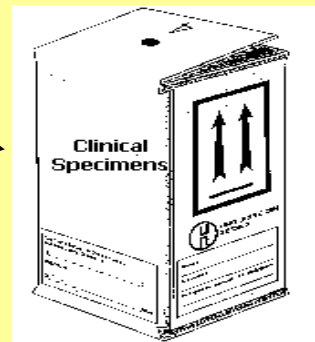


Transporte de Amostras Biológicas

Amostra Clínica

Acondicionamento

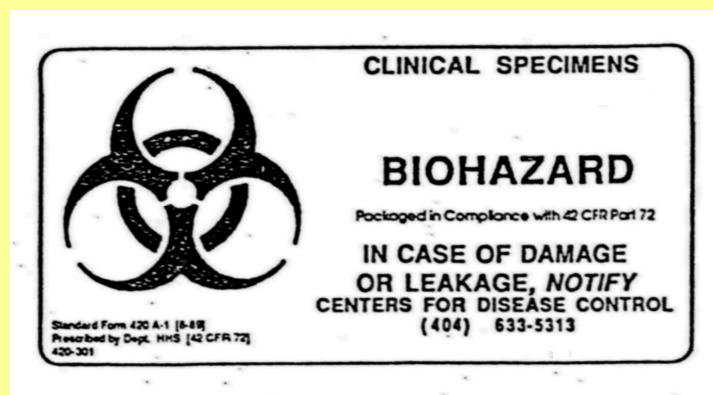
- Embalagem Exterior



Transporte de Amostras Biológicas

Amostra Clínica

Etiqueta da Embalagem



Agora é com vocês!

