



MANUAL DE
BIOSSEGURANÇA
PARA LABORATÓRIOS DA
TUBERCULOSE



Organização
Mundial da Saúde



MANUAL DE
BIOSSEGURANÇA
PARA LABORATÓRIOS DA
TUBERCULOSE



Organização
Mundial da Saúde

Catálogo-na-fonte: Biblioteca da OMS:

Manual de biossegurança para laboratórios da tuberculose.

1.Laboratórios – normas. 2.Infecção laboratorial – prevenção e controle. 3.Tuberculose – diagnóstico. 4.Contenção de riscos biológicos. 5.Manuais de laboratório. 6.Guia. 1.Organização Mundial da Saúde.

ISBN 978 92 4 850463 1

(NLM classification: WF 220)

© Organização Mundial da Saúde 2013

Todos os direitos reservados. As publicações da Organização Mundial da Saúde estão disponíveis no sítio web da OMS (www.who.int) ou podem ser compradas a Publicações da OMS, Organização Mundial da Saúde, 20 Avenue Appia, 1211 Genebra 27, Suíça (Tel: +41 22 791 3264; fax: +41 22 791 4857; e-mail: bookorder@who.int). Os pedidos de autorização para reproduzir ou traduzir as publicações da OMS – seja para venda ou para distribuição sem fins comerciais - devem ser endereçados a Publicações da OMS através do sítio web da OMS (http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html).

As denominações utilizadas nesta publicação e a apresentação do material nela contido não significam, por parte da Organização Mundial da Saúde, nenhum julgamento sobre o estatuto jurídico ou as autoridades de qualquer país, território, cidade ou zona, nem tampouco sobre a demarcação das suas fronteiras ou limites. As linhas ponteadas nos mapas representam de modo aproximativo fronteiras sobre as quais pode não existir ainda acordo total.

A menção de determinadas companhias ou do nome comercial de certos produtos não implica que a Organização Mundial da Saúde os aprove ou recomende, dando-lhes preferência a outros análogos não mencionados. Salvo erros ou omissões, uma letra maiúscula inicial indica que se trata dum produto de marca registado.

A OMS tomou todas as precauções razoáveis para verificar a informação contida nesta publicação. No entanto, o material publicado é distribuído sem nenhum tipo de garantia, nem expressa nem implícita. A responsabilidade pela interpretação e utilização deste material recai sobre o leitor. Em nenhum caso se poderá responsabilizar a OMS por qualquer prejuízo resultante da sua utilização.

Designed by GPS Publishing

Printed in Italy

WHO/HTM/TB/2012.11

ÍNDICE

RESUMO	V
PARTICIPANTES NO PROCESSO DE DESENVOLVIMENTO DAS ORIENTAÇÕES	VI
SIGLAS	VII
INTRODUÇÃO	1
1. AVALIAÇÃO DOS RISCOS E CLASSIFICAÇÃO DE LABORATÓRIOS DE TB	6
1.1 EM QUE CONSISTE A AVALIAÇÃO DOS RISCOS PARA LABORATÓRIOS DE TB?	6
1.2 IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS	7
1.3 DETERMINAÇÃO DOS RISCOS	7
1.4 MONITORIZAÇÃO DOS RISCOS E MEDIDAS DE CONTROLO	11
1.5 PROGRAMA DE SAÚDE OCUPACIONAL DOS FUNCIONÁRIOS	12
1.6 CLASSIFICAÇÃO DOS LABORATÓRIOS DE TB	12
2. MEDIDAS ESSENCIAIS DE BIOSSEGURANÇA EM LABORATÓRIOS DE TB	14
2.1 CÓDIGO DE PRÁTICAS	14
2.2 EQUIPAMENTOS	18
2.3 PROJECTO E INSTALAÇÕES	18
2.4 FORMAÇÃO	19
2.5 TRATAMENTO DE RESÍDUOS	19
2.6 PROCEDIMENTOS DE DESCARTE DE MATERIAIS CONTAMINADOS	21
3. LABORATÓRIOS DE BAIXO RISCO DE TB	23
3.1 FACTORES QUE AUMENTAM O RISCO DE INFECÇÃO	23
3.2 CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS E MEDIDAS ESSENCIAIS MÍNIMAS DE BIOSSEGURANÇA	23
4. LABORATÓRIOS DE MÉDIO RISCO DE TB	27
4.1 FACTORES QUE AUMENTAM O RISCO DE INFECÇÃO	27
4.2 CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS E MEDIDAS ESSENCIAIS MÍNIMAS DE BIOSSEGURANÇA	27

5. LABORATÓRIOS DE ALTO RISCO DE TB (LABORATÓRIO DE CONTENÇÃO DA TB)	31
5.1 FACTORES QUE AUMENTAM O RISCO DE INFECÇÃO	31
5.2 CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS E MEDIDAS DE BIOSSEGURANÇA NECESSÁRIAS	31
6. EQUIPAMENTOS DE SEGURANÇA	33
6.1 CÂMARAS DE SEGURANÇA BIOLÓGICA	33
6.2 CENTRIFUGADORAS COM COPOS DE SEGURANÇA	39
6.3 AUTOCLAVES	40
7. VESTUÁRIO E EQUIPAMENTOS DE PROTECÇÃO PESSOAL	43
7.1 BATAS DE PROTECÇÃO	43
7.2 PROTECTORES RESPIRATÓRIOS	44
7.3 LUVAS	45
8. PLANOS DE PREPARAÇÃO E RESPOSTA A EMERGÊNCIAS	47
8.1 PLANO DE PREPARAÇÃO PARA EMERGÊNCIAS	47
8.2 MEDIDAS DE EMERGÊNCIA PARA LABORATÓRIOS DE TB	47
8.3 KIT PARA LIMPEZA DE DERRAMES	48
9. REFERÊNCIAS	50
10. ANEXOS	52
ANEXO 1: PARTICIPANTES NO ENCONTRO	52
ANEXO 2: DECLARAÇÕES DE INTERESSE	54
ANEXO 3: PAINEL DE REVISÃO POR PARES	55

Resumo

A partir de uma consulta técnica entre a Organização Mundial da Saúde (OMS) e os Centros de Prevenção e Controlo das Doenças dos Estados Unidos (CDC), ocorrida em Setembro de 2008, em Atlanta, GA, sobre estratégias, abordagens e parcerias para melhorar a biossegurança laboratorial em todo o mundo, foi convocado um encontro de peritos na sede da OMS em Genebra, na Suíça, em Abril de 2009, para elaborar orientações sobre biossegurança relacionadas com os procedimentos laboratoriais para diagnóstico da tuberculose (TB). Os membros do Grupo de Peritos apresentaram Declarações de Interesse, que foram analisadas pelo departamento jurídico da OMS, antes da reunião. O objectivo desse encontro foi o de obter consenso sobre os princípios básicos de práticas laboratoriais e o modelo necessário para definir critérios mínimos de biossegurança, durante a realização de baciloscopias, culturas, testes de sensibilidade aos medicamentos (TS) e testes moleculares de TB, em diferentes países e cenários epidemiológicos.

Este manual foi elaborado pelo Grupo de Peritos. As recomendações baseiam-se em avaliações de risco associadas a diferentes procedimentos técnicos, realizados em diferentes tipos de laboratórios de TB; o manual descreve os requisitos mínimos para instalações e procedimentos, que podem ser adaptados de acordo com regulamentos locais ou nacionais ou como resultado de uma avaliação dos riscos. A avaliação dos riscos requer uma análise cuidadosa: por um lado, subestimar os riscos poderá expor o pessoal de laboratório a riscos biológicos, mas por outro lado, medidas de segurança mais rigorosas do que as realmente necessárias podem resultar numa sobrecarga desnecessária para o pessoal de laboratório, assim como em custos mais altos para criar e manter a infraestrutura laboratorial. A avaliação de riscos deve considerar a carga bacteriana dos materiais (como amostras e culturas), a viabilidade dos bacilos, a possibilidade de o material manipulado ser propenso a gerar aerossóis durante a actividade que está a ser avaliada, o volume de trabalho do laboratório, a epidemiologia da doença e as condições de saúde do pessoal de laboratório; as avaliações devem também considerar outros factores que possam influenciar a probabilidade ou a consequência da exposição à TB.

O público visado por estas recomendações são os directores e gestores de laboratórios e de programas de TB, assim como técnicos de laboratório que realizem exames de TB, especialmente em locais de alta prevalência e de poucos recursos. Neste documento, o laboratório ou a secção de laboratório responsável por realizar os exames de TB, são denominados laboratório de TB.

As recomendações são específicas para laboratórios que seguem procedimentos bem definidos para testar amostras que potencialmente contenham *Mycobacterium tuberculosis*. Para qualquer outra combinação de agentes patogénicos e procedimentos, um processo semelhante ao usado aqui poderia ser utilizado para definir cuidados de biossegurança.

Este manual foi aprovado pela Comissão de Revisão das Orientações da OMS¹, em Maio de 2012, sendo fornecidas explicações ao longo de todo o manual, quando ele difere do Manual de Segurança Biológica em Laboratório da OMS, 3ª edição². Este manual pretende informar e não substituir os requisitos nacionais e padrões de biossegurança. As recomendações não substituem quaisquer regras ou regulamentações locais ou nacionais.

Próxima revisão: 2017

Participantes no processo de desenvolvimento das orientações

As seguintes pessoas contribuíram para redigir este manual:

Christopher Gilpin (Líder), Jean Iragena, Fuad Mirzayev, Wayne van Gemert, Karin Weyer

As seguintes pessoas participaram na Consulta Técnica Internacional Conjunta sobre Biossegurança Laboratorial CDC/OMS, 2 - 4 de Setembro de 2008, Atlanta, GA, EUA:

May Chu, Daniela Cirillo, Philippe Dubois, Christopher Gilpin, Paul Jensen, Shanna Nesby, Nicoletta Previsani, John Ridderhof, Thomas M Shinnick, Veronique Vincent, Karin Weyer.

As seguintes pessoas foram membros do Grupo de Peritos reunido na Sede da OMS, 8 - 9 de Abril de 2009, Genebra, Suíça:

Jenny Allen, May Chu, Daniela Cirillo, Sébastien Cognat, Philippe Dubois, Knut Feldmann, Christopher Gilpin, Jean Iragena, Paul Jensen, Moses Joloba, Jean Joly, Sang Jae Kim, Scott Kreitlein, Shanna Nesby, CN Paramasivan, Nicoletta Previsani, John Ridderhof, Thomas M Shinnick, Andrew Ramsay, Peter van't Erve, Veronique Vincent, Karin Weyer.

As seguintes pessoas compuseram o painel técnico de revisão reunido na Sede da OMS, 22-23 de Agosto de 2011, Genebra, Suíça:

Heather Alexander, Pawan Angra, Daniela Cirillo, Gerrit Coetzee, Edward Desmond, Maria Alice da Silva Telles, Sara Irène Eyangoh, Knut Feldmann, Christopher Gilpin, Rumina Hasan, Jean Iragena, Moses Joloba, Fuad Mirzayev, Satoshi Mitarai, Richard O'Brien, Daniel Orozco, CN Paramasivan, Nicoletta Previsani, Leen Rigouts, Thomas M Shinnick, Akos Somoskovi, Magdi Samaan, Wayne van Gemert, Elsie Van Schalkwyk.

Os autores também gostariam de agradecer as contribuições originais de muitos profissionais que trabalharam na elaboração do Manual de Segurança Biológica em Laboratório da OMS, 3ª edição, a partir do qual foram adaptadas partes do actual documento.

O desenvolvimento e a publicação deste documento foram possíveis com o apoio financeiro da Agência dos Estados Unidos para o Desenvolvimento Internacional (USAID) e dos Centros de Prevenção e Controlo das Doenças dos Estados Unidos (CDC).

Siglas

BAAR	Bacilos Álcool-Ácido Resistentes
CSB	Câmaras de Segurança Biológica
HEPA	Ar particulado de alta eficiência
TAH	Troca de Ar por Hora
TB-MR	Tuberculose Multirresistente aos Medicamentos
TB-UR	Tuberculose Ultrarresistente aos Medicamentos
TS	Teste de Sensibilidade

Definições de termos

Aerossóis infecciosos	Partículas em suspensão de agentes infecciosos que têm o potencial de ser inalados e causar infecção
Antecâmara	Uma sala pequena que liga uma área do laboratório a outra área do laboratório (por exemplo, na entrada de um laboratório de contenção).
Ar expelido (extração)	Ar removido de um laboratório e não recirculado.
Avaliação dos riscos	O processo de avaliar os riscos decorrentes de um perigo ou perigos, tendo em conta a adequação das medidas de controlo existentes; o processo também inclui decidir se o risco é aceitável.
Boas técnicas microbiológicas	Boas técnicas microbiológicas incluem técnicas assépticas e outras práticas que não são uniformemente definidas, mas que são necessárias para prevenir contaminação do laboratório com os agentes manipulados e para prevenir contaminação do trabalho com agentes provenientes do ambiente.
Esterilização	Um processo que mata todas as classes de microrganismos e esporos.
Gotículas nucleadas	Resíduos ressecados de gotículas com $<5 \mu\text{m}$ de diâmetro.
Bata de laboratório	Batas para laboratório, geralmente de mangas compridas e de apertar à frente. Devem ser usadas quando se trabalha em locais de baixo ou médio risco de contágio de tuberculose (TB).
Perigo	Qualquer coisa que tenha o potencial de causar dano, independentemente da probabilidade de tal acontecer.

Plano de gestão da biossegurança	O uso de uma combinação de controlos administrativos, princípios de contenção, práticas e procedimentos laboratoriais, equipamentos de segurança, preparação para emergências e instalações laboratoriais que permitam que a equipa do laboratório trabalhe com microrganismos infecciosos de forma segura.
Plenum	Um plenum é um espaço na secção superior de uma câmara de segurança biológica onde uma porção do ar é extraída da câmara e o restante ar canalizado para a área de trabalho.
Procedimentos que geram aerossóis	Procedimentos de alto risco que podem elevar o potencial de produção de gotículas nucleadas como resultado da força mecânica gerada pelo procedimento (por exemplo: pipetagem, uso de vórtex, centrifugação ou homogeneização).
Risco	A combinação da possibilidade e consequências de um evento relacionado com um perigo específico.
Transmissão por via aérea	A transmissão da doença causada por disseminação de gotículas nucleadas que permanecem infecciosas enquanto estão suspensas no ar.
Troca de Ar por Hora	O volume de ar expelido da sala do laboratório por hora e substituído por ar limpo.
Ventilação	A ventilação leva o ar de fora para dentro de um edifício ou de uma sala de laboratório e distribui o ar dentro do laboratório. Como medida de biossegurança, a ventilação em edifícios tem o objetivo de proporcionar ar puro, ao misturar com ar limpo os eventuais aerossóis produzidos no laboratório e fornecer uma taxa de fluxo de ar que renove o ar a uma determinada frequência.
Ventilação natural	O uso de forças naturais para introduzir e distribuir ar externo para dentro e para fora do laboratório.
Ventilação mecânica	Um sistema de ventilação mecânico usa um exaustor para extrair o ar do laboratório.
Ventilação híbrida	Combinação de ventilação mecânica e natural (também chamada de sistema misto de ventilação).
Batas de protecção	Estas batas devem ter manga comprida e punho com elástico (pelo menos 30 cm de largura) e apertar atrás. Diferentes tamanhos devem estar disponíveis para a equipa. Estas batas devem ser usadas quando a equipa trabalha em locais onde existe um alto risco de TB. Quando o técnico estiver de pé, a bata deve estender-se até abaixo da bancada; a bata deve cobrir totalmente o colo da pessoa, quando ela estiver sentada.

Introdução

Biossegurança laboratorial é o processo de se aplicar uma combinação de controlos administrativos, princípios de contenção, práticas e procedimentos, equipamentos de segurança, preparação para emergências e instalações que proporcionem segurança aos profissionais do laboratório que trabalham com microrganismos potencialmente infecciosos; a biossegurança também visa prevenir a exposição ou a libertação acidental de agentes patogénicos. Este manual descreve as medidas mínimas de segurança biológica que devem ser implementadas nos diferentes níveis de laboratórios de diagnóstico da tuberculose (TB), para reduzir o risco de infecção adquirida em laboratório.

As recomendações e abordagens deste manual não devem substituir as orientações de biossegurança existentes num país, quando já existem requisitos específicos para laboratórios de TB e para procedimentos. Pelo contrário, este manual deve ser usado por directores, gestores, profissionais de biossegurança e programas, para informar e orientar a implementação dos requisitos mínimos para laboratórios individuais e redes de laboratórios que realizem testes e procedimentos associados ao diagnóstico da TB.

A avaliação dos riscos é uma abordagem que incentiva a consideração dos riscos e o desenvolvimento de práticas apropriadas de biossegurança em laboratórios, baseados na combinação exclusiva de procedimentos de testes, competência dos profissionais e instalações presentes em cada laboratório. Enquanto a avaliação dos riscos é realizada de forma muito eficiente em laboratórios individuais, ela pode não ser possível nas dezenas de milhares de laboratórios periféricos, que realizam relativamente poucos procedimentos de risco, em países que têm alta prevalência de TB e recursos limitados para apoio local e supervisão. Este manual fornece, portanto, recomendações pragmáticas para a rede de laboratórios de TB, focalizando procedimentos específicos como

microscopia, cultura, testes de sensibilidade aos medicamentos (TS) e testes moleculares.

Processo de elaboração do Manual de Biossegurança

O presente manual de biossegurança laboratorial da TB é adaptado do Manual de Segurança Biológica em Laboratório, OMS, Genebra, 2004, 3ª edição². O conteúdo deste manual é o resultado de uma consultoria técnica entre a Organização Mundial da Saúde (OMS) e os Centros de Prevenção e Controlo das Doenças dos Estados Unidos (CDC), em Setembro de 2008, uma reunião do Grupo de Peritos da OMS em biossegurança, relacionada com procedimentos de diagnóstico em laboratórios da TB (Abril de 2009) e o consenso alcançado por revisores externos independentes (Agosto de 2011).

O manual foca a abordagem das necessidades específicas dos programas de TB, facilitando desta forma a implementação eficaz de medidas de biossegurança ajustadas aos sistemas de escalonamento dos laboratórios de TB. Ao mesmo tempo, o presente manual deve ser lido em conjugação com o *Manual de Segurança Biológica em Laboratório da OMS*, uma vez que os aspectos gerais de biossegurança laboratorial são abordados nesse manual, como o manuseamento de produtos químicos perigosos não específicos dos laboratórios de TB, incêndios e outros perigos, transporte de substâncias infecciosas e formação.

Reunião do Grupo de Peritos

A OMS convocou uma reunião do Grupo de Peritos em Genebra, na Suíça. Somente os peritos que estiveram presentes na reunião participaram na discussão inicial e nas discussões que se seguiram, onde foram formuladas recomendações. Foram seleccionadas algumas pessoas para integrar o Grupo de Peritos, com o objectivo de representar e ponderar perspectivas importantes no processo de formulação de

orientações de biossegurança para laboratórios especificamente ligados à tuberculose. O Grupo de Peritos incluiu especialistas em técnicas, utilizadores finais, fabricantes de câmaras de segurança biológica e profissionais de biossegurança. (Os membros do grupo constam do Anexo 1).

Declaração de Interesse

Os participantes do Grupo de Peritos preencheram formulários de Declaração de Interesse. As suas respostas podem ser encontradas no Anexo 2. Esses formulários foram revistos pelo departamento jurídico da OMS, antes da reunião, e as declarações foram resumidas pelo coordenador do Grupo de Peritos, no início da reunião. Aos representantes de duas empresas (Peter van't Erve e Scott Kreitlein) foi concedido o estatuto de observadores, por serem declaradas pessoas em conflito de interesses; por essa razão, não participaram na formulação de nenhuma das recomendações contidas neste manual.

Processo de revisão pelos pares

Uma revisão técnica externa deste manual foi realizada na sede da OMS. Sempre que possível, as preocupações dos parceiros foram consideradas e incorporadas no manual. Uma lista com os nomes dos participantes da revisão pelos pares pode ser encontrada no Anexo 3.

Fundamentação e processo

A fundamentação para o desvio das orientações anteriores é explicada na próxima secção. Além disso, as box de texto com o título "Recomendações do Grupo de Peritos" são usadas para explicar onde e por que razão as recomendações actuais diferem do *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* da OMS.

O processo para sintetizar a evidência e desenvolver essas orientações foi revisto e aprovado pela Comissão de Revisão de Orientações da OMS¹, em Maio de 2012. A data-alvo para a próxima revisão é 2017.

Como este manual difere do *Manual de Segurança Biológica em Laboratório da OMS, 3ª edição*

Avaliação dos riscos dos procedimentos para as redes de laboratórios da TB

O *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* da OMS² recomenda que se realize a avaliação dos riscos para cada um dos laboratórios, com o intuito de identificar práticas, abordagens e cuidados apropriados. O presente manual difere do anterior ao fornecer recomendações pragmáticas baseadas em procedimentos laboratoriais, usados especificamente no diagnóstico da TB e que são tipicamente realizados por diferentes níveis de serviços da TB. Essas recomendações devem orientar o Laboratório Nacional de Referência da TB, que gere a rede de laboratórios nacionais ou regionais da TB, para um melhor conhecimento dos riscos associados à realização de determinados procedimentos; as recomendações devem também permitir que os laboratórios nacionais de referência implementem práticas adequadas de biossegurança, em instalações apropriadas, garantindo que profissionais com formação adequada realizem uma série-padrão de testes de diagnóstico da TB.

Em muitos países de poucos recursos e com alta prevalência, a competência em biossegurança é insuficiente para assegurar que programas nacionais conduzam avaliações de risco individualizadas em todos os laboratórios. Para ajudar esses programas, seguiu-se um processo consultivo, criador de consenso para avaliar os riscos habitualmente encontrados em laboratórios de TB nesses países e desenvolver recomendações mínimas para a realização segura de diagnósticos laboratoriais de TB.

Padrões usados para o desenvolvimento das orientações

Em 2008, a Comité Europeu de Normalização publicou a norma CWA 15793³ para gerir

os riscos em laboratório, que realçam alguns factores-chave que precisam de ser considerados para a criação e implementação de um sistema eficaz de gestão dos riscos biológicos. A norma defende o uso de uma abordagem baseada em riscos, mas não usa a classificação de risco do agente biológico ou da segurança laboratorial, nem dos níveis de contenção, como os descritos no *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* da OMS. Os princípios estabelecidos na CWA 15793 foram usados para desenvolver o presente manual de biossegurança e oferecem orientações acerca dos requisitos mínimos para as instalações de laboratórios de TB que realizem procedimentos de diagnóstico.

Uso de classificações de grupo de risco

O *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* recomenda aos países que definam uma classificação nacional ou regional de microrganismos, divididos por grupo de risco. A designação de um grupo de risco para um agente patogénico pode variar por geografia ou por estirpe, devido às diferenças das características epidemiológicas do agente patogénico numa comunidade ou ao risco de uma infecção adquirida em laboratório.

É importante reconhecer que os indivíduos presentes num laboratório podem diferir na sua sensibilidade de desenvolver TB, caso sejam infectados, e que somente uma pequena parte dos indivíduos infectados desenvolverão a doença activa ao longo da vida⁴. Os indivíduos com imunidade reduzida, devido a infecção pelo VIH ou gravidez, podem ter maior risco de desenvolver TB e precisam de medidas de precaução adicionais.

Consequentemente, e de acordo com a norma CWA 15793, este manual adopta uma abordagem baseada no risco, que não usa a classificação de risco dos agentes biológicos ou

da segurança laboratorial, nem dos níveis de contenção, conforme descritos no *Manual de Segurança Biológica em Laboratório*.

Designação do nível de biossegurança

O *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* apresenta também um sistema classificativo de quatro níveis de biossegurança. Os níveis de biossegurança baseiam-se numa combinação de características de projecto, construção, instalações de contenção, equipamentos, práticas e procedimentos operacionais exigidos para o trabalho com agentes dos vários grupos de risco. É frequentemente entendido, erroneamente, que um microrganismo atribuído a um grupo de risco (por exemplo, Grupo de Risco 3) exige um laboratório de nível de biossegurança análogo (ou seja, Nível de Biossegurança 3) para a realização segura do trabalho. Na verdade, um nível mais alto ou mais baixo de biossegurança pode ser mais apropriado, conforme o procedimento específico realizado e outros factores (ver Capítulo 1 deste manual).

O *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* declara que o nível de biossegurança atribuído ao trabalho específico a ser feito é determinado por um critério profissional, com base na avaliação do risco e não na atribuição automática de um nível de biossegurança laboratorial, de acordo com a atribuição de um determinado grupo de risco a um agente patogénico. A abordagem desenvolvida neste manual baseia-se na orientação do *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* e usa um sistema de avaliação dos riscos. A TB é, predominantemente, uma infecção de veiculação aérea⁴. Portanto, em vez de atribuir um determinado nível de biossegurança para realizar certos procedimentos, este manual define os requisitos mínimos necessários para minimizar os riscos associados à realização de um determinado procedimento, levando em consideração o risco de gerar aerossóis, as instalações e os equipamentos disponíveis, as práticas e os procedimentos necessários para limitar infecções.

Minimização dos riscos

Uso de câmaras de segurança biológica

As infecções contraídas em laboratório resultam frequentemente da produção não identificada de aerossóis infecciosos, contendo bacilos da tuberculose. Para os laboratórios que realizam testes diagnósticos de TB, o perigo (ou risco) mais importante é a geração de aerossóis infecciosos, pois a infecção com *Mycobacterium tuberculosis* ocorre primeiramente pela inalação desses aerossóis, embora possa ocorrer também por inoculação directa ou ingestão. Os aerossóis infecciosos podem ser produzidos durante a manipulação de líquidos contendo bacilos da TB. Depois de depositadas na superfície, as gotículas nucleadas não são aerossolizadas novamente e são consideradas não infecciosas^{5,6,7}. Ou seja, as bactérias *M. tuberculosis* são geralmente transmitidas somente pelo ar e não pelo contacto de superfície⁸.

Duas importantes considerações ao avaliar o risco de geração de aerossóis são a carga bacilar dos materiais manipulados e a probabilidade da geração de aerossóis infecciosos, a partir desses materiais. Para amostras de expectoração (a amostra mais comum usada na pesquisa da TB), a carga bacilar varia de 0 (este é o caso de mais de 90% das amostras de diagnóstico) a 10^3 - 10^4 /ml, numa amostra de expectoração com baciloscopia classificada como de escassos bacilos, e a 10^6 /ml em expectoração com baciloscopia 3+⁹. Para uma cultura com crescimento a partir de amostras de expectoração, a carga bacilar poderá exceder 10^8 /ml. Devido à viscosidade da expectoração, a probabilidade de gerar um aerossol infeccioso ao manipular uma amostra é muito mais baixa do que a probabilidade de gerar aerossol infeccioso a partir de uma cultura líquida. Consequentemente, o risco associado à manipulação directa de amostras de expectoração é significativamente menor do que o risco associado ao manuseamento do material de cultura.

Este manual difere do *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* da OMS ao concluir que as câmaras de segurança biológica (CSB) não são obrigatórias para a realização da baciloscopia directa da expectoração. O Grupo de Peritos reconheceu que infecções com a *M. tuberculosis* constituem riscos comprovados para os profissionais do laboratório, assim como para outros que possam estar expostos a aerossóis infecciosos, gerados por determinados procedimentos. Existe, no entanto, pouca evidência sobre os riscos associados à realização de determinados procedimentos num laboratório de TB. Um estudo retrospectivo realizado na Coreia¹⁰ mostrou que o risco relativo de infecção de técnicos com TB, ao realizarem baciloscopia

directa, comparado com a população em geral, era de 1,4 (intervalo de confiança de 95% [IC] 0,2–10,0); o risco era de 21,5 (95% CI 4,5–102,5) para técnicos que realizam testes de sensibilidade aos medicamentos (TS). O Grupo de Peritos concluiu que as CSB não são obrigatórias para a realização do exame directo de expectoração por microscopia. O Grupo de Peritos considerou que, com boas técnicas microbiológicas, as baciloscopias directas da expectoração têm pouco risco de gerar aerossóis infecciosos e, dessa forma, tais procedimentos podem ser realizados em bancada aberta, desde que haja ventilação adequada. Essa recomendação é consistente com orientações anteriores^{11,12}.

1. Avaliação dos riscos e classificação dos laboratórios de TB

1.1 Em que consiste a avaliação dos riscos em laboratórios de TB?

O sistema de classificação de quatro níveis de segurança biológica (1 - 4) descrito no *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* da OMS² fornece uma orientação abrangente sobre os conceitos básicos de biossegurança para a elaboração de códigos de prática nacionais e internacionais. O desafio para os directores dos programas de TB e para os técnicos de laboratório, especialmente em ambientes de recursos limitados, tem sido traduzir as designações genéricas de grupos de risco e níveis de biossegurança em precauções específicas relevantes para as actividades dos países. Por essa razão, o uso de níveis de biossegurança 1-4, quando se descrevem as necessidades dos laboratórios de TB, tem levado a confusões sobre que precauções são necessárias.

Devem ser definidos critérios sobre quais as medidas de biossegurança mais apropriadas para um laboratório específico, usando uma abordagem baseada na avaliação dos riscos que considere os diferentes tipos de procedimentos realizados no laboratório. A avaliação dos riscos requer um julgamento cuidadoso: por um lado, subestimar riscos pode levar a danos de biossegurança mas, por outro lado, medidas mais rigorosas do que as realmente necessárias podem resultar numa sobrecarga desnecessária – tanto em termos financeiros como de recursos humanos - para o pessoal e para a gestão do laboratório.

O método para avaliação dos riscos de um laboratório de TB deverá considerar:

- a carga bacilar dos materiais (como as amostras de expectoração e culturas) e a viabilidade dos bacilos de TB;
- via de transmissão da TB;
- se o material manipulado e as manipulações necessárias para cada procedimento são

propensos a gerar aerossóis infecciosos;

- o número de manobras que possam potencialmente gerar aerossóis em cada técnica;
- o volume de trabalho do laboratório e o respectivo pessoal;
- a localização do laboratório;
- as características epidemiológicas da doença e do grupo de doentes atendido pelo laboratório;
- o nível de experiência e competência dos técnicos do laboratório;
- a condição física do pessoal do laboratório (especialmente técnicos de VIH positivo).

Além disso, é preciso considerar também a capacidade da equipa do laboratório para controlar riscos. Essa capacidade dependerá da competência, da proficiência técnica e das práticas microbiológicas de todos os técnicos do laboratório, da integridade operacional do equipamento de contenção, das protecções das instalações e da disponibilidade e uso adequado dos procedimentos operacionais padrão. O *Box 1* apresenta pormenores sobre como proceder a uma avaliação de riscos. As *Tabelas 1 e 2* resumem as considerações usadas para avaliar os riscos nos laboratórios de TB, em geral, e os riscos associados à realização de diferentes tipos de procedimentos. Essas considerações foram usadas pelo Grupo de Peritos para determinar os requisitos mínimos de biossegurança, necessários à realização de diferentes procedimentos nos laboratórios de TB.

O director do laboratório é responsável por assegurar que as precauções mínimas de biossegurança sejam implementadas, de acordo com o estipulado neste manual, e também por disponibilizar os procedimentos operacionais padrão, os equipamentos e instalações adequadas, para dar suporte ao trabalho em

questão. As precauções de biossegurança do laboratório devem ser revistas periodicamente e actualizadas quando necessário e sempre que se introduzir um novo procedimento ou técnica.

Para assegurar a realização do trabalho nas melhores condições de segurança possíveis, os resultados da avaliação dos riscos devem determinar quais os equipamentos laboratoriais mais apropriados, assim como os equipamentos de protecção pessoal e as características do projecto das instalações laboratoriais que deverão ser incorporados nos procedimentos operacionais padrão para cada procedimento realizado no laboratório.

1.2 Identificação de perigos

Um perigo é tudo aquilo que tem o potencial de causar dano, independentemente da probabilidade ou improbabilidade de que tal incidente ocorra. Um perigo pode ser constituído

por uma situação física (como um incêndio ou uma explosão), uma actividade (como pipetar) ou um material (como aerossóis contendo bacilos infecciosos). A menos que os perigos sejam efectivamente identificados, não é possível avaliar com precisão os riscos associados às instalações e suas actividades.

1.3 Determinação dos riscos

O risco é a combinação entre a probabilidade de um perigo específico ser encontrado e as consequências de um evento relacionado com esse perigo específico. Os riscos devem ser identificados e categorizados, sendo preciso determinar quais os riscos que devem ser controlados ou minimizados. A análise sobre os riscos de aerossolização descrita no presente manual levou à elaboração dos requisitos mínimos de biossegurança, necessários para realizar diferentes procedimentos em laboratórios de TB.

Box 1. Como conduzir uma avaliação de riscos processuais num laboratório de tuberculose (TB)

A avaliação dos riscos é um processo subjectivo que exige uma análise das características do perigo decorrente dos microrganismos e dos procedimentos, com julgamentos que se baseiam, por vezes, em informação incompleta. Uma avaliação dos riscos é simplesmente um exame cuidadoso daquilo que no trabalho pode causar dano às pessoas; essa avaliação permite ponderar se foram tomadas as precauções suficientes ou se é preciso fazer mais para prevenir o dano¹³. O pessoal do laboratório e as outras pessoas têm o direito de serem protegidos contra danos causados por falhas na tomada de medidas razoáveis de precaução. Enquanto não houver um modelo-padrão para realizar a avaliação dos riscos, podem seguir-se as seguintes etapas para orientar o processo desta avaliação:

1. **Identificar os perigos inerentes:** diferentes estirpes de TB representam diferentes níveis de perigo individual e colectivo. As estirpes de TB resistentes a medicamentos, especialmente estirpes multirresistentes (MR)^a e ultrarresistentes aos medicamentos (UR)^b, são de risco mais elevado, por prejudicarem mais o indivíduo que for infectado, uma vez que os tratamentos podem ser limitados ou menos eficazes. Os laboratórios que trabalham com estirpes que têm maior probabilidade de serem resistentes a medicamentos devido à seleção de pacientes ou à situação epidemiológica predominante, devem considerar a adopção de meios mais eficazes de prevenção do risco.
2. **Definir quem pode sofrer danos e como:** os principais procedimentos de risco em laboratórios de TB estão relacionados com a produção de aerossóis, que podem ser inalados pelo pessoal do laboratório. Esses aerossóis estão associados a certos procedimentos e têm maior probabilidade de serem gerados, consoante a frequência dos testes ou a carga de trabalho, a consistência do material e sua predisposição para produzir aerossóis (por exemplo, líquidos viscosos versus sólidos secos), a carga bacilar dos materiais e a viabilidade dos bacilos. É importante também reconhecer que, num mesmo laboratório, os indivíduos podem apresentar diferenças na sua sensibilidade à TB. Indivíduos com imunidade reduzida - devido a certos medicamentos, infecção com VIH ou gestação - podem ter um risco maior de contrair infecção por TB. Recomenda-se, nessas circunstâncias, uma consulta com um médico que tenha conhecimento sobre os riscos ocupacionais relacionados com a tuberculose.
3. **Avaliar os riscos e definir que precauções tomar.**
 - a. **Determinar a adequação da estrutura física:** a determinação final do nível apropriado de risco de TB e a seleção de medidas de prevenção adicionais necessárias exigem que se tenha um conhecimento abrangente dos procedimentos, equipamentos de segurança e protecção das instalações. Se uma avaliação dos riscos indicar a necessidade de se alterar as protecções especificadas para um determinado nível de risco de TB, um profissional experiente em gestão de riscos biológicos deverá validar esse julgamento de forma independente, e fornecer ao director do laboratório informações e recomendações relevantes, antes de aumentar qualquer protecção secundária na instalação.

- b. Avaliar a qualificação profissional do pessoal para aplicar práticas seguras:** a protecção do pessoal e de outras pessoas ligadas ao laboratório depende, em última análise, dos próprios funcionários do laboratório. Ao realizar uma avaliação dos riscos, o director do laboratório deve garantir que todos os profissionais tenham adquirido formação técnica no uso das boas práticas microbiológicas e no uso dos equipamentos necessários a uma manipulação segura de materiais potencialmente infecciosos e que tenham desenvolvido hábitos que garantam a excelência durante a realização desses procedimentos. Uma importante garantia de que um técnico de laboratório será capaz de trabalhar de forma segura é a sua competência, a sua experiência na manipulação de agentes infecciosos, o seu conhecimento sobre o uso das técnicas de assepsia e das câmaras de segurança biológica, a sua capacidade para responder a emergências e a sua disponibilidade para aceitar a responsabilidade de se proteger a si próprio e aos outros.
- c. Avaliar a integridade do equipamento de segurança:** o director do laboratório deve também assegurar-se de que o equipamento de segurança está disponível, de que foi certificado por um profissional qualificado para ser utilizado de forma adequada e que a sua integridade é frequentemente verificada. Por exemplo, uma CSB não certificada representa um sério risco potencial para os técnicos que estiverem a usá-la, assim como para outras pessoas do laboratório. Adicionalmente, os técnicos de laboratório devem ser formados para realizar simples verificações diárias, de forma a assegurar que o equipamento do laboratório está a funcionar de forma adequada. Por exemplo, verificar se as tampas de segurança das centrifugadoras não têm fissuras e se os anéis de borracha estão intactos e no lugar certo. Verificações diárias simples podem ser realizadas nas CSB, para garantir que o fluxo de ar está na direcção correcta em cada câmara.
- 4. Registrar os resultados da avaliação e implementá-los:** os resultados da avaliação dos riscos e as precauções que devem ser tomadas devem ser documentadas como parte de todos os procedimentos operacionais padrão. O resultado da avaliação dos riscos mostrará que foi feita uma verificação adequada e que foram identificadas as pessoas que estavam expostas ao risco por realizarem determinados procedimentos. Apesar de perigos como a geração de aerossóis não poderem ser completamente eliminados nos laboratórios de TB, devem ser implementadas precauções razoáveis que apenas permitam um pequeno risco residual.
- 5. Rever a avaliação e actualizá-la, se necessário:** os procedimentos e práticas de risco potencial devem ser revistos periodicamente e devem constituir um protocolo-padrão, com o intuito de promover e assegurar práticas laboratoriais seguras. As precauções de biossegurança já utilizadas devem ser revistas, pelo menos anualmente, e devem ser actualizadas, quando necessário, após uma avaliação dos riscos, e sempre após a introdução de novos procedimentos ou técnicas.

^a TB-MR: Refere-se à TB causada por estirpes de *Mycobacterium tuberculosis* que são resistentes, pelo menos, à isoniazida e à rifampicina.

^b TB-UR: Refere-se à TB-MR em que os organismos são também resistentes a uma fluoroquinolona e a, pelo menos, um agente de segunda linha injectável (amicacina, kanamicina ou capreomicina).

Tabela 1. Factores a considerar quando se efectua uma avaliação do risco processual, para determinar as precauções necessárias nos laboratórios que recebem amostras para testes de TB

Factores relevantes em todos os laboratórios de TB	Considerações
Patogenicidade	A TB não tratada tem uma taxa de mortalidade de 30–50%; cerca de 30% das pessoas com exposição prolongada a um caso infeccioso de TB contraem a infecção; 5–10% das pessoas infectadas desenvolvem TB
Via de transmissão primária	Inalação de gotículas nucleadas infecciosas
Vias de transmissão secundária (involgar em laboratório)	Ingestão, inoculação directa
Estabilidade	Bacilo da tuberculose pode permanecer viável no ambiente por longos períodos de tempo
Dose infecciosa	Estimada em 10 bacilos por inalação em humanos ^a ; em estudos com animais, as doses infecciosas vão de 1 organismo a 1000 organismos, conforme a sensibilidade das espécies
Susceptibilidade das pessoas imunocompetentes ao desenvolvimento de TB	5–10% das pessoas imunocompetentes infectadas desenvolvem TB durante toda a vida
Susceptibilidade das pessoas imunocomprometidas ao desenvolvimento de TB	5–10% das pessoas imuno-comprometidas infectadas desenvolvem TB por ano
Risco de TB adquirida na comunidade, em regiões de alta incidência	Alto
Vacina eficaz	Não, nenhuma disponível
Tratamento eficaz para estirpes susceptíveis a diferentes medicamentos	Sim
Tratamento eficaz para estirpes MR	Sim, mas mais difícil de tratar do que estirpes susceptíveis
Tratamento eficaz para estirpes UR	Poucas opções de tratamento

MR, multirresistente aos medicamentos; UR, ultrarresistente aos medicamentos.

^a Número extrapolado de estudos com animais.

Tabela 2. Factores a considerar numa avaliação de risco, para determinar as precauções necessárias à realização de procedimentos específicos em diferentes níveis de laboratórios de tuberculose (TB)

Factores que variam de acordo com o procedimento ou tipo de laboratório	Procedimento		
	Baciloscopia	Processar amostras para cultura	Manipular culturas TS
Risco relativo (95% IC) de TB adquirida em laboratório pelo pessoal do laboratório, em comparação com pessoal de fora do laboratório ¹⁰	1.4 (0.2–10.0)	7.8 (1.7–34.9)	22 (4.5–102.5)
Carga de bacilos de TB nos materiais manipulados	Variável	Variável	Uniformemente alto: >10 ⁸ /ml
Viabilidade do bacilo da TB	Incerto, mas presumivelmente alto	Processamento pode matar 90% dos bacilos de TB	Alto
Probabilidade das manipulações necessárias a cada procedimento gerarem aerossóis infecciosos ^{9,10}	Baixa	Moderada	Alta

IC, intervalo de confiança; TS, teste de sensibilidade aos medicamentos.

Com base na sua avaliação dos riscos processuais normalmente encontrados em laboratórios de TB, em regiões de poucos recursos e de elevada prevalência, o Grupo de Peritos elaborou requisitos mínimos necessários para a realização segura dos diferentes procedimentos usados para diagnosticar a TB. Sempre que possível, cada laboratório deve realizar sua própria avaliação dos riscos, para determinar as medidas adicionais a serem postas em prática para proporcionar protecção adequada aos técnicos do laboratório.

As recomendações descritas neste documento têm como finalidade orientar as políticas nacionais e não revogar ou substituir quaisquer regras ou regulamentos nacionais. Os requisitos mínimos necessários para reduzir os riscos em laboratórios de TB estão descritos nos capítulos 3, 4 e 5.

1.4 Monitorização dos riscos e medidas de controlo

O director do laboratório deve efectuar auditorias regularmente, para monitorizar riscos e medidas de controlo. Isto pode ser feito através do estudo dos relatórios sobre as medidas correctivas adoptadas após terem sido identificados problemas, através de uma ampla investigação dos incidentes ou acidentes e adopção de medidas preventivas, garantindo a disponibilidade de recursos financeiros adequados para manter o nível de precauções necessário. A documentação do processo de avaliação dos riscos e a identificação das medidas para a sua redução são passos importantes para garantir que as medidas de biossegurança seleccionadas e implementadas sejam constantemente aperfeiçoadas.

Os eventos abaixo listados deverão suscitar uma nova avaliação dos riscos associados aos procedimentos ou a revisão de uma avaliação de riscos já existente:

- início de um trabalho novo, mudanças no programa de trabalho ou alterações no fluxo ou volume de trabalho;
- nova construção ou modificações feitas no laboratório, ou a introdução de um equipamento novo;
- alteração na organização do pessoal (inclusive o uso de contratados e outros funcionários que não são do grupo, ou a necessidade de receber visitantes);
- alterações nos procedimentos operacionais padrão ou práticas de serviço (por exemplo, mudanças nos protocolos de desinfecção ou de tratamento do lixo, fornecimento de equipamento de protecção pessoal e respectivo uso, mudanças nos protocolos de entrada e saída);
- ocorrência de um incidente no laboratório (por exemplo, um grande derramamento);
- evidência ou suspeita de uma infecção adquirida em laboratório;
- estudo de respostas a emergências e de requisitos para planos de contingência;
- processo de revisão do sistema de gestão existente (por exemplo, anualmente ou com uma outra frequência apropriada e predeterminada).

1.5 Programa de saúde ocupacional dos funcionários

Os programas de saúde ocupacional deverão promover um local de trabalho que seja seguro e saudável. Isso consegue-se através da minimização de quaisquer exposições, da detecção imediata e do tratamento de exposições, bem como através do uso de informações obtidas a partir de incidentes e acidentes no laboratório, que servirão para melhorar os cuidados com a segurança. Um exame médico inicial e o seguimento regular devem ser aplicados a todo o pessoal, antes de começarem a trabalhar no laboratório de TB. O pessoal médico que presta serviços de saúde ocupacional deve ter conhecimento sobre a natureza dos potenciais riscos de saúde em laboratórios de TB e deve ter acesso a especialistas para aconselhamento. O serviço médico deve estar prontamente disponível, de modo a permitir a avaliação e o tratamento imediato e apropriado.

1.6 Classificação dos laboratórios de TB

As instalações dos laboratórios de TB podem ser classificadas em três níveis principais de risco, tomando como base as actividades realizadas e riscos associados:

- Baixo risco de TB
- Risco moderado de TB
- Alto risco de TB (tal como um laboratório de contenção de TB)

RECOMENDAÇÃO DO GRUPO DE PERITOS

O Grupo de Peritos realça que o Manual de Segurança Biológica em Laboratório da OMS² recomenda que se use uma câmara de segurança biológica, sempre que sejam manipuladas amostras infecciosas. O Grupo de Peritos considera que, com boas técnicas microbiológicas, a baciloscopia directa da expectoração oferece baixo risco de gerar aerossóis infecciosos e, conseqüentemente, esse procedimento pode ser realizado em bancada aberta, desde que seja assegurada uma ventilação adequada. Essa recomendação é consistente com as orientações anteriores^{11,12}

A probabilidade de haver produção de aerossóis é um factor fundamental a considerar, quando se determina o nível de risco e as necessárias medidas de controlo e minimização dos riscos. Quando realizada de acordo com as boas técnicas microbiológicas, a baciloscopia directa oferece um risco baixo de gerar aerossóis infecciosos e este procedimento pode, portanto, ser realizado numa bancada aberta, desde que haja a garantia de uma ventilação adequada. No guia da OMS sobre serviços de laboratório para o controlo da TB^{11,12} estão descritas orientações e recomendações sobre práticas seguras a seguir durante a realização de baciloscopia.

Os procedimentos que liquefazem as amostras – como os usados durante a digestão e o processamento da amostra para inoculação em meio de cultura, nos testes de sensibilidade directos ou nos ensaios de sondas genéticas por sequenciamento directo – representam um maior risco de produção de aerossóis, quando

comparados com outras técnicas, mesmo seguindo as boas técnicas microbiológicas; portanto, esses procedimentos devem ser realizados numa CSB. A manipulação de culturas para teste de sensibilidade indirecto ou teste de sonda genética envolvem procedimentos que têm uma alta concentração de bacilos, existindo, portanto, um alto risco de produzir aerossóis; tais actividades devem ser realizadas em CSB, num laboratório de contenção da TB. A *Tabela 3* apresenta as actividades adequadas, a avaliação de riscos de procedimento e os requisitos mínimos necessários para os diferentes níveis de laboratórios de TB.

A colheita de amostras de expectoração dos doentes é potencialmente arriscada e não deve ser realizada dentro do laboratório. Essa colheita deve ser feita numa área específica, bem ventilada, e que seja separada do laboratório. Essa área deve ficar, de preferência, num local ao ar livre.

Tabela 3. Níveis de precaução contra riscos, actividades laboratoriais associadas e avaliação dos riscos em laboratórios de tuberculose (TB)

Nível de risco de um laboratório de TB ^a	Actividades laboratoriais	Avaliação dos riscos
Baixo risco	Baciloscopia directa; preparação de amostras para uso em um cartucho de teste automatizado de amplificação de ácido nucleico (como o Xpert MTB/RIF)	Baixo risco de geração de aerossóis infecciosos a partir das amostras; baixa concentração de partículas infecciosas
Risco moderado	Processamento e concentração de amostras para inoculação em meio de cultura primária; teste de sensibilidade directo (por exemplo: teste de sonda genética em expectoração processada)	Risco moderado de geração de aerossóis infecciosos a partir das amostras; baixa concentração de partículas infecciosas
Alto risco (laboratório de contenção de TB)	Manipulação de cultura para identificação; teste de sensibilidade ou testes de sonda genética em isolados de cultura	Alto risco de geração de aerossóis infecciosos a partir das amostras; alta concentração de partículas infecciosas

^a O nível de risco refere-se à probabilidade de alguém no laboratório ser infectado com TB, como resultado dos procedimentos realizados no laboratório.

2. Medidas essenciais de biossegurança em laboratórios de TB

Todos os laboratórios de TB, independentemente dos procedimentos realizados, devem estabelecer um conjunto de medidas essenciais de biossegurança para minimizar os riscos. Essas medidas incluem:

1. código de práticas
2. equipamento
3. projecto e instalações do laboratório
4. vigilância da saúde
5. formação
6. tratamento de resíduos

Consoante os testes específicos realizados pelo laboratório e os resultados de uma avaliação dos riscos, poderão ser feitos aditamentos e modificações às medidas abaixo descritas, para contemplar diferentes níveis de risco. (Para mais informações, consultar os Capítulos 3, 4 e 5).

2.1 Código de práticas

O código de práticas descreve as práticas e procedimentos laboratoriais essenciais para a aplicação de boas (isto é, seguras) técnicas microbiológicas. O director do laboratório deve usar o código de práticas para elaborar instruções por escrito sobre os procedimentos a seguir na execução do trabalho de forma segura. Este manual de biossegurança ou de funcionamento deve também identificar perigos conhecidos e potenciais, assim como especificar práticas e procedimentos para minimizar os riscos associados a esses perigos.

Os equipamentos especializados de laboratório devem ser sempre acompanhados de procedimentos adequados e boas técnicas microbiológicas, mas nunca podem substituí-los.

Os conceitos mais importantes a incluir nos códigos de práticas constam da lista que se segue:

2.1.1 Acesso ao laboratório

- O símbolo e o sinal internacionais de aviso de risco biológico devem estar expostos na porta do laboratório.
- Apenas pessoas autorizadas devem ter permissão para entrar nas áreas de trabalho do laboratório.
- Não se deve autorizar ou permitir a entrada de crianças nas áreas de trabalho do laboratório.

2.1.2 Responsabilidade do Director do Laboratório

- Compete ao director do laboratório garantir a elaboração e adopção de um plano de gestão da biossegurança, assim como de um manual de biossegurança ou de funcionamento e um conjunto de procedimentos operacionais padrão.
- O director deve garantir a formação da equipa e a avaliação da sua competência técnica para realizar os diferentes procedimentos.
- O pessoal deve ser informado sobre riscos especiais e ler o manual de segurança (ou de funcionamento), além de seguir as práticas e procedimentos padrão. O director do laboratório deve assegurar-se de que todos os funcionários leram os manuais apropriados e que assinaram um documento, declarando terem compreendido todos os itens. Deve estar disponível no laboratório uma cópia da versão mais recente do manual de biossegurança ou de funcionamento, com a data da sua actualização.
- Os sistemas de aquecimento, ventilação, ar condicionado e de contenção (direccionamento do fluxo de ar) devem ter um plano de manutenção permanente, para garantir sempre o seu funcionamento adequado.

2.1.3 Equipamentos de protecção pessoal (EPP)

- O vestuário de protecção para laboratório deve ser usado sempre, durante o trabalho no laboratório. O vestuário de protecção não deve ser usado fora da área de laboratório (por exemplo, em refeitórios, cafés, escritórios, bibliotecas, salas de funcionários e casas de banho).
- As batas de protecção e as batas de laboratório devem ser guardadas separadamente do vestuário pessoal. As batas limpas e usadas devem ser guardadas em áreas separadas do laboratório. As batas de protecção ou de laboratório devem ser trocadas, pelo menos, uma vez por semana, mas a sua lavagem não deve ser feita em casa.
- As batas de protecção devem ter manga comprida e punho com elástico (pelo menos, com 30 cm de largura) e devem ser fechadas atrás. Deve haver diferentes tamanhos de batas para toda a equipa. As batas devem ser usadas quando a equipa trabalha no laboratório, onde existe um alto risco de infecção por TB.
- As batas de laboratório têm geralmente mangas compridas e são fechadas à frente. Deve haver disponibilidade de diferentes tamanhos de batas para toda a equipa.
- As luvas devem ser usadas em todos os procedimentos que envolvam contacto directo, ou possam envolver contacto accidental, com expectoração, sangue, fluídos corporais ou outros materiais potencialmente infecciosos. Após o uso, as luvas devem ser removidas de forma asséptica e as mãos devem ser bem lavadas.
- Os funcionários devem lavar as mãos depois de qualquer contaminação detectada, após terminarem trabalho em que tenha sido manipulado material

infeccioso e sempre antes de sair das áreas de trabalho do laboratório. As mãos devem ser bem ensaboadas e esfregadas durante, pelo menos, 15 segundos, enxaguadas em água limpa e secas usando uma toalha de papel limpa. As torneiras automáticas ou operadas sem o uso das mãos são preferíveis, mas, onde não houver tais torneiras, deve usar-se uma toalha de papel para as fechar, evitando-se, assim, a contaminação das mãos lavadas.

- É proibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos e manusear lentes de contacto dentro do laboratório.
- É proibido guardar comida ou bebida em qualquer lugar dentro das áreas de trabalho do laboratório.
- Não deve ser usado no laboratório calçado com abertura frontal.
- Não devem ser usados telemóveis no laboratório.

2.1.4 Procedimentos

- Todos os procedimentos devem ser realizados de forma a minimizar e/ou prevenir a produção de aerossóis e a formação de gotículas (ver Box 2).
- É absolutamente proibido pipetar com a boca.
- Nenhum material deve ser colocado na boca. Todas as etiquetas usadas no laboratório devem ser auto-adesivas.
- O uso de agulhas e seringas deve ser limitado e não devem nunca ser usadas como substituto para a pipetagem.
- A documentação escrita que tiver de ser removida do laboratório deve ser protegida contra a contaminação.
- Todos os materiais contaminados, amostras e culturas devem ser adequadamente descontaminados, antes de serem descartados ou limpos para reutilização.

- Todos os acidentes, derramamentos e exposição potencial a materiais infecciosos devem ser comunicados ao director do laboratório. Relatórios documentados de tais incidentes e das medidas correctivas adoptadas devem ser guardados para prevenção futura.
- Deve ser elaborado e estar disponível no laboratório o procedimento operacional padrão para lidar com acidentes e derramamentos. Deve ser realizada formação prática, pelo menos anualmente, para garantir que o procedimento está a ser adoptado e que se tornou numa resposta automática.
- A embalagem e o transporte de amostras devem seguir as normas nacionais ou internacionais aplicáveis.
- Devem ser elaborados procedimentos operacionais padrão e o pessoal deve receber formação para ser competente no seu uso. Devem estar disponíveis em diferentes áreas do laboratório manuais explicando os procedimentos, os quais deverão ser revistos anualmente. Os procedimentos operacionais padrão devem incluir informação sobre a avaliação dos riscos, devendo ser identificadas e implementadas medidas de minimização e controlo.

Box 2. Como minimizar a produção de aerossóis?

Controlos de engenharia (por exemplo, câmaras de segurança biológica [CSB] e ventilação de sala) e protecção respiratória pessoal (tal como protectores respiratórios) podem ajudar a prevenir as infecções de TB adquiridas em laboratórios, associadas à inalação de aerossóis infecciosos. No entanto, a precaução mais importante para a redução da propagação da infecção em laboratórios é minimizar a produção de aerossóis. **Alguns passos práticos para reduzir a produção de aerossóis são aplicáveis a todos os laboratórios de TB, enquanto outros são aplicáveis apenas a laboratórios considerados de risco moderado ou de alto risco.**

Para todos os laboratórios

- Na preparação de esfregaços, é preferível fazer uso de aplicadores de madeira ou de ansas descartáveis, em vez das reutilizáveis, que precisam de ser esterilizadas por calor.
- Se uma ansa reutilizável for usada, deve ser esterilizada num microincinerador fechado ou bico de Bunsen. As ansas reutilizáveis devem ser limpas, usando um recipiente com areia e álcool, antes da esterilização.
- Quando preparar um esfregaço usando aplicador ou ansa, é aconselhável movê-lo devagar e suavemente, para evitar a produção de aerossóis.
- Não mover ou fixar pelo calor os esfregaços, antes de terem secado completamente ao ar.

Para laboratórios de risco moderado e alto risco de TB

- Não forçar a expulsão de líquidos infecciosos de uma pipeta.
- Não forçar a expulsão de ar de uma pipeta para líquidos potencialmente infecciosos.
- Quando usar uma pipeta para adicionar um reagente a um líquido potencialmente infeccioso, apoiar a ponta da pipeta na parede interna do tubo e deixar o líquido escorrer lentamente.
- Evitar sempre romper uma bolha ou película num tubo de cultura aberto. Isso pode ser evitado recolocando a tampa e batendo suavemente no topo do tubo, deixando o tubo de lado e esperando que assente qualquer aerossol que tenha sido gerado, antes de reabrir o tubo.
- Quando centrifugar uma amostra para cultura, fazê-lo num copo de segurança devidamente selado ou num rotor selado, para evitar a libertação de aerossóis dentro da centrifugadora e do laboratório. Abrir sempre os copos de segurança ou os rotores selados dentro da CSB.
- Após centrifugação, homogeneização ou agitação de amostras ou culturas, colocar os tubos dentro da CSB e deixar descansar pelo menos 10 minutos, para deixar os aerossóis assentarem antes de os abrir.
- Nunca fazer homogeneização em tubo aberto; certificar-se sempre de que os tubos estão seguramente fechados com tampa de rosca, quando usar o vórtex ou agitar. Não usar tubos com tampão de algodão ou tampas de borracha no vórtex.
- Não misturar ou ressuspender materiais infecciosos, enchendo repetidamente e esvaziando completamente uma pipeta.
- Deixar os tubos que foram agitados no vórtex descansar por 10-15 minutos, para minimizar a propagação de aerossóis, principalmente se os tubos contiverem altas concentrações de bacilos de TB.
- Quando decantar líquidos, segurar os tubos num ângulo tal que o líquido escorra pelo lado do tubo ou pelo lado do recipiente de descarte, para minimizar eventuais salpicos.
- Inserir sempre apenas a ponta descartável de uma micropipeta num tubo ou recipiente, NUNCA inserir o borel da micropipeta.

2.1.5 Áreas de Trabalho

- O laboratório deve ser dividido em áreas “limpas” e “potencialmente contaminadas”, deixando a área limpa reservada para trabalho administrativo e preparações. O acesso às áreas limpas e áreas contaminadas deve ser controlado e regulado pela administração do laboratório.
- O laboratório deve ser mantido em ordem, limpo e livre de materiais e equipamentos que não estejam a ser usados para realizar o trabalho de rotina. Os equipamentos e materiais não utilizados ou que não estejam a funcionar devem ser removidos das áreas de trabalho do laboratório.
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas depois de qualquer tipo de fuga de material potencialmente infeccioso e no final de cada sessão de trabalho. (Para mais informações, ver a secção de fugas no Capítulo 8).

2.2 Equipamentos

Os equipamentos devem ser seleccionados, levando em conta alguns princípios gerais, ou seja, eles devem ser:

- concebidos para prevenir ou limitar o contacto entre o operador e o material infeccioso;
- feitos de materiais impermeáveis a líquidos e resistentes à corrosão;
- fabricados para serem lisos, sem pontas agudas ou partes móveis desprotegidas;
- projectados, construídos e instalados para facilitar o seu funcionamento e proporcionar uma fácil manutenção, limpeza, descontaminação e testes de certificação; os vidros e outros materiais quebráveis devem ser evitados sempre que possível.

Além do equipamento laboratorial específico necessário para laboratórios com diferentes níveis de risco (descritos nos Capítulos 3, 4 e

5), mais informações sobre CSB são dadas no Capítulo 6; outras informações sobre outros equipamentos de segurança são dadas no Capítulo 7. Em laboratórios onde o risco de infecção é considerado moderado ou alto, a CSB funciona como a primeira contenção de aerossóis infecciosos produzidos por determinados procedimentos.

2.3 Projecto e instalações

A concepção adequada do laboratório, assim como a construção propriamente dita das suas instalações, deve contribuir para a protecção dos seus funcionários e proporcionar uma barreira, que proteja as pessoas da comunidade contra aerossóis de TB que possam ter sido gerados no laboratório. As características do laboratório, incluindo áreas separadas e seu sistema de ventilação, são medidas secundárias de contenção. A recomendação das barreiras secundárias de contenção vai depender dos procedimentos realizados no laboratório e do risco de transmissão a eles associado.

Num laboratório de baixo risco de TB, as barreiras secundárias de contenção incluem uma separação entre a área de trabalho do laboratório e a área de acesso ao público, a garantia de descarte adequado de resíduos sólidos e a existência de um lavatório para as mãos. Num laboratório de alto risco de TB, a presença de uma sala que separa o laboratório das áreas públicas serve como uma barreira secundária adicional.

Os directores de laboratórios são responsáveis por oferecer instalações condizentes com as funções do laboratório e seu nível de risco.

Ao conceber um laboratório de TB, deve prestar-se especial atenção a causas comuns de problemas de segurança, entre elas as superfícies permeáveis, a superlotação em áreas de trabalho, a facilidade com que as pessoas não autorizadas entram no laboratório, o trânsito de pessoal e de doentes perto ou dentro do laboratório e o fluxo de trabalho inadequadamente projectado.

A lista que se segue identifica as características básicas recomendadas para um projecto de laboratório de TB.

- É preciso haver ventilação adequada e fluxo de ar direccional.
- Deve destinar-se um amplo espaço para a realização segura do trabalho laboratorial e para sua limpeza e manutenção.
- Paredes, tectos e chão devem ser lisos e fáceis de limpar. O chão deve ser antiderrapante.
- A superfície das bancadas deve ser impermeável à água e resistente a produtos químicos e aos desinfectantes normalmente usados no laboratórios; devem ser resistentes ao calor moderado.
- A iluminação deve ser adequada para todas as actividades. Devem evitar-se reflexos indesejados e brilhos. Não se deve usar cortinas.
- A mobília do laboratório deve ser resistente. A mobília deve ser de material impermeável e de fácil descontaminação. Não se deve usar mobília revestida de tecido.
- Os espaços abertos entre ou debaixo das bancadas, câmaras e equipamento devem estar acessíveis para limpeza.
- A área de armazenamento deve ser adequada para armazenar materiais de uso imediato e, dessa forma, evitar a sua acumulação sobre as bancadas e nos corredores externos do laboratório. Deve-se também providenciar uma área de armazenamento a longo prazo, convenientemente localizada fora das áreas de trabalho do laboratório.
- Deve estar identificada uma área para a preparação, manuseamento e armazenamento seguro de ácidos, corantes e solventes.
- Os espaços para guardar vestuário e bens pessoais dos funcionários devem ficar fora das áreas de trabalho do laboratório.

- Os espaços para alimentação e descanso devem localizar-se fora das áreas de trabalho do laboratório.
- Deve haver um lavatório com sabão para lavagem das mãos em cada sala do laboratório, de preferência perto da saída. Recomenda-se a instalação de torneiras com sensores ou de fechamento automático. O dispensador de toalhas de papel deve estar próximo do lavatório.
- As portas do laboratório devem ser à prova de fogo, com um visor de vidro e, de preferência, terem um sistema de fechamento automático.
- O fornecimento de energia deve ser fiável e adequado.

2.4 Formação

Os erros humanos e as técnicas inadequadas podem comprometer as melhores medidas de segurança postas em prática para proteger o pessoal do laboratório. Funcionários bem formados, informados e conscientes da segurança são essenciais para prevenir infecções adquiridas no laboratório, assim como incidentes e acidentes.

Toda a equipa deve receber formação em segurança; essa formação deve incluir o código de práticas de laboratório e as práticas e procedimentos de segurança integradas no manual de segurança. O director do laboratório deve garantir a formação da equipa e fazer a avaliação da sua competência técnica nos diversos procedimentos. Essa formação deve sempre incluir informação sobre as práticas de segurança que devem ser seguidas, para evitar ou minimizar os riscos de inalação, ingestão e inoculação. A formação deve também ensinar como descontaminar e descartar adequadamente o material infeccioso.

2.5 Tratamento de resíduos

Os procedimentos de gestão dos resíduos devem cumprir todos os requisitos e regulamentos

pertinentes locais ou nacionais. Resíduo é tudo o que deve ser descartado. O princípio fundamental para minimizar riscos a partir do lixo é que todos os materiais infecciosos devem ser desinfetados, incinerados e preparados para serem enterrados ou autoclavados. Devem usar-se sacos de descarte na separação dos resíduos. A maior parte dos vidros, instrumentos e vestuário de laboratório será novamente usado ou reciclado.

As principais perguntas a fazer antes do descarte de quaisquer objetos ou materiais de um laboratório devem ser:

- Os objectos ou materiais foram eficazmente descontaminados ou desinfetados, seguindo procedimentos adequados?
- Em caso de resposta negativa, eles foram embalados em recipientes ou sacos para incineração imediata ou autoclavagem no local de geração dos resíduos?
- A eliminação dos materiais descontaminados envolve outros riscos potenciais, biológicos ou de outra natureza para aqueles que realizam a eliminação ou para aqueles que possam entrar em contacto com materiais descartados fora das instalações?

A incineração é útil para o descarte de resíduos de laboratório, com ou sem descontaminação prévia. A incineração de materiais infecciosos é uma alternativa à esterilização em autoclave, mas somente se o director do laboratório puder garantir que os procedimentos adequados de incineração são seguidos.

2.5.1 Incineração

A incineração adequada de resíduos perigosos exige meios eficientes de controlo de temperatura e uma câmara de combustão secundária. Muitas incineradoras, principalmente as que têm uma única câmara de combustão, são insatisfatórias para desinfetar materiais infecciosos ou plásticos. A destruição de tais materiais pode não ser completa e o efluente que sai da chaminé pode poluir a atmosfera com microrganismos, substâncias

químicas tóxicas e fumos. Existem, no entanto, muitos modelos satisfatórios de câmaras de combustão. O ideal é que a temperatura na câmara primária seja de, pelo menos, 800°C e que na câmara secundária ela atinja, pelo menos, 1000°C. Para que a temperatura requerida seja atingida, as incineradoras devem ser adequadamente projectadas, operadas e mantidas.

Os materiais para incineração, mesmo com descontaminação prévia, devem ser transportados para a incineradora dentro de sacos de plástico, de preferência. O pessoal encarregado do funcionamento da incineradora deve receber instruções precisas sobre o carregamento e o controlo da temperatura. Também é preciso notar que o funcionamento eficiente da incineradora depende, em grande parte, da mistura correcta dos materiais dos resíduos que estão a ser incinerados.

Existem actualmente preocupações relativas aos possíveis efeitos ambientais negativos das incineradoras, prosseguindo-se assim esforços para as tornar mais amigas do ambiente e com maior eficiência energética. As autoclaves são uma alternativa à incineração.

2.5.2 Autoclavagem

Devem ser usadas autoclaves separadas para esterilizar soluções ou vidraria (material limpo) e para descontaminar materiais infecciosos.

Os seguintes materiais são apropriados para autoclavagem:

- instrumentos, vidraria, meios e soluções para uso estéril em laboratórios de TB que realizam diagnóstico geral;
- culturas de micobactérias para serem descartadas;
- todo material infeccioso proveniente de laboratórios de contenção de TB onde é realizada cultura de micobactérias.

O tempo, a temperatura e a pressão devem ser registados em cada ciclo de autoclavagem, para monitorizar se a autoclave está a funcionar

de forma adequada. Devem ser usados regularmente indicadores biológicos, para validar a capacidade da autoclave para atingir a esterilização.

2.5.3 Desinfecção

A acção germicida dos desinfectantes depende da população de organismos a serem eliminados, da concentração usada, do tempo de contacto e da presença de resíduos orgânicos.

Os desinfectantes recomendados como apropriados para uso em laboratórios de TB são os que contêm fenóis, cloro ou álcool. São estes os geralmente seleccionados, dependendo do tipo de material a ser desinfectado.

Fenol

O fenol deve ser usado numa concentração de 5% em água. No entanto, a inalação e exposição da pele ao fenol é altamente irritante para a pele, olhos e membranas mucosas. A ingestão de fenol é considerada tóxica. Devido à sua toxicidade e odor, em lugar do fenol geralmente são usados os seus derivados.

As soluções de fenol são usadas para descontaminar equipamentos e itens descartáveis, antes de serem descartados.

Cloro

O cloro está amplamente disponível. Soluções de hipoclorito de sódio (lixívia de uso doméstico) contêm 50 g/l de cloro activo e devem, por isso, ser diluídas a 1:50 ou 1:10 em água, para se obter uma concentração final de 1 g/l ou 5 g/l. A lixívia, quer concentrada quer em solução, deve ser armazenada em área bem ventilada e escura. Em boas condições de armazenamento, a solução de 50 g/l pode durar até 3 meses; as soluções diluídas devem ser preparadas diariamente.

O hipoclorito de sódio pode ser usado como desinfectante de finalidade geral e para submergir materiais metálicos contaminados; por ser altamente alcalino, pode corroer metais.

Álcool

Os álcoois, etanol ou álcool isopropílico são usados em solução de 70%. Os álcoois são voláteis e inflamáveis e não devem ser usados perto do fogo. As soluções de trabalho devem ser armazenadas em recipientes apropriados para evitar a evaporação. Os frascos com soluções contendo álcool devem ser rotulados de forma clara, para evitar que sejam colocados em autoclaves.

Uma solução de álcool a 70% pode ser usada sobre superfícies das bancadas de laboratório e em CSB para descontaminação de rotina. A principal vantagem das soluções aquosas de álcoois é não deixarem resíduos nos objectos tratados. Quando há contaminação das mãos, é eficaz enxaguar com álcool a 70% ou álcool isopropílico, seguido de uma lavagem cuidadosa com água e sabão.

Ácido Peracético

O ácido peracético é caracterizado pela acção rápida contra todos os microrganismos. As vantagens especiais do ácido peracético são que os seus produtos de decomposição não são perigosos, favorece a remoção de material orgânico e não deixa resíduos. A solução de trabalho (concentração de 2%) é estável durante 48 horas após preparação.

2.6 Procedimentos de descarte de materiais contaminados

Deve adoptar-se um sistema de identificação e separação dos materiais infecciosos e seus recipientes. As categorias devem incluir:

- resíduo não contaminado (não infeccioso) que pode ser reutilizado, reciclado ou descartado como lixo doméstico;
- material cortante contaminado (infeccioso), tal como vidro quebrado, seringas e lâminas;
- material contaminado para ser enterrado, incinerado ou autoclavado.

2.6.1 Vidro quebrado e lâminas

As lâminas quebradas ou usadas devem ser descartadas em recipientes para material cortante. Os recipientes para material cortante devem ser à prova de perfurações, devem ter uma tampa e não devem ser cheios até acima. Quando estiverem com a sua capacidade $\frac{3}{4}$ cheia, devem ser colocados nos recipientes para resíduos infecciosos e incinerados ou autoclavados. Os recipientes de materiais cortantes não devem ser descartados em aterros, a não ser que tenham sido previamente incinerados ou colocados em autoclave. As lâminas usadas não devem ser reutilizadas.

2.6.2 Descarte de materiais contaminados ou potencialmente infecciosos

Todas as culturas positivas de TB devem ser esterilizadas por autoclave, antes de serem removidas do laboratório para descarte. Uma autoclave deve estar disponível perto ou dentro do laboratório onde se realizam as culturas de TB.

Todos os materiais contaminados (potencialmente infecciosos), excepto cortantes, devem ser colocados em sacos de plástico descartáveis,

antes de serem transportados para incineração ou autoclavagem. Se possível, os materiais provenientes de laboratórios de TB não devem ser descartados em aterros, nem mesmo depois de sua descontaminação.

Recipientes para descarte, ou panelas ou potes inquebráveis (por exemplo, de plástico) devem ser colocados em todas as áreas de trabalho. Deve usar-se desinfectante eficaz contra *M. tuberculosis*, certificando-se de que o material descartado se mantém em contacto directo com o desinfectante usado (isto é, não protegido por bolhas de ar), pelo tempo necessário, conforme o desinfectante usado. Os recipientes de descarte devem ser descontaminados e lavados antes de serem usados novamente.

Em laboratórios onde o risco de infecção com TB é baixo, os potes de expectoração em plástico, os cartuchos usados em análises moleculares (por exemplo, Xpert MTB/RIF) e os aplicadores de madeira devem ser retirados do laboratório em sacos de lixo selados para incineração.

3. Laboratórios de baixo risco de TB

As recomendações descritas neste capítulo são os requisitos **mínimos** necessários para limitar ou reduzir os riscos de infecção em laboratórios que realizem actividades consideradas como de baixo risco de disseminação da TB. Outras medidas podem ser necessárias seguindo uma avaliação de riscos específica para o local.

Ao seguir os requisitos mínimos de biossegurança descritos neste capítulo, os laboratórios de risco baixo de TB podem, de forma segura, realizar certos procedimentos com amostras de expectoração, uma vez que a natureza viscosa da expectoração não é propensa a produzir aerossóis, quando se seguem as boas técnicas microbiológicas. Os laboratórios de risco baixo de TB podem:

- processar amostras de expectoração para baciloscopia;
- processar amostras de expectoração para testes com o Xpert MTB/RIF® (Cepheid, Sunnyvale Ca., USA).

Abrir os potes de expectoração e preparar o esfregaço pode produzir aerossóis, mas o risco de transmissão devido a esses procedimentos é insignificante, em comparação com os aerossóis gerados por uma simples tosse desprotegida. Há pouca evidência epidemiológica de que a preparação de esfregaço de expectoração represente um grande risco de aquisição de infecção por TB^{14,15}.

Nota: A recolha de amostras de expectoração dos doentes não deve ser feita dentro do laboratório.

3.1 Factores que aumentam o risco de infecção

Além dos riscos gerais abordados pelas medidas de biossegurança descritas no Capítulo 2, o laboratório de risco baixo de TB também pode enfrentar os seguintes desafios, que aumentam os riscos:

- uso impróprio dos espaços da bancada;
- recipientes de amostras com fugas;
- manipulação descuidada de amostras, que pode levar a subsequente aerossolização;
- agitação vigorosa das amostras;
- ventilação ou iluminação deficientes

3.2 Características específicas e medidas essenciais mínimas de biossegurança

Para se enfrentarem potenciais riscos específicos, devem estabelecer-se os seguintes requisitos de biossegurança^{14,15} num laboratório de baixo risco de TB.

- 1. Uso dos espaços das bancadas:** as bancadas para manipulação de amostras biológicas para baciloscopia ou testes Xpert MTB/RIF devem ser separadas das áreas usadas para recepção de amostras e áreas administrativas usadas para trabalho de escritório e equipamento de telecomunicação.
- 2. Ventilação:** esfregaços realizados directamente de amostras de expectoração e manipulação de amostras para teste Xpert MTB/RIF podem ser efectuados em bancada aberta, num laboratório adequadamente ventilado, quando se usam técnicas microbiológicas apropriadas.

Ventilação adequada para laboratórios de TB é tipicamente descrita como fluxo direccionado de ar com 6 a 12 trocas de ar por hora (TAH) (ver Box 3 e 4). Fluxo direccionado de ar significa que o ar flui de áreas limpas para áreas onde podem ser gerados aerossóis; esse ar deve ser extraído da sala de forma segura. “Troca de ar por hora” significa o volume de ar da sala que foi expelido por hora e substituído por ar limpo. Quando se usa ventilação mecânica, a troca de ar por hora pode ser facilmente calculada.

Para procedimentos de baixo risco, a ventilação natural deve ser suficiente, desde que o fluxo de ar passe longe do técnico e sobre a área de trabalho, onde está o material potencialmente infeccioso, e depois para longe das áreas ocupadas da sala e para fora do laboratório; esse fluxo deve fornecer protecção contra os aerossóis que possam ser gerados na área de trabalho. Para se ter controlo direccional dos contaminantes no ar, o ar deve deslocar-se com a velocidade de, pelo menos, $0,5 \text{ m/s}^{16}$.

A ventilação pode ser garantida com janelas abertas, se as condições climáticas o permitirem. Quando as condições climáticas impedirem a

abertura de janelas, devem usar-se sistemas de ventilação mecânica que proporcionem entrada de ar, sem haver recirculação no interior da sala. Os aparelhos de ar condicionado devem ser posicionados correctamente, conforme a direcção do fluxo de ar. É importante assegurar que a corrente de ar no laboratório fique distante do técnico.

Estações de trabalho ventiladas são uma solução opcional para contenção de aerossóis, durante a realização de baciloscopias ou testes com Xpert MTB/RIF em ambientes onde não seja possível ventilação natural ou mecânica. Estão disponíveis orientações e especificações para estações de trabalho ventiladas¹⁷.

RECOMENDAÇÃO DO GRUPO DE PERITOS

Não foram definidas internacionalmente normas para ventilação adequada em laboratórios.

O Grupo de Peritos recomenda como ventilação adequada para laboratórios de TB uma definição pragmática de fluxo de ar direccionado que inclui 6-12 trocas de ar por hora. O Grupo de Peritos salienta que não existem evidências que sugiram que um número maior de trocas de ar por hora reduza o risco de infecção adquirida em laboratório e reconhece que os custos dos sistemas de ventilação com uma capacidade maior são consideráveis.

Box 3. Determinar os requisitos de ventilação

A ventilação move o ar externo para dentro de uma sala de laboratório e distribui o ar dentro da sala. O objectivo da ventilação no laboratório é fornecer ar limpo que dilua e remova do laboratório qualquer ar potencialmente contaminado. A ventilação do laboratório tem três elementos básicos:

taxa de ventilação – quantidade de ar externo que entra no laboratório;

direcção do fluxo de ar – o fluxo de ar total no laboratório deve circular das áreas funcionalmente limpas para as áreas sujas do laboratório;

padrão de fluxo de ar – o ar externo deve ser levado para cada área do laboratório e ser removido de forma eficiente.

Existem três métodos para a ventilação do laboratório: ventilação natural, mecânica ou híbrida (método misto).

Ventilação Natural

Forças naturais impulsionam o ar externo através de portas e janelas abertas do laboratório. A ventilação natural, na maioria das vezes, gera uma alta taxa de ventilação de forma mais económica, devido ao uso de forças naturais e grandes aberturas que, em conjunto, conseguem alcançar taxas muito altas de troca de ar. A ventilação natural adequada em laboratórios depende do clima, do projecto do laboratório e das práticas de trabalho da equipa do laboratório.

Ventilação Mecânica

Ventiladores mecânicos podem ser instalados directamente em janelas ou paredes ou em condutas de exaustão do laboratório. O tipo de ventilação mecânica dependerá do clima. Os sistemas de ventilação mecânica são considerados fiáveis para proporcionar a taxa de fluxo de ar desejável, independentemente do impacto da variação de ventos e da temperatura ambiente. A ventilação mecânica pode ser integrada com um sistema de ar condicionado, para controlo da temperatura e humidade. A ventilação mecânica pode também ser conseguida usando-se uma estação de trabalho ventilada.

Ventilação Híbrida (método misto)

A ventilação híbrida (método misto) conta com forças naturais para fornecer a taxa de fluxo de ar desejável. Ela usa a ventilação mecânica quando a taxa de fluxo de ventilação natural é muito baixa. Quando a ventilação natural não é suficiente, podem ser instalados exaustores para aumentar a taxa de ventilação nos laboratórios que realizam a baciloscopia. No entanto, é preciso instalar ventiladores no local em que o ar da sala é expelido directamente para o exterior, através de uma parede ou do tecto. O tamanho e o número de exaustores dependem da taxa de ventilação desejada e devem ser calculados antes do uso desse método. (ver Box 4).

3. Minimizando a produção de aerossóis:

a preparação do esfregaço de expectoração para baciloscopia directa ou a preparação da amostra para o teste Xpert MTB/RIF, teoricamente, tem o potencial de gerar aerossóis. Entretanto, como as amostras de expectoração são geralmente viscosas, a produção de aerossóis pode ser minimizada, quando se aplicam boas técnicas microbiológicas. Deve ter-se cuidado ao abrir os recipientes com amostras, que podem ter sido agitadas durante o transporte para o laboratório. Ao secar o esfregaço, deve evitar-se o risco de salpico de material infeccioso na chama de um bico de Bunsen. É preferível secar as amostras ao ar e só usar a chama para fixar as lâminas, quando estiverem completamente secas. O uso de aplicadores de madeira ou ansas descartáveis é preferível para preparar os esfregaços.

4. Manuseio de recipientes de amostras que tenham fugas:

a integridade dos recipientes com amostras levadas para o laboratório deve ser examinada. Pode ser necessário descartar recipientes com

fugas e pedir novas amostras. Se restar uma amostra adequada num recipiente com fuga, este deve ser descontaminado com desinfectante adequado, antes do processamento. As amostras devem ser embaladas e transportadas para o laboratório em posição vertical, para minimizar a possibilidade de fugas.

5. Equipamento de protecção pessoal:

cada país e instituição deve avaliar os riscos e decidir qual a protecção pessoal mais apropriada para os diferentes procedimentos a realizar. Devem usar-se sempre batas de protecção laboratorial. Devem usar-se luvas em todos os procedimentos que envolvem contacto directo, ou possam envolver contacto accidental, com expectoração, sangue, fluido corporal e outros materiais potencialmente infecciosos. As luvas devem ser trocadas regularmente e não podem ser reutilizadas. A equipa deve sempre lavar as mãos, antes de sair do laboratório.

Não são exigidos protectores respiratórios na preparação da baciloscopia.

Box 4. Como determinar a ventilação adequada num laboratório de tuberculose (TB) que use um sistema mecânico de ventilação

Ventilação adequada em laboratórios de TB é geralmente descrita como sendo um fluxo de ar direcionado, com 6 a 12 trocas de ar por hora (TAH). Fluxo de ar direcionado significa fluxo de ar insuflado de áreas limpas do laboratório para áreas onde é possível haver produção de aerossóis, seguida de exaustão segura de ar para fora da sala. TAH refere-se ao volume de ar de uma sala expelido por hora e substituído por ar limpo. Quando se usa ventilação mecânica, um método para se medir as TAH é o seguinte:

1. identificar as saídas de ar.
2. cobrir as saídas com uma peça de papelão com abertura de 10 cm x 10 cm;
3. medir a velocidade do ar com um variómetro ou anemómetro;
4. calcular a taxa volumétrica de fluxo de ar para cada porta de exaustão

$$Q = V \times A \times 3600$$

Q = taxa volumétrica de fluxo de ar em m³/h

V = velocidade do ar em m/s

A = área da abertura em m² (por exemplo: 10 cm [0,1 m] x 10 cm = 0,01 m²)

3600 = conversão de segundos para horas;

5. somar todas as exaustões da sala;
6. medir o volume da sala
Vol = comprimento x largura x altura = m³ (medida em metros);
7. calcular a TAH

$$TAH = Q / Vol.$$

Quando se usa ventilação natural, a medição da TAH é muito variável para fornecer uma medida fiável de ventilação. Em vez disso, é preferível usar o fluxo de ar direcionado para proporcionar condições seguras de trabalho. Assegurar-se de que o ar passa pelo funcionário, através da área de trabalho com materiais potencialmente infecciosos e para longe das áreas ocupadas da sala deve proporcionar protecção contra os aerossóis produzidos na área de trabalho.

4. Laboratórios de médio risco de TB

As recomendações descritas neste capítulo são os requisitos **mínimos** necessários para limitar ou reduzir os riscos de infecção em laboratórios que realizem procedimentos específicos, considerados como de risco médio para a disseminação da TB. Podem ser necessárias medidas adicionais, dependendo da avaliação de riscos específica para o local.

Ao seguir os requisitos mínimos de biossegurança descritos neste capítulo, os laboratórios de risco médio de TB podem realizar, de forma segura, procedimentos que envolvam um risco moderado de aerolização das amostras, mas com uma concentração relativamente baixa de partículas infecciosas. Os laboratórios de risco médio podem:

- processar amostras para inoculação em meio de cultura sólido;
- realizar teste de sensibilidade directo (por exemplo: testes com sondas moleculares, teste de sensibilidade por observação microscópica [MODS], ensaio da nitrato redutase [NRA] em expectoração processada).

4.1 Factores que aumentam o risco de infecção

Além dos riscos gerais abordados pelas medidas de biossegurança descritas no Capítulo 2 (como pessoas não autorizadas no laboratório, pipetar com a boca, locais de trabalho desorganizados, descarte impróprio de resíduos), o laboratório classificado como de risco médio também pode enfrentar os seguintes desafios, que aumentam os riscos:

- trabalho em área com ventilação insuficiente;
- trabalho com iluminação insuficiente;
- câmaras de segurança biológica mal conservadas e sem certificação;

- câmaras de segurança biológica sem condutas apropriadas;
- ambiente de trabalho empoeirado, podendo causar bloqueio dos filtros HEPA das CSB;
- manipulação descuidada de amostras, podendo levar à formação de aerossóis;
- não cumprimento adequado das recomendações para uso do vórtex (por exemplo, usá-lo fora da CSB);
- quebra dos recipientes de amostras ou fugas durante a centrifugação;
- problemas associados à abertura dos copos da centrífuga fora da CSB;
- falta de avisos de biossegurança adequados e de informações sobre quem deve ser contactado em caso de emergência;
- mau funcionamento dos sistemas de refrigeração ou de aquecimento .

Boas técnicas microbiológicas são essenciais para minimizar a geração de aerossóis.

4.2 Características específicas e medidas essenciais mínimas de biossegurança

Em laboratórios com risco moderado de infecção, há dois níveis de contenção: a CSB (contenção primária) e o próprio laboratório (contenção secundária). Para enfrentar os riscos específicos associados a um laboratório de risco moderado, devem tomar-se as seguintes medidas de mitigação e controlo.

1. **Câmaras de segurança biológica:** todo o processamento e digestão de amostras de expectoração e manipulação de amostras de expectoração liquefeitas devem ser

realizados dentro da CSB. A câmara é a primeira forma de contenção no momento em que as amostras são processadas para inoculação de meios de cultura ou para realização de testes de sensibilidade directos. Por essa razão, as boas técnicas microbiológicas e o uso adequado das câmaras são essenciais para permitir que o trabalho seja realizado de forma segura. O uso inadequado das câmaras permite a libertação de aerossóis sejam dentro do ambiente laboratorial (ver Capítulo 6 para mais informações sobre CSB).

As câmaras de segurança biológica devem ficar afastadas de passagens e da circulação de portas e das tomadas de ar dos sistemas de condicionamento de ar. O ar de exaustão de câmaras que tenham sido mantidas adequadamente deve ter passado através de filtros HEPA no alto da câmara e por isso pode ser expelido para dentro da sala ou conduzido para o exterior, dependendo do grau de sofisticação do sistema de ventilação instalado.

É necessário um espaço adequado entre a câmara e o tecto, para permitir que o fluxo do ar da câmara não seja obstruído.

Recomendam-se câmaras Classe I ou Classe II; no entanto, elas devem ser projectadas por um fabricante certificado e ter manutenção. Devem ser certificadas *in loco*, pelo menos, uma vez por ano. Preferem-se as câmaras Classe II tipo A2 por apresentarem protecção, tanto para o operador como para o meio que está a ser inoculado (protecção ao produto).

As câmaras Classe II tipo B são apropriadas, mas não são recomendadas para novos laboratórios de TB, porque exigem tubulação inteiraça. Além disso, existe maior dificuldade em equilibrar a pressão da sala, fazer a sua manutenção e garantir o seu correcto funcionamento. Os tubos rígidos exigem que o sistema de

exaustão do edifício deva corresponder de forma precisa aos requisitos de fluxo de ar especificados pelo fabricante.

É necessário que uma fonte de alimentação de energia ininterrupta esteja ligada à câmara de segurança biológica e ao ventilador de exaustão, em locais em que a alimentação de energia não seja fiável; essa fonte dá mais tempo aos técnicos para completarem o trabalho de risco biológico e para permitir que o restante do ar contaminado na câmara seja expelido para a área externa, no caso de interrupção da energia. Recomenda-se a instalação, nas condutas, de dispositivos para prevenção de refluxo, a fim de evitar que o ar contaminado expelido reentre no laboratório, caso ocorra uma interrupção de energia. É útil possuir um gerador de apoio para as câmaras e outros equipamentos essenciais, tais como incubadoras e congeladores.

2. Ventilação: Além da CSB (barreira primária), a barreira secundária (proporcionada pelo próprio laboratório) é obtida através da manutenção de um fluxo de ar unidireccional para dentro do laboratório e pela garantia de um mínimo de 6 a 12 trocas de ar por hora.

Uma forma simples de se criar um fluxo unidireccional é colocar uma passagem de ar que permita o ar fluir para dentro da área limpa do laboratório e operar continuamente uma ou mais CSB, com ligação tipo coifa, para puxar o ar para a área suja do laboratório, removê-lo do laboratório e expeli-lo para fora do edifício. Deve instalar-se um dispositivo de monitorização visual, com ou sem alarme, para que os funcionários possam a qualquer momento certificar-se de que existe um fluxo direccional apropriado dentro do laboratório (ver Box 5).

Ao canalizar a CSB para a parte externa do edifício, usando uma ligação tipo

coifa, cria-se um fluxo de ar unidirecional dentro do laboratório, o que faz com que qualquer ar contaminado na CSB seja expelido do laboratório através dos filtros HEPA da CSB. Quando a câmara estiver ligada, o ventilador externo removerá o ar da câmara e da sala. Quando a câmara estiver desligada, o ar expelido será retirado apenas da sala. Um ventilador externo pode ser instalado com ou sem uma ligação ao modo (em funcionamento ou em espera) da câmara. O ideal é que o ventilador externo tenha um interruptor próprio, separado da CBS ou, alternativamente, possa ser ligado a um circuito de retransmissão, de tal forma que o ventilador externo continue a funcionar por algum tempo após a CBS ter sido desligada, de forma a garantir que todo o ar extraído da CBS tenha sido expelido para o exterior. A maior vantagem de uma CSB com ligação tipo coifa é que não é necessário fazer nenhum ajuste à câmara e que a direcção do fluxo de ar do interior para o exterior do laboratório será mantida.

Alternativamente, o ar expelido de dentro da CSB, através dos filtros HEPA, pode ser libertado para o interior do laboratório. Contudo, nesse caso, deve haver um sistema separado de exaustão do edifício que assegure um mínimo de 6 a 12 TAH no laboratório. O sistema de ventilação do edifício deve ser construído de forma a que o ar do laboratório de risco moderado de TB não seja recirculado para outras áreas dentro do edifício.

Quando o ar expelido do laboratório for descarregado para o exterior do edifício, ele deve ser dissipado para longe dos edifícios ocupados e das suas entradas de ar.

Em laboratórios de risco moderado e de risco alto de TB, as janelas devem ser mantidas fechadas durante todo o tempo.

- **Equipamento de protecção pessoal:** cada laboratório deve estudar os seus riscos (por exemplo, avaliando as actividades

e o volume de trabalho do laboratório, a prevalência de TB e a prevalência de estirpes resistentes a medicamentos) e decidir sobre o nível de protecção pessoal que é adequado para os seus funcionários. Devem usar-se sempre luvas e batas de protecção nos laboratórios com risco moderado de infecção.

Durante o seu processamento, as amostras são liquefeitas; isso aumenta a probabilidade de geração de aerossóis e, portanto, são essenciais medidas que minimizem a produção de aerossóis.

As luvas devem ser trocadas regularmente. Os técnicos devem sempre lavar as mãos antes de sair do laboratório.

Não são necessários protectores respiratórios, desde que as amostras sejam processadas dentro de uma CSB correctamente mantida e usando boas técnicas microbiológicas. Os protectores respiratórios não devem ser considerados como alternativa às CSB.

- **Projecto do laboratório:** o laboratório deve ser separado das áreas de acesso livre dentro do edifício. Um local para lavar as mãos deve ser colocado perto da porta de saída do laboratório.
- **Descontaminação e descarte de resíduos sólidos:** em laboratórios de risco moderado, todos os resíduos infecciosos a remover devem ser descartados de forma apropriada. Devem ser transportados em sacos de plástico hermeticamente fechados ou em recipientes que cumpram as especificações locais. Quaisquer materiais que sejam reutilizados devem ser descontaminados com um desinfetante apropriado ou autoclavado, antes de serem removidos do laboratório.
- **Minimizar a produção de aerossóis:** a formação de funcionários deve sempre incluir informação sobre os métodos mais

seguros para os procedimentos de cultura, visando evitar a inalação de aerossóis produzidos com o uso de ansas, pipetas, abertura de recipientes com amostras, manuseio de recipientes danificados ou com fugas, centrifugação e misturador. A possibilidade de salpico de material infectante, quando se estiver a usar um bico de Bunsen, deve ser evitada, usando-se um microincinerador eléctrico fechado para esterilizar ansas reutilizáveis.

Recomenda-se o uso de ansas e pipetas estéreis descartáveis.

As centrifugadoras devem ter copos de segurança ou rotores de contenção. O material infeccioso pode ser centrifugado na parte aberta do laboratório, sempre que se usem frascos lacrados de centrifugadoras e que os copos sejam carregados e descarregados dentro da CSB.

Box 5. Como calcular o número de trocas de ar por hora (TAH) num laboratório que use uma câmara de segurança biológica (CSB) com conexão tipo coifa.

- Determinar o volume da sala do laboratório (área da sala x altura da sala).
- Determinar o volume necessário de TAH (multiplicando o volume da sala por 6 para o número mínimo de trocas de ar e por 12 para o número máximo).
- Determinar o número de CSB e o fluxo de ar expelido de cada câmara. O ar expelido de uma CSB com profundidade de 150 cm será de aproximadamente 500 m³/h, (ou seja, área de entrada do fluxo de ar de 1,50 m x 0,2 m x velocidade do ar 0,38 ou 0,5 m/s x 3600 s = 410 – 540 m³/h). Fazer esse cálculo para cada câmara usada.
- Determinar a potência do exaustor externo instalado no final da conduta, que deve exceder a taxa de fluxo volumétrico de cada CSB em 30-50%, e que deve ser controlável e ligado a uma fonte ininterrupta de energia. O ar proveniente da CSB deve ser canalizado através de condutas de ventilação com diâmetro superior a 20 cm.

Por exemplo: um laboratório com uma área de 5 m x 10 m e um tecto de 2,5 m de altura vai necessitar que entre 750 m³ e 1500 m³ de ar sejam expelidos todas as horas, para permitir que sejam realizadas as 6-12 trocas de ar da sala exigidas. Dessa forma, duas CSB com conexão tipo coifa podem expelir 1300-1500 m³ de ar do laboratório por hora.

- O projecto do sistema de ventilação do laboratório deve ser feito por um engenheiro especializado.

5. Laboratórios de alto risco de TB (laboratório de contenção de TB)

O termo **laboratório de contenção de TB** refere-se a instalações que possuem as características mínimas de projecto necessárias para manipular culturas de TB de forma segura. Este tipo de instalação pode ou não cumprir todos os requisitos de um laboratório de Nível de Biossegurança 3, como descrito no Manual de Segurança Biológica em Laboratório da OMS². Todas as instalações laboratoriais devem cumprir a regulamentação local e nacional.

As recomendações descritas neste manual são os requisitos mínimos necessários para limitar ou reduzir os riscos de infecção em laboratórios que realizam procedimentos específicos e considerados de alto risco de disseminação de TB. Outras medidas podem ser necessárias, dependendo da avaliação de riscos específica para o local.

Os laboratórios de alto risco de TB (também conhecidos como laboratórios de contenção de TB) que cumprem os requisitos mínimos de segurança biológica descritas neste capítulo são os que trabalham com grandes volumes e concentrações de organismos *M. tuberculosis* e que envolvem procedimentos que apresentam um risco maior de dispersão de aerossóis. Os laboratórios de risco alto de TB podem:

- manipular culturas para identificar *M. tuberculosis*;
- manipular culturas ou suspensões de bacilos de tuberculose para todos os métodos de testes de sensibilidade indirectos e testes moleculares.

5.1 Factores que aumentam o risco de infecção

Além dos riscos descritos no Capítulo 4 para laboratórios classificados como de risco moderado e dos riscos em geral mencionados nas medidas de biossegurança descritas no Capítulo 2, os laboratórios classificados como de risco alto de TB (ou de contenção) enfrentam também os seguintes desafios, que aumentam os riscos:

- os técnicos têm de abrir frascos com culturas positivas;
- os técnicos têm de preparar esfregaços a partir de culturas positivas;
- a extração de ADN deve ser feita a partir de culturas positivas;
- manipulação de culturas para identificação e teste de sensibilidade indirecto;
- descarte de recipientes quebrados com culturas;
- descontaminação de culturas ou áreas onde ocorreram derramamentos.

5.2 Características específicas e medidas de biossegurança necessárias

Assim como no laboratório de risco moderado, há dois níveis de contenção num laboratório de risco alto de TB: a CSB (contenção primária) e o próprio laboratório (contenção secundária).

Num laboratório classificado como de risco alto, todos os procedimentos de manipulação de culturas viáveis de *M. tuberculosis* e suspensões aquosas de bacilos de TB para identificação, teste de sensibilidade indirecto e testes moleculares devem ser realizados dentro de uma CSB, num laboratório de contenção de TB.

Além dos elementos de segurança necessários para um laboratório de risco moderado, um laboratório de risco alto (ou de contenção de TB) requer as seguintes melhorias adicionais.

1. **Projecto do laboratório:** é essencial a existência de porta dupla de entrada para criar uma antecâmara para o laboratório de contenção. Ela deve ser projectada para proporcionar uma barreira física entre a secção de contenção e as partes externas do laboratório. Além disso, também permite um fluxo de ar unidirecional para dentro do laboratório. A antecâmara

deve ter um local separado para vestuário usado e limpo. As portas da antecâmara devem fechar automaticamente e estar interligadas, de modo a que só se possa abrir uma porta de cada vez. A antecâmara poderá também contar com um painel quebrável para ser utilizado como saída de emergência. O ar pode fluir para dentro do laboratório de contenção através da antecâmara; grelhas adaptadas com pré-filtros podem ser colocadas na parte inferior das portas da antecâmara para garantir a manutenção do fluxo de ar limpo para dentro do laboratório de contenção.

Deve ser instalado um painel de vidro que permita ver o laboratório de contenção a partir das áreas externas do laboratório.

- 2. Equipamento de protecção pessoal:** cada unidade deve avaliar os riscos e decidir sobre o nível apropriado de protecção pessoal para a sua equipa.

Devem ser usadas batas de protecção, que tenham frente inteiriça e sejam impermeáveis a líquidos. As batas de protecção devem ter manga comprida e punho com elástico (pelo menos 30 cm de largura) e devem ser fechadas atrás.

É obrigatório usar luvas. Os profissionais devem sempre lavar as mãos antes de sair do laboratório.

Protecção para a cabeça e sapatos ou sapatos especiais são medidas opcionais que podem ser adoptadas como medidas

adicionais de protecção. No entanto, as protecções usadas no laboratório de contenção de TB não devem ser usadas noutras áreas do laboratório.

O equipamento de protecção respiratória pode proporcionar protecção adicional para procedimentos de alto risco - tais como a manipulação de culturas líquidas para identificação e TS - que geram aerossóis com alta concentração de partículas infecciosas. No entanto, a protecção respiratória não deve ser considerada protecção suficiente para o uso em câmaras de segurança biológicas que não funcionem adequadamente ou que não estejam certificadas. Em todo o caso, as boas técnicas microbiológicas são essenciais para minimizar o risco de infecção adquirida em laboratórios.

- 3. Descontaminação e descarte de resíduos:**

Deve existir uma autoclave disponível nas proximidades do laboratório de contenção, para permitir a esterilização de tubos e frascos contendo culturas do bacilo de TB, antes da sua remoção do laboratório para o descarte. Todos os outros resíduos infecciosos que tenham de ser removidos do laboratório de contenção para descontaminação e descarte final devem ser transportados em sacos de plástico ou recipientes selados, que obedeçam aos regulamentos locais. Qualquer material reutilizado deve ser descontaminado com um desinfectante adequado ou autoclavado, antes de ser removido do laboratório.

RECOMENDAÇÃO DO GRUPO DE PERITOS

O Manual de Segurança Biológica em Laboratório, da OMS², recomenda que os laboratórios de contenção sejam vedados, de modo a que possam ser descontaminados por fumigação. O Grupo de Peritos considera que não é essencial que o laboratório de contenção de TB tenha que ser selado para descontaminação, uma vez que as partículas infecciosas de bactérias que foram ressecadas sobre superfícies têm pouca probabilidade de aerossolização. O Grupo de Peritos, portanto, concluiu que os procedimentos de descontaminação de superfícies são suficientes para os laboratórios de contenção de TB e que a fumigação do laboratório de contenção não é obrigatória

6. Equipamentos de segurança

Com o objetivo de eliminar ou reduzir certos riscos nos laboratórios de TB (*Tabela 4*), podem usar-se equipamentos de segurança. Contudo, uso desses equipamentos não é garantia de protecção, a menos que o operador seja competente e utilize técnicas adequadas. Os equipamentos também devem ser testados periodicamente para garantir um desempenho seguro.

6.1 Câmaras de segurança biológica

Devido ao seu tamanho diminuto, aerossóis de partículas nucleadas podem ser gerados durante alguns procedimentos laboratoriais, sem o conhecimento do pessoal do laboratório, resultando na inalação de agentes infecciosos ou na contaminação cruzada de bancadas ou de materiais. As CSB são projetadas para proteger as pessoas e o ambiente contra agentes infecciosos e, dependendo da sua classificação, oferecer níveis variáveis de protecção contra a contaminação para as amostras ou culturas.

O filtro HEPA, instalado no exaustor das CSB, retém de forma eficaz organismos infecciosos conhecidos e garante que apenas ar livre de micróbios seja lançado para fora da câmara. Um filtro HEPA instalado na CSB sobre a área de trabalho protege os materiais e a superfície de trabalho contra contaminações. A isso chama-se, geralmente, protecção dos produtos.

Existem três classes de CSB: I, II e III (correspondendo aos padrões AS/NZS 2252.1:1994, AS/NZS 2252.2:1994, NSF/ANSI 49-2008)^{18,19,20}. De acordo com a Norma NSF/ANSI 49 – 2008, as CSB Classe II têm vários tipos (A1, A2, B1, B2); estes são usados para classificar variações nos padrões de fluxo de ar, velocidades, posição do filtro HEPA dentro da câmara, taxas de ventilação e métodos de exaustão.

6.1.1 Escolher uma câmara de segurança biológica para um laboratório de TB

Os dois tipos de câmaras de segurança biológica descritos abaixo são mais adequados para uso

em laboratórios de risco moderado e de risco alto de TB (laboratórios de contenção de TB).

Classe I

- Este tipo de CSB proporciona protecção pessoal e ambiental, mas não oferece protecção dos produtos. Essa falta de protecção dos produtos pode contribuir para um aumento das taxas de contaminação, especialmente quando se prepara e inocula culturas líquidas (ver *Figura 1*).

Classe II.

- A CSB classe II oferece protecção pessoal, ambiental e dos produtos e, no modelo A2, todos os tubos contaminados biologicamente estão sob pressão negativa ou estão cercados por tubos de pressão negativa (ver *Figura 2*). **(Este é o tipo de CSB PREFERÍVEL).**
- As CSB classe II tipo A1 não são aconselháveis, porque os seus tubos podem vir a ficar contaminados e os seus “plenums” preenchidos com pressão positiva em relação à pressão da sala.
- As CSB Classe II tipo B1 e tipo B2 devem possuir tubos rígidos de exaustão para o exterior, o que significa que o sistema de exaustão do edifício deve corresponder de forma precisa aos requisitos de fluxo de ar especificados pelo fabricante, tanto para o volume como para a pressão estática. A certificação, operação e manutenção destes tipos de CSB são, portanto, mais difíceis e, por isso, não são recomendados em quaisquer novos laboratórios de TB.

As CSB devem ser equipadas com filtros HEPA, que obedeçam aos padrões internacionais (por exemplo, a norma europeia EN12469 ou a norma americana 49 NSF/ANSI, de 2008^{20,21}

Para novas compras, recomenda-se as CSB Classe II tipo A2, com caixilho móvel.

Uma CSB deve ser escolhida primeiramente de acordo com o tipo de protecção necessária: protecção do produto ou protecção do pessoal contra o risco de infecção. A escolha do tipo correcto de CSB, sua instalação, uso apropriado e certificação anual são processos complexos. É altamente recomendável que o profissional responsável por esses processos seja devidamente qualificado, experiente e familiarizado com todos os aspectos das CSB.

As CSB devem estar ligadas a um sistema ininterrupto de energia, para garantir o tempo necessário à conclusão de um procedimento, caso ocorra uma falha de energia.

As câmaras de segurança biológica devem ser certificadas no momento da instalação, sempre que sejam deslocadas e após terem passado por manutenção ou troca de filtros; também requerem manutenção regular (anual), para garantir um funcionamento adequado. Atrasar a manutenção ou contratar pessoas não qualificadas para realizar a manutenção pode colocar os funcionários do laboratório em risco (ver secção 6.1.5.)

6.1.2 Câmara de segurança biológica classe I

A CSB Classe I funciona retirando o ar não filtrado da sala, através de uma abertura frontal, passando-o sobre a superfície da área de trabalho e depois descarregando esse ar através de um tubo de exaustão.

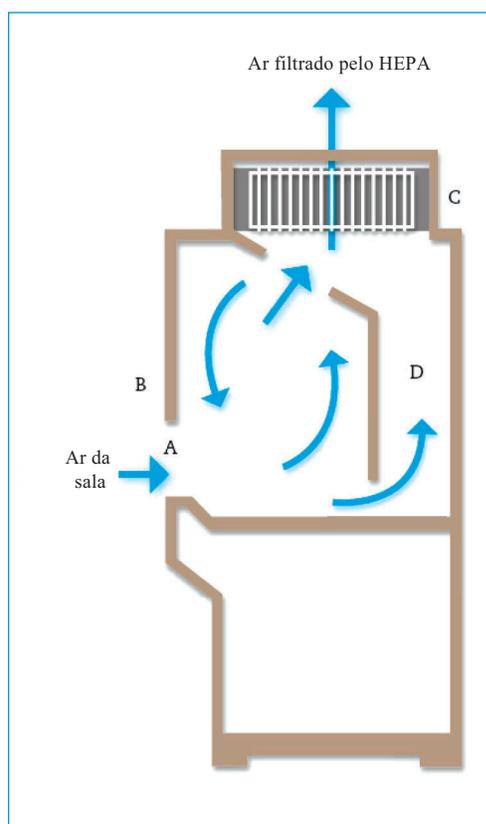
A CSB Classe I oferece protecção para o profissional, mas não protege os produtos (amostras ou culturas) contra a contaminação, uma vez que o ar não esterilizado é lançado sobre a superfície de trabalho.

A Figura 1 mostra um diagrama esquemático de uma CSB Classe I. O ar da sala é aspirado através da abertura frontal, a uma velocidade mínima de 0,38 m/s (NSF/ANSI).²⁰ Passa, depois, sobre a superfície de trabalho e é lançado para fora da câmara através do tubo de exaustão. O fluxo direccional de ar movimenta as partículas de

aerossol, que podem ter sido geradas na bancada de trabalho, para longe do técnico e para dentro do tubo de exaustão. A abertura frontal permite que os braços do operador alcancem a superfície de trabalho dentro da câmara, enquanto observa a superfície através de uma janela de vidro. A janela pode ser completamente levantada para dar acesso à área de trabalho e assim permitir a sua limpeza e servir outros propósitos.

O ar da câmara é aspirado através de um filtro de ar HEPA: (a) para dentro do laboratório e depois para o exterior do edifício, através do sistema de exaustão do edifício; ou (b) para o exterior, através do sistema de exaustão do edifício; ou c) directamente para o exterior.

Figura 1. Diagrama esquemático de uma câmara de segurança biológica Classe I. A – abertura frontal; B – painel frontal; C – filtro HEPA de exaustão; D – plenum de exaustão.



6.1.3 Câmaras de segurança biológica Classe II tipo A2

As CSB Classe II diferem das câmaras Classe I, porque permitem que apenas ar filtrado pelo filtro HEPA (estéril) passe sobre a superfície de trabalho.

A CSB Classe II tipo A2 é mostrada na *Figura 2*. Uma ventoinha interna aspira o ar da sala (abastecimento de ar) para dentro da câmara, através da abertura frontal e depois para dentro da grelha de entrada frontal. Depois de passar pela grelha, o abastecimento de ar é puxado para cima, através de um filtro HEPA, antes de fluir para baixo, passando sobre a superfície da bancada.

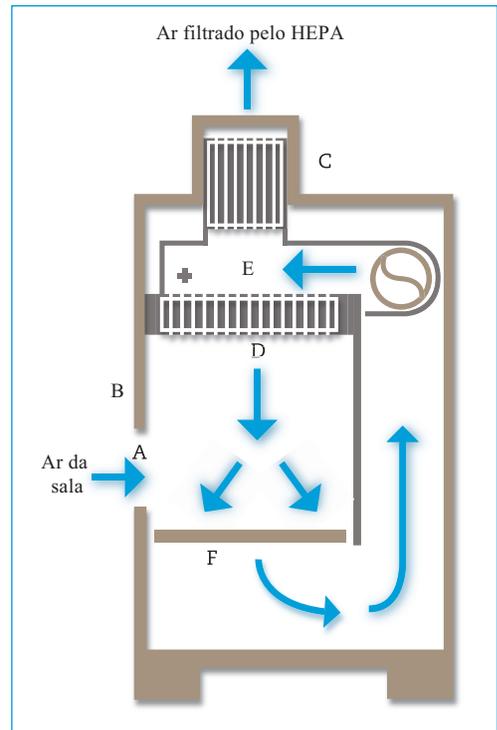
À medida que o ar desce, a cerca de 6-18 cm da superfície de trabalho, divide-se de modo a que metade do volume de ar passe através da grelha de exaustão frontal e a outra metade passe através da grelha de exaustão traseira. Qualquer partícula de aerossol gerada na superfície de trabalho é imediatamente capturada nesse movimento de fluxo de ar descendente e passa através das grelhas frontais ou traseiras, proporcionando dessa forma o mais alto nível de protecção aos produtos. O ar é depois lançado, através do plenum traseiro, para dentro do espaço entre os filtros de abastecimento e de exaustão localizados no topo da câmara. Devido ao tamanho desses filtros, cerca de 60 a 70% do ar é recirculado, através do filtro HEPA de abastecimento, para a área de trabalho; os restantes 30 a 40% passam através do filtro de exaustão para dentro da sala ou para o exterior.

O ar proveniente do exaustor de uma CSB Classe II tipo A2 pode ser recirculado para dentro da sala ou lançado para fora do edifício, através de uma coifa ligada a uma conduta própria; e NÃO deve ser descarregado através do sistema de exaustão do edifício.

Num laboratório de contenção, onde o ar da CSB classe II é recirculado para a sala, é necessário um sistema de ventilação exclusivo e separado, para garantir um fluxo de ar unidirecional para dentro do laboratório, com 6 a 12 TAH. Recircular o ar de exaustão para a sala tem a

vantagem de diminuir os custos de energia do edifício, porque o ar refrigerado ou aquecido não está a ser passado para o ambiente externo.

Figura 2. Representação esquemática de uma câmara de segurança biológica Classe II tipo A2.



A – abertura frontal; B – painel frontal; C – filtro HEPA de exaustão; D – filtro HEPA de abastecimento; E – plenum de pressão positiva; F – plenum de pressão negativa.

6.1.4 Conexões com coifa

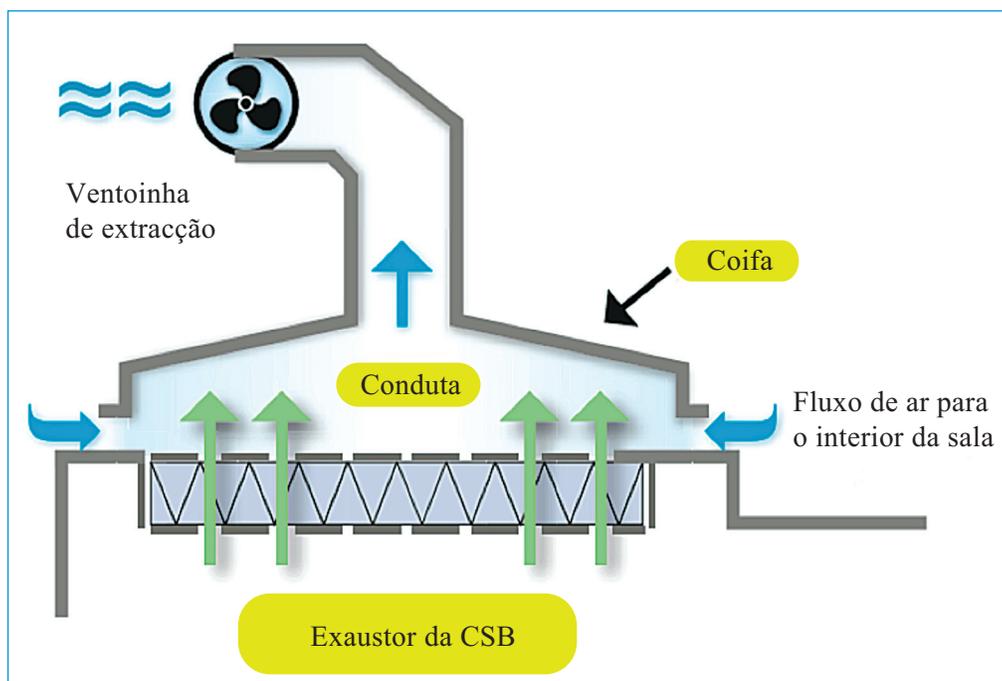
Com as CSB Classe II tipo A2, usa-se uma conexão com coifa (ver *Figura 3*) com saída para o exterior. Essa coifa é ajustada à box do exaustor da câmara, aspirando o ar da câmara e expelindo-o para a tubulação que leva para o exterior. Uma pequena abertura (geralmente de 5 cm de diâmetro) é mantida entre a coifa e a box de exaustão da câmara. Essa abertura permite que o ar da sala também seja aspirado e expelido pelo sistema de exaustão. A

capacidade desse sistema de exaustão deve ser suficiente para captar tanto o ar da sala como o ar do exaustor da câmara. A coifa deve ser removível ou ser desenhada de modo a permitir testes de funcionamento da câmara. De modo geral, o desempenho de uma CSB com conexão a uma coifa não costuma ser afectado pelas flutuações no fluxo de ar do edifício.

Uma das vantagens de se usar a conexão a uma coifa é que não são necessários ajustes na câmara e a pressão da sala será quase sempre constante. Para manter uma pressão baixa, controlada e constante dentro da sala

de contenção, é preciso um amortecedor para controlar o sistema de extracção e permitir que o fluxo de ar através da coifa seja equilibrado com a capacidade de exaustão do extractor colocado no final da conduta. Outra vantagem da conexão por coifa é que, em casos de interrupção de energia, o ar que regressa para a sala, onde a pressão baixou, irá penetrar quase exclusivamente pelas entradas de ar e pela coifa, não retirando as bactérias do filtro HEPA. Uma válvula antiretorno do ar instalada na conduta garante que o ar será insuflado para dentro através das entradas de ar limpo.

Figura 3. Representação esquemática da conexão com coifa de uma câmara de segurança biológica Classe II tipo A2 com conduta para o exterior do laboratório.



6.1.5 Usar as câmaras de segurança biológica no laboratório

Localização

A integridade do fluxo direcional de ar é frágil e pode ser facilmente rompida por correntes de ar geradas por pessoas que se movimentem perto da CSB, por janelas abertas ou registros

de abastecimento de ar e pelo abrir e fechar de portas. O ideal é que a CSB esteja bem situada, num local afastado do tráfego e de correntes de ar que possam provocar alterações. Sempre que possível, deve haver um afastamento de 30 cm nas laterais e na parte traseira da câmara, para facilitar o acesso para manutenção. Pode

ser necessário um espaço de 30-35 cm acima da câmara, para medição exacta da velocidade do ar através do filtro do exaustor e para a substituição deste.

Operadores

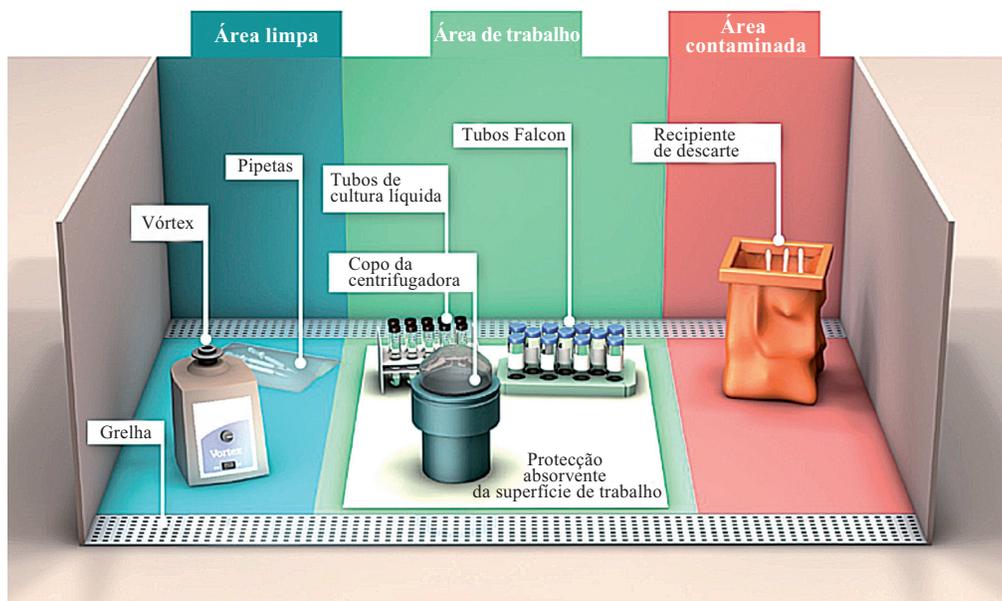
Se as CSB não forem utilizadas de forma adequada, a protecção que oferecem pode diminuir consideravelmente; em alguns casos, o uso impróprio pode resultar até mesmo em maior risco para o funcionário do laboratório. Protocolos escritos, assim como um manual de biossegurança devem ser distribuídos aos operadores, que devem assinar um documento, declarando que leram e compreenderam os protocolos mencionados. Todos os indivíduos que trabalham nas CSB devem ser observados, para garantir que seguem correctamente as práticas de trabalho, antes de iniciarem a realização de testes de rotina em CSB. Os operadores devem ter o cuidado de manter a integridade do fluxo de ar proveniente da abertura frontal, quando introduzirem e retirarem os seus braços na CSB. Devem mover os braços lentamente e garantir que estejam perpendiculares à abertura frontal. O operador deve aguardar cerca de 2 minutos, após a introdução dos braços na CSB, antes de iniciar a manipulação dos materiais, para

que o fluxo de ar dentro da câmara estabilize e varra a superfície das mãos e braços do operador. O número de movimentos de entrada e saída da câmara deve ser reduzido ao mínimo, introduzindo-se previamente todo o material necessário antes de iniciar o trabalho.

Disposição do material

A grelha frontal de entrada da CSB classe II não deve estar bloqueada com papéis, equipamentos ou quaisquer outros itens. Recomenda-se que todo o trabalho seja realizado sobre papel absorvente embebido em desinfectante, para absorver borrifos e salpicos. Todo o material deve ser colocado o mais atrás possível na câmara - ou seja, perto da parte de trás da superfície de trabalho - sem bloquear a grelha traseira. Equipamentos geradores de aerossóis (como vórtex e centrifugadoras) devem ser colocados na parte de trás da câmara. Materiais volumosos (como recipientes ou sacos para descarte) devem ser colocados num dos lados do interior da câmara. As actividades devem ser realizadas no sentido da área limpa para a área contaminada, ao longo da superfície de trabalho. Nunca devem ser colocados papéis dentro das CSB. A câmara não deve ficar atulhada, pois isso pode afectar a eficiência do fluxo de ar (ver *Figura 4*).

Figura 4. Esquema típico para o fluxo de trabalho de áreas limpas para áreas contaminadas dentro de uma CSB Classe II. Os materiais limpos são colocados no lado esquerdo da câmara; as amostras são inoculadas no centro da câmara e as pipetas contaminadas e outros materiais são colocados nos recipientes de descarte de resíduos, no lado direito da câmara. Esta disposição pode ser invertida para pessoas esquerdinas.



Luz ultravioleta

A luz ultravioleta não é recomendada nas CSB usadas em laboratórios de TB.

Chamas vivas

Devem evitar-se chamas vivas dentro das CSB, uma vez que o calor afecta os padrões de fluxo de ar dentro das câmaras. Para esterilizar ansas bacteriológicas, existem microincineradores ou fornos eléctricos que são preferíveis ao uso de chamas. É preferível fazer uso de ansas e pipetas descartáveis.

Derramamentos

Uma cópia dos procedimentos necessários, em caso de derramamentos, deve ser afixada, lida e entendida por todos os que usam o laboratório. Se um derramamento ocorrer dentro de uma CSB, a limpeza deve ser efectuada imediatamente, enquanto a câmara continua em funcionamento. Deve usar-se um desinfetante eficaz, que deve

ser aplicado de forma a minimizar a produção de aerossóis. Todos os materiais que tenham entrado em contacto com o agente libertado devem ser desinfectados e descartados de forma apropriada.

Certificação

O funcionamento e a integridade operacional de cada CSB devem ser certificados, segundo os padrões nacionais ou internacionais de desempenho, no momento da sua instalação, após qualquer deslocação no laboratório e depois periodicamente (pelo menos, uma vez por ano), por técnicos qualificados, seguindo as instruções do fabricante. A avaliação da eficácia da capacidade de contenção das câmaras deve incluir testes para verificar a integridade da câmara, fugas nos filtros HEPA, perfil da velocidade do fluxo vertical, velocidade aparente, taxa de pressão negativa/ventilação, verificação do padrão do fluxo vertical, velocidade frontal,

pressão negativa e taxa de ventilação, padrão de fluxo de fumo, alarmes e interconexões.

A velocidade do ar que flui através da abertura frontal para dentro da CSB deve atender às especificações do fabricante. Podem realizar-se testes opcionais para fugas de eletricidade, intensidade da iluminação, intensidade da luz ultravioleta e nível de ruído e de vibração. Para efectuar tais testes, é preciso contar com profissionais qualificados, com formação e competência na utilização de equipamentos especiais. O profissional deve estar bastante familiarizado e treinado em todos os aspectos das CSB.

Limpeza e descontaminação da área de trabalho

No final do trabalho, todos os objectos que estão dentro da CSB, inclusive equipamentos, devem ser descontaminados e retirados da câmara.

As superfícies internas das CSB devem ser descontaminadas antes e depois de cada utilização. As superfícies de trabalho e as paredes internas devem ser esfregadas com um desinfectante que mate todo e qualquer microrganismo que possa ser encontrado dentro da câmara. No final do dia de trabalho, a descontaminação final de superfície deve incluir uma limpeza da superfície de trabalho, das laterais, do fundo e da parte interna do vidro. Uma segunda limpeza com água esterilizada é necessária quando for usado um desinfectante corrosivo, como, por exemplo, uma solução de hipoclorito de sódio.

Recomenda-se que a câmara seja mantida a funcionar durante mais 15 minutos depois de terminado trabalho, para purificar a atmosfera interna antes de ser desligada.

Descontaminação

As CSB devem ser totalmente descontaminadas, inclusive plenum e filtros, antes das trocas dos filtros e antes de serem transferidas para outro local (ver norma NSF/ANSI 49 – 2008 para procedimentos e informações sobre descontaminação²⁰). A descontaminação da CSB deve ser feita por um profissional qualificado.

Alarmes

As CSB podem ser equipadas com um ou dois tipos de alarme sonoro. Alarmes no painel frontal só existem em câmaras com painel de correr. O alarme é accionado quando o operador não coloca o painel na posição correcta. Para corrigir essa situação, basta colocar o painel na posição correcta. Alarmes do fluxo de ar indicam uma deficiência no fluxo normal de ar na câmara. Isso significa que há um perigo imediato para o operador ou para o produto. Quando o alarme de fluxo de ar for accionado, o trabalho deve ser imediatamente interrompido e o supervisor do laboratório deve ser avisado. O manual de instruções do fabricante deve fornecer mais informações sobre a forma de lidar com esse tipo de alarme e essas informações devem ser incluídas na formação sobre o uso de CSB.

6.2 Centrifugadoras com copos de segurança

No processo de centrifugação pode haver produção de aerossóis. Por isso, é preciso seguir rigorosamente as medidas de segurança, quando se fizer uso da centrifugadora.

Durante o funcionamento, a tampa da centrifugadora deve estar hermeticamente fechada. Um largo anel de borracha não porosa assegura o fechamento hermético da tampa. A tampa não pode ser aberta antes de o rotor ter parado completamente. Deve haver disponibilidade de rotores adequados com tampas de segurança para cada encaixe. As tampas de cada um dos copos e tubos devem ser fechadas de forma correcta, antes de se pôr a centrifugadora em funcionamento. Como medida de precaução contra aerossóis, devem ser carregados e descarregados numa CSB copos individuais selados. Recomendam-se centrifugadoras refrigeradas com rotor de ângulo móvel, para processar amostras para cultura de TB.

Quando se utilizar uma microcentrifugadora para extracção de ADN, é necessário um rotor de segurança com uma tampa selada; a microcentrifugadora deve ser carregada e descarregada dentro da CSB.

Deve verificar-se periodicamente se as centrifugadoras apresentam desgaste ou danos e a sua manutenção deve seguir as especificações do fabricante.

6.3 Autoclaves

Nos laboratórios gerais de TB que efectuam testes de diagnóstico, a autoclave, que usa vapor saturado sob pressão, é o meio mais eficaz de esterilizar instrumentos, vidraria e soluções de meios de cultura; também é usada para descontaminação de materiais biológicos (como culturas de micobactérias). Dois factores são essenciais para o perfeito funcionamento de uma autoclave: (1) todo o ar da câmara deve ser substituído por vapor; (2) a temperatura deve atingir 121°C.

As autoclaves devem ser colocadas longe da área principal de trabalho do laboratório, porque podem ser barulhentas, são quentes e libertam vapor. Uma autoclave usada para descontaminar material infeccioso deve ter uma válvula exaustora de ar equipada com um filtro bactericida. O filtro estéril da autoclave deve consistir num cartucho de filtro com uma membrana (tamanho do poro de 0,2 µm), incorporado numa estrutura resistente à pressão; o filtro deve ser de fácil substituição. O filtro é automaticamente esterilizado durante o processo de esterilização. Em cada local onde se realizem culturas de TB DEVE existir uma autoclave, que deverá ser colocada, de preferência, dentro do laboratório de contenção de TB.

As instruções do fabricante para operação e limpeza da autoclave devem ser sempre seguidas.

Tabela 4. Equipamento de segurança usado para processar amostras em laboratórios de TB, riscos potenciais e características de segurança associados

Equipamento	Risco ou dano potencial	Características de segurança
Câmara de segurança biológica		
Classe I	Aerossóis e salpicos	<ul style="list-style-type: none"> Fluxo mínimo de entrada de ar (velocidade frontal) na abertura de acesso ao trabalho, de acordo com recomendações do fabricante; o ar expelido passa através do filtro HEPA. Fornece protecção ao pessoal e ao ambiente
Classe II	Aerossóis e salpicos	<ul style="list-style-type: none"> Fluxo mínimo de entrada de ar (velocidade frontal) na abertura de acesso ao trabalho, de acordo com recomendações do fabricante; o ar expelido passa através do filtro HEPA. Fornece protecção ao pessoal, ao produto e ao ambiente
Câmara Ventilada	Aerossóis e salpicos	<ul style="list-style-type: none"> Não substitui uma CSB Fluxo mínimo de entrada de ar (velocidade frontal) na abertura de acesso ao trabalho, de acordo com especificações Sem filtro HEPA Proporciona protecção limitada ao pessoal
Centrifugadoras com copos de segurança ou rotor selado	Aerossóis e derramamento	<ul style="list-style-type: none"> Contenção de aerossóis
Dispositivos auxiliares de pipetagem	Riscos de pipetagem com a boca, como ingestão de agentes patogénicos, inalação de aerossóis produzidos pela sucção na pipeta, expulsão de líquido ou gotas da pipeta, contaminação da ponta de sucção da pipeta.	<ul style="list-style-type: none"> Fácil de usar Controla a contaminação da ponta de sucção da pipeta, protege o dispositivo, o operador e a linha de vácuo Podem ser esterilizados Controlam fugas através da ponta da pipeta

Equipamento	Risco ou dano potencial	Características de segurança
Microincineradores de ansas, ansas descartáveis	Salpicos durante uso de ansas	<ul style="list-style-type: none"> • Microincineradores protegidos por um tubo de vidro ou de cerâmica aberto numa extremidade; são aquecidos a gás ou eletricidade • Uso de ansas descartáveis elimina a necessidade de uso de microincineradores
Recipientes à prova de fugas para colheita e transporte de material infeccioso, para serem esterilizados dentro do laboratório	Aerossóis, derramamentos e fugas	<ul style="list-style-type: none"> • Material à prova de fugas com tampa ou cobertura • Duradouros • Autoclaváveis
Recipientes de descarte de objectos cortantes	Lesões por picadas	<ul style="list-style-type: none"> • Autoclaváveis • Robustos, não perfuráveis
Recipientes para transporte entre laboratórios ou instituições	Libertação de microrganismos	<ul style="list-style-type: none"> • Robustos • Contentores primários e secundários à prova de água, para evitar derramamentos • Material absorvente para evitar derramamentos
Autoclaves (manual ou automática)	Culturas positivas esterilizadas, antes de serem removidas do laboratório	<ul style="list-style-type: none"> • Modelo aprovado • Esterilização por calor eficaz

HEPA – ar particulado de alta eficiência; CSB – câmara de segurança biológica

7. Vestuário e equipamentos de protecção pessoal

O vestuário e os equipamentos de protecção pessoal devem actuar como uma barreira para minimizar o risco de exposição a aerossóis, salpicos e inoculação accidental. A escolha do vestuário e do equipamento depende da natureza do trabalho realizado. O vestuário de protecção deve ser usado sempre que o técnico

trabalha no laboratório (ver Box 6). Antes de sair do laboratório, deve tirar-se o vestuário de protecção e lavar as mãos. A *Tabela 5* descreve, de forma sucinta, alguns equipamentos de protecção pessoal usados em laboratórios e a protecção que cada tipo oferece.

Tabela 5. Vestuário e equipamentos de protecção pessoal que devem ser usados pelos técnicos em laboratórios de tuberculose.

Equipamento	Risco potencial	Características de protecção
Batas de laboratório	Contaminação do vestuário pessoal	<ul style="list-style-type: none"> As batas de laboratório devem ter manga comprida e fechar à frente, para cobrir o vestuário pessoal As batas devem ser usadas para actividades onde existe um baixo risco de infecção por TB
Batas de protecção	Contaminação do vestuário pessoal	<ul style="list-style-type: none"> As batas de protecção devem ter mangas compridas e punho com elástico (pelo menos, 30 cm de largura) As batas de protecção devem fechar atrás As batas de protecção devem cobrir o vestuário pessoal
Protector respiratório	Inalação de aerossóis	<ul style="list-style-type: none"> Os modelos disponíveis incluem N95 (padrão dos Estados Unidos) e FFP2 (padrão europeu); modelos de purificadores de ar de face total ou meia face
Luvas	Contacto directo com microrganismos	<ul style="list-style-type: none"> Descartáveis, de látex, vinil ou nitrilo microbiologicamente aprovadas

7.1 Batas de protecção

As batas de protecção devem ter manga comprida e abertura atrás. Quando o funcionário estiver de pé, a bata deve estender-se até abaixo da bancada; a bata deve cobrir totalmente o colo da pessoa, quando ela estiver sentada. As batas reutilizáveis devem ser autoclavadas,

antes de serem lavadas. As batas não devem ser levadas para casa para serem lavadas; o laboratório deve contar com serviços de lavanderia próprios ou nas proximidades. As batas devem ser trocadas, pelo menos, uma vez por semana e imediatamente após terem sido claramente contaminadas.

As batas não devem ser usadas fora das áreas do laboratório. Deve existir um local onde as batas possam ser guardadas. Todo o pessoal do laboratório, assim como qualquer pessoa que entre no laboratório, deve usar uma bata. O vestuário de protecção de laboratório não deve ser guardado nos mesmos cacifos ou armários das roupas de uso pessoal. Deve haver batas de reserva, em caso de contaminação.

7.2 Protectores respiratórios

Normalmente, não são necessários protectores respiratórios para o trabalho num laboratório de TB. Entretanto, de acordo com a avaliação de risco, eles podem ser recomendados quando se manipulam culturas dentro do laboratório de contenção da TB. Mesmo não sendo usados regularmente, deve haver disponibilidade de protectores respiratórios nos laboratórios que manipulam culturas, em caso de risco biológico acidental (como um derrame) que ocorra fora da CSB. Os protectores respiratórios devem ser incluídos como parte do kit usado para limpar derrames no laboratório.

Os protectores respiratórios nunca devem ser usados como substitutos para uma câmara de segurança biológica devidamente certificada e operacional.

Os protectores respiratórios N95 (padrão EUA NIOSH N95) ou FFP2 (padrão Europeu EN149:2001) devem ser usados, se forem indicados pela avaliação de risco. Tais protectores são dispositivos leves e descartáveis, que cobrem nariz e boca e filtram 94-95% das partículas que são $\geq 0,3-0,4 \mu\text{m}$.

Se forem usados protectores respiratórios no laboratório, todos os funcionários devem ser instruídos e treinados sobre o seu uso correcto, colocação ajustada e suas limitações. Os utilizadores devem, de preferência, submeter-se a um teste de ajuste para garantir que não ocorrerão fugas. Os protectores respiratórios não devem ser usados por pessoas de barba. Os protectores devem ser guardados num local

conveniente, limpo, seco e higiénico e não devem ser usados fora do laboratório. Uma vez colocado, a pessoa não deve tocar a frente do protector em nenhuma circunstância. Não puxar o protector para baixo do queixo ou para o topo da cabeça, quando falar ao telefone ou conversar.

Os protectores respiratórios devem ser examinados antes de cada uso, para garantir que não existem orifícios, a não ser os existentes em volta das tiras, e que não estão danificados. (Os protectores com orifícios aumentados resultantes de material do filtro que tenha sido rasgado ou arrancado ao redor das tiras são considerados estragados). As tiras e as válvulas também devem ser verificadas. Um protector respiratório danificado tem que ser descartado e substituído imediatamente.

As máscaras cirúrgicas não são protectores respiratórios, não são certificadas como tal e não oferecem protecção significativa para o pessoal de laboratório que realiza técnicas de diagnóstico de TB produtoras de aerossóis. Elas não são feitas para proteger a pessoa contra a inalação de pequenos aerossóis infecciosos e, portanto, não devem ser usadas.

7.2.1 Ajustar os protectores respiratórios

Os técnicos que usam protectores respiratórios devem receber formação apropriada, devendo ser ensinados a:

- segurar o protector numa mão com o encaixe nasal na ponta dos dedos, deixando as tiras que prendem na cabeça penderem livremente;
- posicionar o protector respiratório por baixo do queixo com o encaixe nasal voltado para cima; colocar a tira superior em volta do topo da cabeça; puxar a tira inferior, passando-a sobre a cabeça e posicionando-a em volta do pescoço, por baixo das orelhas;
- colocar as pontas dos dedos de ambas as mãos na parte superior do encaixe

nasal; usando as duas mãos, moldar o encaixe nasal de acordo com o formato do seu nariz, empurrando-o para dentro ao deslizar as pontas dos dedos do centro para as extremidades de ambos os lados do encaixe nasal; o uso de apenas uma das mãos pode resultar num ajuste inadequado e diminuir o desempenho do protector; usar sempre as duas mãos.

7.2.2 Remover o protector respiratório

- O técnico deve retirar as luvas e lavar completamente as mãos, antes de remover o protector respiratório. Deve segurar-se apenas nas tiras e não tocar a frente do respirador.

7.3 Luvas

Devem usar-se luvas para todos os procedimentos que envolvam o contacto directo ou possam envolver contacto accidental com expectoração, sangue, fluidos corporais ou outros materiais potencialmente infecciosos. Após o uso, as luvas devem ser removidas assepticamente e as mãos devem ser lavadas cuidadosamente.

As luvas contaminadas (e mãos não lavadas) podem ser fonte de infecção para outros membros da equipa do laboratório que manipulam e operam equipamentos no laboratório (como centrifugadora ou telefone).

Lavar as mãos regularmente é essencial para prevenir muitos tipos de infecções adquiridas no laboratório, inclusive as causadas por agentes patogénicos veiculados por sangue.

Podem usar-se luvas descartáveis de látex, de vinil sem látex (claras) ou de nitrila e os tamanhos

correctos (pequeno, médio ou grande) devem estar disponíveis para todos os indivíduos. As luvas devem ajustar-se da forma mais confortável possível e devem cobrir os punhos.

As luvas descartáveis não devem ser nunca reutilizadas e depois de usadas devem ser descartadas juntamente com os resíduos do laboratório. Deve haver sempre uma boa reserva de luvas. As luvas não devem ser usadas fora da área do laboratório.

Devem retirar-se as luvas e lavar as mãos cuidadosamente com água e sabão depois de se manipular materiais infecciosos, de trabalhar numa câmara de segurança biológica e antes de sair do laboratório.

7.3.1 Retirar as luvas

O pessoal do laboratório deve ser ensinado a retirar as luvas, seguindo os seguintes passos:

1. retirar uma das luvas puxando-a pela parte interna do punho e enrolando-a até sair da sua mão, de forma a que saia pelo avesso. Isso mantém a maior parte da contaminação na parte interna;
2. segurar a luva usada com a outra mão que está enluvada. Deslizar cuidadosamente os dedos expostos sob a parte interna do punho da mão enluvada, cuidando para não tocar a superfície contaminada da luva. Puxar a luva pelo lado do avesso, rolando-a sobre a outra luva usada, que já foi retirada, para formar uma espécie de trouxa de luvas usadas, com a parte contaminada para dentro;
3. descartar as luvas de forma apropriada e segura.

Box 6. Indicações para o uso de luvas e protectores respiratórios, de acordo com o nível de risco de laboratório de TB.

Este guia resume os requisitos mínimos para o uso desse equipamento nos diferentes níveis de biossegurança em laboratórios de TB.

Protectores respiratórios

Geralmente, não são necessários para o trabalho em laboratórios de TB, mas o seu uso depende das avaliações dos riscos que possam ter sido realizadas a nível local ou nacional. Essas avaliações podem recomendar o seu uso em laboratórios que manipulem culturas ou realizem testes de sensibilidade dentro de um laboratório de contenção. Estes dispositivos não devem ser considerados substitutos para o trabalho realizado dentro de uma CSB.

Luvas

As luvas devem ser usadas quando são manuseadas amostras potencialmente infecciosas ou na manipulação de culturas que contenham bacilos da tuberculose.

EPP	Baixo risco de TB	Risco médio de TB	Risco alto de TB (laboratório de contenção)
Protectores respiratórios	Não obrigatório	Não obrigatório	Pode ser necessário de acordo com uma avaliação de risco
Máscaras cirúrgicas	Não oferecem protecção ao utilizador contra inalação de aerossóis infecciosos e não devem, portanto, ser usadas como protecção respiratória.		
Luvas	Exigido	Exigido	Exigido

8. Planos de preparação e resposta a emergências

Um plano escrito de resposta a emergências relacionadas com incidentes e acidentes em laboratório é uma necessidade em qualquer serviço que trabalhe com ou armazene isolados de *M. tuberculosis*.

8.1 Plano de preparação para emergências

O plano deve oferecer procedimentos operacionais para:

- respostas a desastres naturais como incêndios, cheias, sismos ou explosões
- avaliação de risco biológico associada a qualquer procedimento novo ou revisto
- gerir exposições e descontaminação
- evacuação de emergência das pessoas presentes nas dependências
- tratamento médico de urgência a pessoas expostas e feridas
- vigilância médica de pessoas expostas a um incidente
- tratamento clínico das pessoas expostas a um incidente
- investigação epidemiológica
- continuação das operações depois de um incidente.

Durante a elaboração desse plano, deve prever-se a inclusão dos seguintes itens:

1. localização de áreas de alto risco, como por exemplo, laboratórios, áreas de armazenamento, etc.
2. identificação de pessoal e populações em risco
3. identificação de procedimentos de acordo com o nível de risco
4. identificação do pessoal responsável e

suas obrigações, como por exemplo, o responsável pela biossegurança, a equipa de segurança biológica, autoridade sanitária local, médicos, microbiologistas, veterinários, epidemiologistas e serviços de polícia e de bombeiros

5. instituições para tratamento e seguimento que possam receber pessoas expostas ou infectadas
6. transporte de pessoas expostas ou infectadas
7. o modo como serão fornecidos os equipamentos de emergência, tais como vestuário de protecção, desinfetantes, kits para derramamentos químicos e biológicos, equipamento de descontaminação e suprimentos.

8.2 Medidas de emergência para laboratórios de TB

8.2.1 Derrame de material infeccioso (fora da câmara de segurança biológica)

O derrame de material infeccioso fora da CSB é considerado uma ocorrência grave. Os derrames de líquidos infecciosos geram aerossóis infecciosos. Todas as pessoas devem sair imediatamente da área afectada. O supervisor do laboratório deve ser informado do incidente imediatamente e ninguém deve entrar na sala durante, pelo menos, 1 hora, para permitir que os aerossóis sejam removidos através do sistema de ventilação do laboratório e haver tempo para que partículas mais pesadas assentem.

Devem colocar-se avisos indicando que a entrada é proibida durante o procedimento de limpeza. DEVE usar-se vestuário de protecção e protectores respiratórios.

Devem ser seguidos os seguintes procedimentos de limpeza do derrame:

1. Colocar luvas, vestuário de protecção e protetor respiratório.
2. Entrar na área afectada.
3. Cobrir o derramamento com um pano ou toalhas de papel para contê-lo.
4. Colocar um desinfectante apropriado sobre toalhas de papel e sobre a área vizinha (geralmente, a solução de hipoclorito de sódio a 5% é adequada).
5. Aplicar o desinfectante de forma concêntrica, começando pela margem externa da área do derramamento e avançando para o centro.
6. Deixar o tempo suficiente o desinfectante actuar, antes de limpar e de retirar os materiais para descarte. Se houver vidro quebrado ou quaisquer outros objetos cortantes, usar uma pá ou pedaço de papelão duro, para recolher o material e depois depositá-lo dentro de um recipiente resistente para ser descartado.
7. Colocar outros materiais contaminados num saco de lixo autoclavável para descarte.
8. Limpar e desinfetar a área do derramamento.

Todas as pessoas que tenham sido expostas ao derrame devem ser encaminhadas para um médico; deve ser feito e mantido um registo do acidente.

8.2.2 *Derrames infecciosos (contidos dentro de uma câmara de segurança biológica)*

Quando ocorre um derrame de material infeccioso dentro de uma CSB, deve iniciar-se imediatamente um procedimento de limpeza e a câmara deve continuar a funcionar.

1. Colocar um papel absorvente sobre a área do derrame e embeber com solução desinfectante.

2. Se paredes da CSB tiverem salpicos, limpar com papel absorvente embebido em solução desinfectante.
3. Deixar a área afectada coberta com desinfectante durante 30 minutos a 1 hora.
4. Recolher cuidadosamente o material cortante e colocá-lo num recipiente resistente a perfurações, para ser descartado.
5. Quaisquer equipamentos ou materiais reutilizáveis (copos de centrifugadora) que tenham sido salpicados devem ser limpos com o mesmo desinfectante.
6. Os equipamentos eléctricos devem ser verificados cuidadosamente antes de usados; verificar a integridade dos circuitos e interruptores.
7. Recolher outros materiais contaminados e colocá-los num saco de lixo selado para descarte.

8.2.3 *Quebra de tubos dentro de copos selados (copos de segurança)*

Usar sempre copos de centrifugadoras selados, e carregue-os e descarregue-os dentro da CSB. Se houver suspeita de quebra durante a centrifugação, os tubos quebrados devem ser colocados num recipiente resistente a perfurações e descartados imediatamente.

Descontaminar as copos da centrifugadora embebendo-os em desinfectante adequado. Não usar hipoclorito de sódio para desinfetar partes metálicas por causa de seu efeito corrosivo. Como alternativa, as copos podem ser descontaminadas em autoclave.

8.3 Kit para limpeza de derrames

O director do laboratório é responsável por manter kits para resposta a derrames. Devem ser preparados dois kits para derrames: um colocado fora do laboratório de contenção e outro colocado dentro do laboratório. Os kits devem incluir os itens listados abaixo.

Kit para resposta a derrame:

- Solução de hipoclorito mantida em frasco opaco^a (ou outro desinfectante adequado)
- Protectores respiratórios (1 box)
- Luvas (1 box)
- Batas de laboratório (4 a 6 batas descartáveis)
- Pá e escova (para remoção, se necessário)
- Pastilhas de cloro (10 pastilhas)

- Toalhas de papel
 - Sabão
 - Box para material cortante
 - Saco de lixo autoclavável
 - Óculos de protecção (2 pares)
- ^a O hipoclorito em solução tem validade limitada. Para um derrame grande, é preferível preparar a solução desinfectante no momento da limpeza.

9. Referências

1. WHO handbook for guideline development. Geneva: World Health Organization, 2012.
2. Laboratory biosafety manual, 3rd edition. Geneva: World Health Organization, 2004 (WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11). (Also available from <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/en/Biosafety7.pdf>.)
3. Laboratory biorisk management standard: CEN workshop agreement. Brussels, European Committee for Standardization, 2008 (CWA 15793:2008). (Also available from <ftp://ftp.cenorm.be/public/CWAs/wokrshop31/CWA15793.pdf>.)
4. Styblo K. *Epidemiology of tuberculosis*. The Hague, Royal Netherlands Tuberculosis Association, 1991.
5. Olsen AM et al. Infectiousness of tuberculosis. *American Review of Respiratory Disease*, 1967, 96:836–870.
6. Qian Y et al. Performance of N95 respirators: reaerosolization of bacteria and solid particles. *AIHA Journal*, 1997, 58:876–880.
7. Segal-Maurer S, Kalkut GE. Environmental control of tuberculosis: continuing controversy. *Clinical Infectious Diseases*, 1994, 19:299–308.
8. Miller JM et al. Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories: recommendations of a CDC-convened, biosafety blue ribbon panel. *MMWR Surveillance Summaries*, 2012, 61(Suppl.):1-102.
9. Rieder L et al. *Priorities for tuberculosis bacteriology services in low-income countries*, 2nd ed. Paris, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. 2007.
10. Kim SJ et al. Risk of occupational tuberculosis in national tuberculosis programme laboratories in Korea. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2007, 11:138–142.
11. *Laboratory services in tuberculosis control. Part II: microscopy*. Geneva, World Health Organization, 2008 (WHO/TB/98.258).
12. *Acid-fast direct smear microscopy training package*. Atlanta, GA, Centers for Disease Control and Prevention, 2006 (<http://wwwn.cdc.gov/dls/ila/acidfasttraining>, accessed 12 October 2012).
13. *Five steps to risk assessment*. London, Health and Safety Executive, 2011. (Also available from <http://www.hse.gov.uk/risk/expert.htm>.)
14. Collins HC. *Laboratory-acquired infections*, 2nd ed. London, Butterworth, 1988.
15. Rieder HL et al. *The public health service national tuberculosis reference laboratory and the national laboratory network: minimum requirements, role and operation in a low-income country*. Paris, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 1998.
16. *Tuberculosis infection-control in the era of expanding VIH care and treatment: addendum to*

WHO guidelines for the prevention of tuberculosis in health care facilities in resource-limited settings. Geneva, World Health Organization, 1999 (Also available from http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/WHO_TB_99.269_ADD_eng.pdf.)

17. *Ventilated workstation manual for AFB smear microscopy: manufacturing, validation and user guide.* Silver Spring, MD, Association of Public Health Laboratories, 2011 (http://www.aphl.org/aphlprograms/global/Documents/GH_2011July_VentilatedWorkstationGuidance.pdf, accessed 12 October 2012).
18. Standards Australia International. AS/NZS2252.1:1994, *Biological safety câmarats – biological safety câmarats (Class I) for personal and environment protection.* Sydney, Standards Australia International, 1994.
19. Standards Australia International. AS/NZS 2252.2:1994, *Biological safety câmarats – laminar flow biological safety câmarats (Class II) for personnel, environment and product protection,* Sydney, Standards Australia International, 1994.
20. NSF/ANSI 49 – 2008. *Biosafety câmaraty: design, construction, performance, and field certification.* Ann Arbor, MI, NSF International, 2008.(Also available from http://standards.nsf.org/apps/group_public/download.php/3604/NSF_49-08e-rep-watermarked.pdf.)
21. *BS EN 12469:2000. Biotechnology: Performance criteria for microbiological safety câmarats.* London, British Standards Institution, 2000.

Anexo 1: Participantes no encontro

Grupo de Peritos

Jenny Allen

Medical Research Council
491 Ridge Road, Durban 4000
South Africa

Heather Alexander

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Daniela Cirillo

Emerging Bacterial Pathogens Unit
San Raffaele del Monte Tabor Foundation (HSR)
Via Olgettina 60
20132- Milan
Italy

Philippe Dubois

Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence
Institut Pasteur
25 rue du Docteur Roux
75015 Paris
France

Jean Joly

Centre de Santé et de Services Sociaux de la
Haute-Yamaska
250 boulevard Leclerc Oeust
Granby, QC J2G 1T7
Canada

Scott Kreitlein

CUH2A
120 Peachtree Street, NE
Atlanta, GA 30303
United States of America

Knut Feldmann

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

Christopher Gilpin

International Organization for Migration
Route de Morillons
Geneva 1211
Switzerland

Sang Jae Kim

International Union Against Tuberculosis and Lung
Disease (IUATLD)
101-703 Unjeongmaul, 621 Mabukri
Guseongup, Yongsin
449-560- Kyeonggido
Republic of Korea

Moses Joloba

National TB Reference Laboratory
Ministry of Health
16041, Plot 2 Lourdel Road
7062 - Wandegeya
Uganda

Paul Jensen

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MSG35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Shana Nesby

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

CN Paramasivan

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

John Ridderhof

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Thomas M Shinnick

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Peter van't Erve

Particle Measurement and Validation (PMV)
Kuipersweg 37
3446 JA Woerden
The Netherlands

Funcionários da Sede da OMS

May Chu, International Health Regulations
Sébastien Cognat, International Health
Regulations

Nicoletta Previsani, International Health
Regulations

Jean Iragena, Stop TB Unit for Laboratory
Strengthening

Veronique Vincent, Stop TB Unit for Laboratory
Strengthening

Karin Weyer, Stop TB Unit for Laboratory
Strengthening

**Programa Especial da OMS para Investigação
e Formação em Doenças Tropicais WHO (TDR)**

Andy Ramsay

Anexo 2: Declarações de Interesse

Nenhum declarado

John Ridderhof
Thomas M Shinnick
Knut Feldmann
CN Paramasivan
Daniela Cirillo
Sang Jae Kim
Christopher Gilpin
Moses Joloba
Shanna Nesby
Jenny Allen
Philippe Dubois

Declarado, não significativo (estatuto de observador)

Jean Joly: Consultant for WHO Special Programme in Research and Training in Tropical Diseases (TDR) on syphilis in 2007.

Paul Jensen: Employee of United States Centers for Disease Control and Prevention since 1987. Biosafety is a core function of his CDC role and he has published on the subject. He has never received financial or in-kind support from commercial entities involved in biosafety.

Declarado, significativo (estatuto de observador)

Peter van't Erve: Employee Particle Measurement and Validation since 1989. This is a validation company for cleanrooms, laboratories, biosafety cabinets and laminar flow cabins.

Scott Kreitlein: Employee at CUH2A since 2001. This is a laboratory architectural and engineering firm. Mr Kreitlein declared his involvement in the establishment of guidelines on biosafety.

Anexo 3: Pannel de revisão por pares

Heather Alexander

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Pawan Angra

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Daniela Cirillo

Emerging Bacterial Pathogens Unit
San Raffaele del Monte Tabor Foundation (HSR),
Via Olgettina 60
20132- Milan
Italy

Gerrit Coetzee

National Tuberculosis Reference Laboratory
National Health Laboratory Service
P.O. Box 1038
Cnr Hospital De Karte Street
Braamfontein 2000 Johannesburg
South Africa

Edward Desmond

Mycobacteriology and Mycology Section
Microbial Diseases Laboratory
California Dept. of Public Health
850 Marina Bay Parkway
Richmond, CA 94804
United States of America

Sara Irène Eyangoh

Chargé de recherche
Chef de service de Mycobactériologie
LNR du PNLT
Centre Pasteur du Cameroun
BP 1274 Yaoundé
Cameroon

Knut Feldmann

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

Rumina Hasan

Department of Pathology and Microbiology
Aga Khan University
Stadium Road
P.O. Box 3500
Karachi, 748000
Pakistan

Moses Joloba

National TB Reference Laboratory
Ministry of Health
16041, Plot 2 Lourdel Road
7062 - Wandegeya
Uganda

Satoshi Mitarai

Research Institute of Tuberculosis
3-1-24 Matsuyama
Kiyose-Shi
204-8533 Tokyo
Japan

Rick O'Brien

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

Daniel Orozco

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

CN Paramasivan

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

Leen Rigouts

Institute of Tropical Medicine
Nationalestraat 155
B-2000 Antwerp
Belgium

Thomas M Shinnick

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Akos Somoskovi

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

Maria Alice da Silva Telles

TB National Reference Laboratory
Centro de Referência Prof. Hélio Fraga
Estrada de Curicica no. 2000
Jacarepaguá
RJ 22780-192 Rio de Janeiro
Brazil

Elsie Van Schalkwyk

African Centre for Integrated Laboratory Training
(ACILT)
National Health Laboratory Service
National Institute for Communicable Diseases
1 Modderfontein Rd
Private Bag X8
Sandringham 2131
Johannesburg
South Africa

Funcionários da Sede da OMS

Nicoletta Previsani,

International Health Regulations
Magdi Samaan, International Health Regulations
Jean Iragena,
Stop TB Unit for Laboratory Strengthening

Fuad Mirzayev,
Stop TB Unit for Laboratory Strengthening

Wayne van Gemert,
Stop TB Unit for Laboratory Strengthening

Christopher Gilpin,
Stop TB Unit for Laboratory Strengthening



Organização
Mundial da Saúde

Global TB Programme

World Health Organization
20 Avenue Appia, 1211-Geneva-27, Switzerland

Information Resource Centre HTM/GTB:

Email: tbdocs@who.int

Website: www.who.int/tb



ISBN 978 92 4 850463 1



9 789248 504631

