

TUBERCULOSE TRABALHAR EM SEGURANÇA

segurança no laboratório

O manual Edição global

Uma publicação do grupo de trabalho da Global
Laboratory Initiative da parceria Stop TB



Publicado por

Secretaria do grupo de trabalho da GLI
Programa Global contra a Tuberculose
Organização Mundial de Saúde
Genebra, Suíça
<http://www.stoptb.org/wg/gli/>

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte deste livro pode ser reproduzida ou transmitida de nenhuma forma ou por quaisquer meios sem o consentimento escrito da editora.

Os autores reclamam os seus direitos morais sobre o trabalho.

ISBN: 978-0-6486845-1-0 (PDF)
ISBN: 978-0-6486845-0-3 (versão impressa)

Produção

Editor do projeto
Mark Fitz-Gerald

Editores técnicos
Richard Lumb (Consultor Laboratorial Independente)
Lisa Shephard e Ivan Bastian (SA Pathology)
Lice Gonzalez Angulo e Chris Gilpin (OMS)

Editores do manuscrito
Mark Fitz-Gerald, Richard Lumb

Ilustrações
Kerry Reid

Design
Sue Dyer Design

Contacto

gli_secretariat@who.int
© 2019 Global Laboratory Initiative

TUBERCULOSE TRABALHAR EM SEGURANÇA

segurança no laboratório

Richard Lumb
Lisa Shephard
Ivan Bastian
Mark Fitz-Gerald

O manual
Edição global

	PÁGINA
Agradecimentos	3
Prefácio	4
Introdução	5
Abreviaturas	6
Glossário	7
Símbolos e advertências	8

Capítulos

1 Práticas de trabalho seguras	11
2 Infraestrutura e configuração do laboratório	17
3 Equipamento de proteção individual	41
4 Utilização da cabine de segurança biológica	59
5 Formação de aerossóis e sua prevenção	77
6 Causas da contaminação e sua prevenção	85
7 Recipientes e reagentes	103
8 Utilização segura dos equipamentos	111
9 Gestão dos resíduos laboratoriais	131
10 Controlo de derrames infecciosos	141

Anexos

1 Escarradores	154
2 Colheita de escarro	156
3 Rastreamento de amostras	157
4 Desinfetantes e sua utilização	162
5 Lavagem das mãos	166
6 Referências bibliográficas	167

O manual de Segurança em Laboratório foi redigido pelo grupo principal da Global Laboratory Initiative (GLI). A GLI é um grupo de trabalho da Parceria Stop TB. A redação foi dirigida por Richard Lumb (Consultor Laboratorial Independente), Ivan Bastian e Lisa Shephard (Adelaide-Supranational Reference Laboratory (SRL)), e Mark Fitz-Gerald (SA Pathology).

Pelas inestimáveis análises críticas das versões provisórias, a equipa de redação gostaria de agradecer aos atuais e antigos membros do grupo principal da GLI seguidamente nomeados, bem como à Secretaria da GLI da OMS: Maka Akhalaia, Heidi Albert, Heather Alexander, Uladzimir Antonenka, Martina Casenghi, Petra de Haas, Kathleen England, Lucilaine Ferrazoli, Marguerite Massinga Loembe, Alaine Umubyeyi Nyaruhirira, Daniel Orozco, Kaiser Shen, Thomas Shinnick, Alena Skrahina, Khairunisa Suleiman, Sabira Tahseen, Elisa Tagliani, Abiola Olajumoke Tubi, e Hung Van Nguyen. Lucilaine Ferrazoli e Marguerite Massinga Loembe procederam à revisão da versão final do documento em nome do grupo principal da GLI.

Uma palavra de reconhecimento vai também para o enorme profissionalismo do ilustrador Kerry Reid e da Sue Dyer Design manifestado desde há muito no apoio e nos contributos para os materiais educativos desenvolvidos para o diagnóstico laboratorial da TB e revelado, sobretudo, no entusiasmo e empenho votados ao manual de Segurança em Laboratório.

Especialmente reconhecidos, e a quem muito agradecemos, são Lice González-Angulo, Alexei Korobitsyn e Chris Gilpin (Sede da Organização Mundial de Saúde (OMS)), Heidi Albert (FIND), Heather Alexander (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos) e Cornelia Hennig (reformada, anteriormente integrando o Gabinete Regional para o Pacífico Ocidental) pelo seu entusiástico apoio no desenvolvimento do manual de Segurança em Laboratório.

O desenvolvimento e a publicação deste documento foram possíveis com o apoio financeiro de:

Agência dos Estados Unidos para o Desenvolvimento Internacional (USAID)

Australian Respiratory Council (ARC), em colaboração com o Dr. Ral Antic (Presidente) e a Comissão Executiva d'A União da Região Ásia Pacífico.

- Aos membros do Conselho, sobretudo a Amanda Christensen (Diretora Executiva)

Departamento de Investigação em Medicina Torácica do Royal Adelaide Hospital.

- Ao Professor Paul Reynolds, chefe do Departamento de Investigação em Medicina Torácica no Royal Adelaide Hospital, e ao Dr. Richard Stapledon (Consultor Médico)

Os conteúdos deste manual de Segurança em Laboratório são da responsabilidade dos redatores, não refletindo necessariamente as perspetivas da USAID, da ARC ou do Departamento de Investigação em Medicina Torácica do Royal Adelaide Hospital.

Estima-se que aproximadamente 1,7 mil milhões de pessoas (23 %) em todo o mundo têm uma infeção latente por TB, estando, por isso, em risco de desenvolver TB ativa ao longo da vida. A TB é uma das 10 causas de morte mais frequentes e a principal causa de morte devida a um único agente infeccioso. Globalmente, cerca de 10 milhões de pessoas desenvolveram TB ativa em 2017, em todos os países e faixas etárias.

A TB resistente a medicamentos continua a constituir uma crise de saúde pública. Em 2017, estima-se que 3,5 % dos novos casos e 18 % dos casos previamente tratados foram de TB multirresistente (TB-MDR) ou TB resistente à rifampicina (TB-RR). A OMS estimou que houve 558 000 casos incidentes de TB-RR. Entre os casos de TB-RR, estima-se que 82 % eram afetados por TB-MDR.

O lançamento de novas ferramentas de diagnóstico molecular (ensaios de sonda em linha e GeneXpert) permite atualmente a identificação rápida de pessoas com TB ativa e, concomitantemente, da resistência à rifampicina, um indicador-chave da TB-MDR. Os exames culturais e os testes de suscetibilidade antimicobiana (TSA) são necessários sobretudo para doentes em risco de ter TB resistente a medicamentos e para monitorizar a sua resposta ao tratamento.

Embora a cultura e os TSA estejam cada vez mais acessíveis, a infraestrutura laboratorial para albergar exames culturais e TSA é mais complexa, requerendo equipamentos mais especializados e onerosos. É vital dispor de um elevado nível de competência técnica para assegurar que o pessoal de laboratório trabalha de forma correta e segura.

Atualmente, a realidade destes laboratórios é a de uma carga de trabalho crescente proveniente de doentes com TB-MDR/RR. É por isso mais importante que nunca trabalhar com segurança a fim de proteger cada indivíduo, os seus colegas e a comunidade em geral.

Infelizmente, muitos laboratórios carecem de formação adequada nas práticas de trabalho seguras.

O manual de Segurança em Laboratório é um guia prático para o pessoal de laboratório, que se baseia em décadas de experiência no trabalho em laboratórios de exames culturais e TSA e em documentos sobre as boas práticas emitidos pela OMS, a Global Laboratory Initiative e a União. O manual emprega uma linguagem simples e ilustrações claras para ajudar o pessoal de laboratório a compreender as questões de segurança importantes que estão envolvidas na realização de exames culturais e TSA.

O manual de Segurança no Laboratório deve ser usado juntamente com o *Manual de biossegurança para laboratórios de tuberculose*.

O objetivo deste manual é ensinar o pessoal num laboratório de exames culturais de TB e/ou TSA a trabalhar em segurança, a fim de reduzir o risco de infecção ou lesão para o próprio, para os colegas e para a comunidade.

Princípios gerais

A biossegurança tem três componentes principais, todas elas necessárias para manusear bacilos da TB de forma segura:

1 Primária

Práticas de trabalho seguras para minimizar a formação de aerossóis infecciosos e evitar derrames. Equipamentos adequados para a finalidade, corretamente utilizados e mantidos.

2 Secundária

Infraestrutura e configuração favoráveis às atividades da componente primária.

3 Terciária

Edifícios para albergar o laboratório e as respetivas atividades.

Trabalhar em segurança

O equipamento de Proteção Individual (EPI), os equipamentos adequados à finalidade e uma boa gestão dos resíduos infecciosos complementam uma boa técnica assética, porém, não a substituem.

Estes cuidados ajudam a conter a formação de aerossóis, mas podem não prevenir a formação de aerossóis que resultem de práticas de trabalho inseguras.

Aerossóis e contaminação cruzada

Uma boa técnica acética para reduzir a formação de aerossóis é a sua melhor proteção.

O maior risco de infecção por TB no laboratório está associado à inalação de aerossóis gerados em procedimentos laboratoriais. Por conseguinte, minimizar a sua produção é provavelmente a forma mais eficaz de se manter seguro. Os aerossóis devem ser considerados potencialmente infecciosos.

São menos de 20 % as infeções ocorridas num laboratório em que é possível identificar o acidente que as provocou. As restantes não têm uma causa identificável. Porém, a mais provável é a formação de aerossóis.

Uma vez depositados numa superfície, os aerossóis não voltam a aerossolizar. Contudo, podem contaminar amostras ou culturas, consumíveis, reagentes, equipamentos ou EPI, criando um risco de contaminação cruzada.

Proteger o doente

Os resultados laboratoriais irão ter um profundo impacto no doente. Minimizar a formação de aerossóis e a contaminação cruzada irá diminuir o risco de o doente receber um falso resultado positivo.

Ser incorretamente diagnosticado com TB ou TB resistente a medicamentos pode ser catastrófico para o doente e para a sua família.

ABREVIATURAS

Abreviatura

ADN

Ácido Desoxirribonucleico

BAAR

Bacilos Álcool-Ácido resistentes

CSB

Cabine de Segurança Biológica

Ensaio Xpert MTB/RIF

Ensaio molecular de diagnóstico

EPI

Equipamento de Proteção Individual

FCR

Força Centrífuga Relativa (equivalente a xg)

GLI

Global Laboratory Initiative

HEPA

Alta Eficiência para Partículas de Ar

INH (H)

Isoniazida

LNR

Laboratório Nacional de Referência para a TB

LPA

Ensaio de Sonda em Linha
(ensaio molecular de diagnóstico)

LSR

Laboratório Supranacional de Referência
para a TB

MGIT960

Sistema de cultura líquida semiautomático

µm

Micrómetro

µl

Micro litro

ml

Mililitro

MPT64

Teste rápido para identificar
a *Mycobacterium tuberculosis*

MPTB-MDR

Manuseio Programático da Tuberculose
Resistente a Medicamentos

MTB

Mycobacterium tuberculosis

MTBC

Complexo *Mycobacterium tuberculosis*

NRL

Número de Registo do Laboratório

NTM

Micobactérias não tuberculosas

OMS

Organização Mundial de Saúde

p/p

Peso por Peso

PBS

Tampão Fosfato Salino

RAH

Renovações de Ar (da sala) por Hora

RIF (R)

Rifampicina

RPM

Rotações Por Minuto

TB

Tuberculose

TB-MDR

TB Multirresistente

TB-RR

TB Resistente à Rifampicina

TB-XDR

TB Extremamente Resistente
a Medicamentos

TR

Tempo de Resposta

TSA

Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos

UPS

Fonte de Alimentação Ininterrupta

USAID

Agência dos Estados Unidos para
o Desenvolvimento Internacional

UV

Luz Ultravioleta

v/v

Volume por Volume

VRR

Valor do Risco Relativo

GLOSSÁRIO

Termo	Definição
Aerossol (infeccioso)	Suspensão de partículas (de um agente infeccioso) que pode ser potencialmente inalada e causar infeções
Antecâmara	Ver eclusa
Carga bacilar	Número de bacilos da tuberculose/unidade de volume do meio sólido ou líquido em manuseio
Contaminação cruzada	Evento não planeado que transfere material de uma amostra/cultura/reagente para outra amostra/cultura/reagente
Coordenador do laboratório	Este cargo detém a responsabilidade máxima pelo funcionamento, operação e desempenho de todo o laboratório
Eclusa	Um espaço pequeno que separa a área do laboratório de um corredor ou outro espaço (equivalente a uma antecâmara)
Frasco McCartney	Recipiente de vidro transparente reutilizável (≈ 30 ml em volume) com tampa roscada e uma cobertura de metal ou borracha, com invólucro de borracha, usado para meios sólidos
“Limpo(a)”	Área ou material menos propenso(a) a ter ou a ser contaminado(a) com os bacilos da TB ou outros agentes infecciosos
Pessoal	Pessoas de todas as qualificações e géneros que desenvolvem atividade num laboratório de exames culturais de TB/TSA
Procedimentos geradores de aerossóis	Procedimentos que aumentam o risco devido à sua força mecânica
Rastreamento de amostras	Procedimento laboratorial que garante a correspondência exata entre os resultados e os respetivos doentes
Respirador	Respirador do tipo FFP2 ou N95
Risco	Combinação da probabilidade e das consequências de um incidente devido a um (ou mais) perigo(s) específico(s)
Risco baixo	Risco de formar aerossóis infecciosos a partir de amostras; baixa concentração de partículas infecciosas
Risco elevado	Risco de formar aerossóis infecciosos durante o manuseio de culturas; elevada concentração de partículas infecciosas
Risco moderado	Risco de formar aerossóis infecciosos a partir de amostras; baixa concentração de partículas infecciosas
“Sujo(a)”	Área ou material mais propenso(a) a ter ou a ser contaminado(a) com bacilos da TB ou outros agentes infecciosos
Supervisor	Este cargo detém a responsabilidade pelo funcionamento, operação e desempenho diários de uma ou mais secções de um laboratório de TB
Vestíbulo	Área exterior do laboratório, adjacente à entrada da antecâmara. Pode ou não ligar o espaço público à antecâmara

SÍMBOLOS E ADVERTÊNCIAS



Aviso

O não cumprimento destas instruções pode ser nocivo para a saúde ou causar danos imediatos no equipamento



Aviso

O não cumprimento destas instruções pode comprometer os resultados dos testes ou danificar o equipamento com o tempo



Correto

A melhor forma de fazer algo



Não faça isto



Vista uma bata de proteção para este procedimento



Use luvas para este procedimento



É obrigatório usar sempre sapatos fechados no laboratório



Use óculos para este procedimento



Lave as mãos



Esta substância é corrosiva



Esta substância é inflamável



Esta substância é tóxica

CAPÍTULOS

	PÁGINA
1 Práticas de trabalho seguras	11
2 Infraestrutura e configuração do laboratório	17
3 Equipamento de proteção individual	41
4 Utilização da cabine de segurança biológica	59
5 Formação de aerossóis e sua prevenção	77
6 Causas da contaminação e sua prevenção	85
7 Recipientes e reagentes	103
8 Utilização segura dos equipamentos	111
9 Gestão dos resíduos laboratoriais	131
10 Controlo de derrames infecciosos	141

1

PRÁTICAS DE TRABALHO SEGURAS

Os laboratórios apresentam diversos perigos para o pessoal, porém, nem todos são óbvios. As práticas de trabalho seguras foram concebidas para

- Reduzir o risco de infecção ou danos para si, para os seus colegas e para a comunidade
- Proteger o doente de resultados incorretos

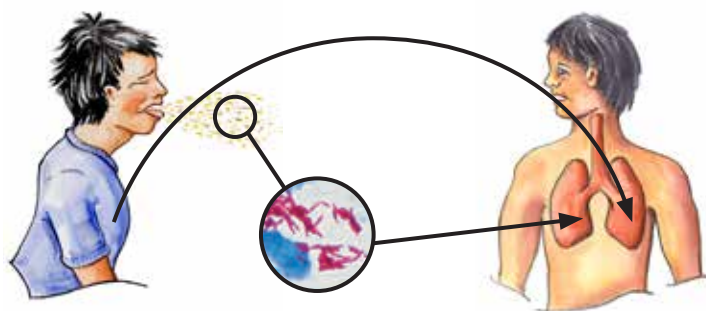
São menos de 20 % as infecções ocorridas num laboratório em que é possível identificar o acidente que as provocou. As restantes não têm uma causa identificável. Porém, a mais provável é a formação de aerossóis.

Este capítulo apresenta os conceitos e as definições que serão usados ao longo do manual.

	PÁGINA
Como ocorre a infecção	12
Pilares da biossegurança	13
Definições	13
Risco de infecção por TB e atividade laboral	15
Resumo	16

Como ocorre a infeção

A TB é uma doença infecciosa. A transmissão ocorre quando pequenos aerossóis contendo bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) ficam suspensos no ar e são inalados. Se uma pessoa com TB pulmonar tossir, espirrar, cantar ou expirar vigorosamente, produz aerossóis potencialmente infecciosos.

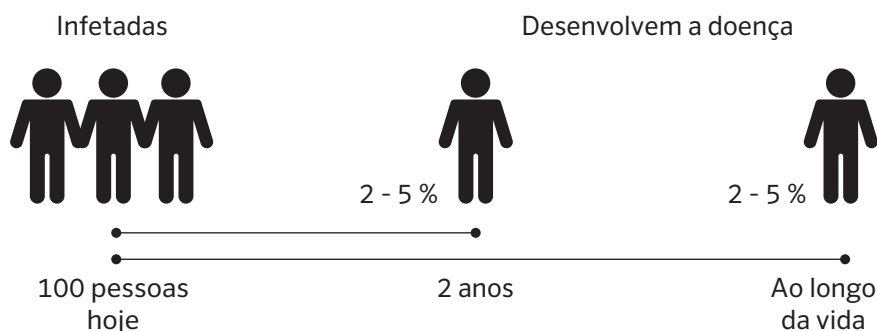


Tuberculose (TB)

História natural da infeção por TB

Se 100 pessoas saudáveis fossem infetadas com TB hoje, a progressão natural da doença poderia ocorrer de duas formas

- 2 - 5 % desenvolveriam TB no período de 2 anos
- outros 2 - 5 % desenvolveriam TB ao longo da vida



As pessoas imunocomprometidas correm um risco muito maior de que a infeção progrida para doença. Os fatores de risco incluem (mas não se limitam a) coinfeção por VIH, diabetes, quimioterapia, malnutrição, tabagismo e doença crónica.

Um técnico de laboratório que seja imunocomprometido corre maior risco de que a infeção por TB progrida para doença. Antes de trabalhar num laboratório de exames culturais de TB/TSA, é necessário obter uma autorização médica.

Uns meros 10 BAAR são suficientes para provocar uma infeção. Trabalhar com grandes quantidades de BAAR e realizar procedimentos geradores de aerossóis aumenta significativamente o risco de infeção por TB.

Pilares da biossegurança

A biossegurança tem três componentes principais, todas elas necessárias para manusear bacilos da TB de forma segura.

1 Primária

Práticas de trabalho seguras que minimizem os derrames e a formação de aerossóis infecciosos. Equipamentos adequados para a finalidade, corretamente utilizados e mantidos.

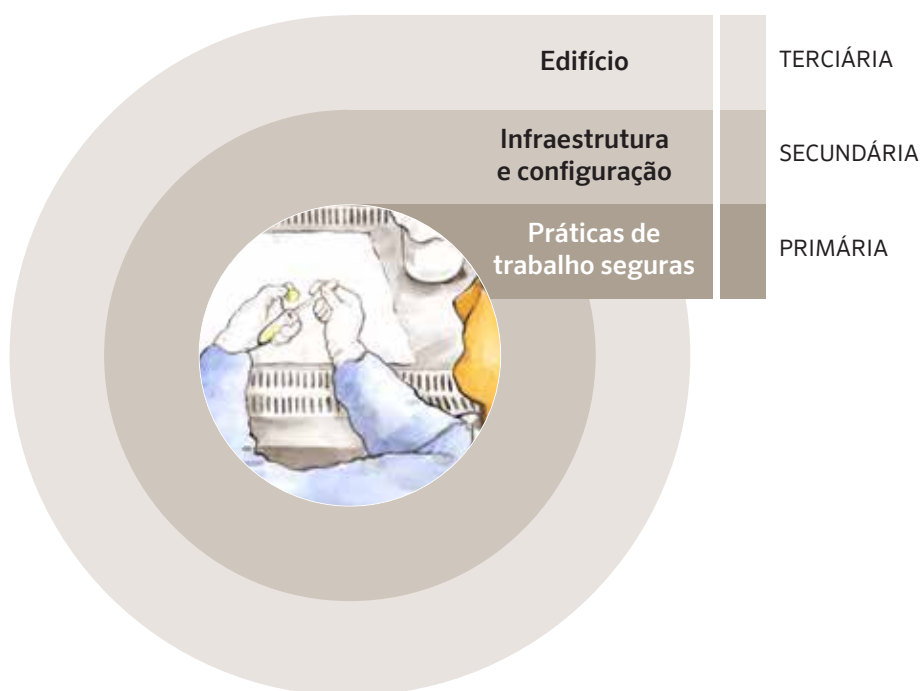
2 Secundária

Infraestrutura e configuração favoráveis às atividades da componente primária.

3 Terciária

Edifícios para albergar o laboratório e as respectivas atividades.

É necessária a combinação dos três para um manuseio seguro dos bacilos da TB. Contudo, é fundamental adotar práticas de trabalho seguras.



Definições

Aerossol

Gotículas suspensas contendo agentes infecciosos suscetíveis de

- Serem inaladas e provocarem uma infecção
- Contaminarem consumíveis, reagentes e equipamentos

Núcleos de gotículas

- Resíduos secos de aerossóis <5 µm em diâmetro
- Capazes de flutuar no ar durante um longo período
- Suficientemente pequenas e leves para penetrarem profundamente nos pulmões

Atividades geradoras de aerossóis

- Atividades que aumentam o risco de formação de aerossóis devido a forças mecânicas
- Os aerossóis são produzidos mais facilmente a partir de fluidos menos viscosos
 - O escarro é geralmente viscoso e mais dificilmente formará aerossóis
 - As culturas líquidas são fluidas, formando aerossóis com mais facilidade
- Alguns exemplos são: uso do vortex, agitação, centrifugação, mistura ou pipetagem

Carga bacilar

A carga bacilar corresponde ao número de BAAR numa amostra ou cultura, sendo tipicamente classificada como variável, baixa, média ou alta.

Volumes muito pequenos de culturas com baciloscopia positiva podem conter um grande número de BAAR.

Contaminação cruzada

Qualquer evento não planeado que transfira BAAR de um elemento para outro.

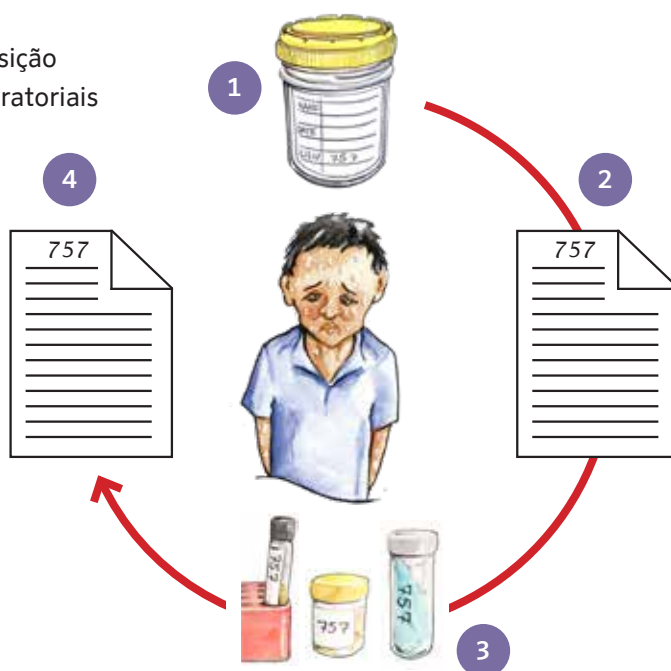
Por exemplo

- Transferência de BAAR de uma amostra ou cultura para um reagente
- Transferência de aerossóis de uma amostra ou cultura com forte positividade para outra
- Transferência de BAAR para um telemóvel através de luvas contaminadas

Rastreamento de amostras

Procedimento que garante a correspondência entre os resultados do laboratório e o respetivo doente. O rastreamento de amostras evita que os doentes recebam resultados falsos.

- 1 Amostra
- 2 Formulário de requisição
- 3 Procedimentos laboratoriais
- 4 Resultados



É necessário efetuar o rastreamento de amostras em todas as etapas, desde a colheita da amostra à comunicação dos resultados

Risco de infecção por TB e atividade laboral

Um estudo retrospectivo efetuado na Coreia do Sul forneceu provas concretas da relação que existe entre a atividade laboral e o risco de desenvolver TB. O pessoal administrativo sem contacto direto com o laboratório foi comparado com o pessoal do laboratório que efetua microscopia, culturas, culturas/TSA e TSA.

O pessoal administrativo tinha um valor do risco relativo (VRR) semelhante ao da comunidade geral, ou seja, um VRR de 1,0. Devido ao número relativamente restrito de pessoas por atividade, os intervalos de confiança são necessariamente largos.

Atividade	Valor do risco relativo	Intervalo de Confiança de 95 %
Administração	1,0	
Apenas microscopia	1,4	0,2 - 10,0
Apenas culturas	2,0	0,2 - 13,3
Combinação de culturas e TSA*	7,8	1,7 - 34,9
Apenas TSA	21,5	4,5 - 102,5

* Na maioria dos laboratórios, o pessoal que realiza culturas de TB também efetua TSA. Os laboratórios em que o pessoal efetua exclusivamente culturas ou TSA são os que têm grandes cargas de trabalho.

Algumas das principais conclusões são

- A microscopia de escarro é uma atividade de risco baixo; não são necessárias CSB em laboratórios que apenas realizem baciloscopia
- O tratamento de amostras para exames culturais de TB causa um aumento negligenciável do VRR
- O manuseio de culturas com baciloscopia positiva para TSA correspondeu aos VRR mais altos

Nem o GeneXpert nem o ensaio de sonda em linha (LPA) estiveram disponíveis durante o estudo. O *Manual de Biossegurança nos Laboratórios de Tuberculose* da OMS fornece orientações sobre os riscos relativos destas atividades.

Atividade	Valor do risco relativo	Objetivo
GeneXpert	$\leq 1,4$	Equivalente à baciloscopia do escarro. O tampão de lise reduz a viabilidade dos BAAR em 10^6 no espaço de 15 minutos.
LPA (em amostras)	$\leq 2,0$	Equivalente a cultura. Tratamento de amostras como para um exame cultural. A etapa de extração de ADN desativa os BAAR.
LPA (em cultura)	$\leq 21,5$	Pode ser tão alto como para um TSA. Requer manuseio de uma cultura com baciloscopia positiva. A etapa de extração de ADN desativa os BAAR.

Resumo

O maior risco de infecção por TB no laboratório está associado à inalação de aerossóis gerados em procedimentos laboratoriais. Minimizar a sua produção é, por conseguinte, a forma mais eficaz de se manter seguro.

2

INFRAESTRUTURA E CONFIGURAÇÃO DO LABORATÓRIO

A infraestrutura e configuração do laboratório é o segundo pilar da biossegurança.

Este capítulo tem por objetivo

- Definir o risco da atividade laboratorial
- Explicar como a conceção do laboratório pode minimizar o risco através de
 - Controlos técnicos
 - Alocação de atividades a determinadas áreas do laboratório
 - Localização dos equipamentos
- Apresentar tópicos de discussão entre os utilizadores do laboratório, os arquitetos, os engenheiros e os empreiteiros responsáveis pela conceção e pela construção do laboratório.

	PÁGINA
Atividade e risco	18
Infraestrutura — linhas orientadoras	19
Estrutura	21
Tópicos de engenharia e arquitetura	29
Modelo à escala	30
Manutenção da infraestrutura	31
Configuração do laboratório	32
Triangulação	35
Resumo	40

Na última década, o desenvolvimento das diretrizes de biossegurança evoluiu no sentido de alinhar o risco com a atividade.

Anteriormente, atribuía-se um organismo a um Grupo de Risco com base na sua virulência, transmissibilidade e disponibilidade de tratamentos. O nível de confinamento para um dado Grupo de Risco não tinha em conta os procedimentos efetuados nem os riscos inerentes.

O *Manual de Biossegurança nos Laboratórios de Tuberculose* da OMS (2012) incluiu uma abordagem de análise do risco que leva em consideração os procedimentos efetuados.

Uma configuração segura e eficiente complementa a infraestrutura do laboratório, separando as atividades de risco baixo (“limpas”) das de risco elevado (“sujas”) e otimizando a movimentação dentro do laboratório.

Atividade e risco

As atividades de um laboratório de TB são avaliadas em função do risco de produzirem aerossóis e da carga bacilar. Consulte o *Manual de Biossegurança nos Laboratórios de Tuberculose* da OMS para mais informações sobre como realizar uma análise do risco.

Nível de risco	Atividades do laboratório	Análise do risco
Risco baixo	Microscopia direta de escarro; preparação de amostras para o ensaio Xpert MTB/RIF	Risco baixo de formar aerossóis infecciosos a partir de amostras; baixa concentração de partículas infecciosas
Risco moderado	Tratamento e concentração de amostras para inoculação em meios de cultura primários; teste molecular direto por ensaio de sonda em linha em escarro tratado	Risco moderado de formar aerossóis infecciosos a partir de amostras; baixa concentração de partículas infecciosas
Risco elevado	Manuseio de culturas para identificação, TSA fenotípico ou um ensaio de sonda em linha em meios culturais	Risco elevado de formação de aerossóis infecciosos a partir de culturas; concentração elevada de partículas infecciosas

Infraestrutura — linhas orientadoras

Os exames culturais de TB e os TSA requerem um espaço e um equipamento próprios no laboratório, que não devem ser usados para outros serviços de diagnóstico de rotina.

Em laboratórios onde se realizem exclusivamente atividades de risco baixo (microscopia, GeneXpert), pode haver partilha de equipamentos.

Atividades “limpas” versus “sujas”

“Limpo” e “sujo” são termos relativos num laboratório de exames culturais de TB ou TSA. Todos os equipamentos e superfícies, bem como consumíveis e reagentes estão potencialmente contaminados.

- “Limpo” (risco baixo) significa que a área ou o material está menos propenso(a) a conter ou a ser contaminado(a) com BAAR ou outros agentes infecciosos
- “Sujo” (risco elevado) significa que a área ou elemento está mais propenso(a) a conter ou a ser contaminado(a) com BAAR ou outros agentes infecciosos

Nível de risco e áreas do laboratório

A área de entrada deve estar reservada para atividades “limpas”. As atividades “sujas” devem estar o mais afastadas possível da entrada.

As atividades de risco baixo incluem

- Administração, estação de lavagem de mãos, microscopia, GeneXpert, acondicionamento de consumíveis e reagentes, coloração

As atividades de risco moderado incluem

- Tratamento de culturas e inoculação de meios

As atividades de risco elevado incluem

- Manuseio de culturas com baciloscopia positiva, identificação da MTB, TSA, preparação de extrações de ADN a partir de culturas com baciloscopia positiva

Deslocações de ar

Um fluxo de ar direcional ajuda a diminuir o risco. Este fluxo é criado através de um gradiente de pressão negativo. O ar deve movimentar-se da entrada, onde se realizam atividades de risco baixo, para a outra extremidade do laboratório, onde decorrem as de maior risco.

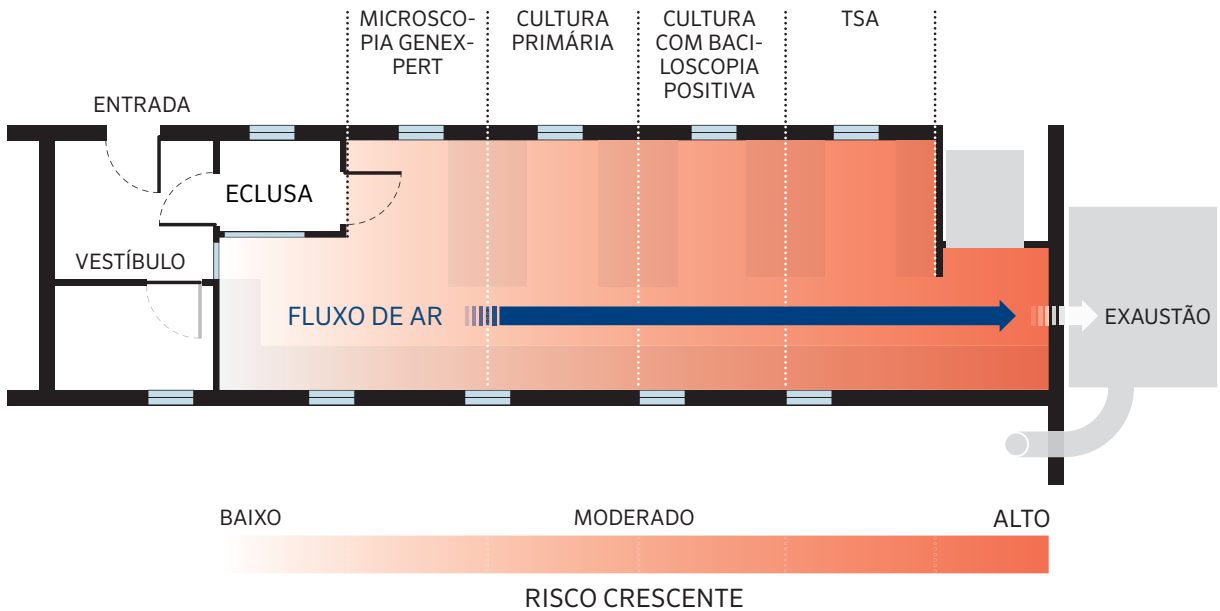
O sistema de tratamento de ar também deve ser capaz de renovar o volume de ar num laboratório 6 a 12 vezes por hora (renovações do ar da sala/hora = RAH) O *Manual de Biossegurança nos Laboratórios de Tuberculose* da OMS fornece orientações sobre como determinar as RAH num laboratório que utilize ventilação mecânica.

Laboratórios de múltiplas salas

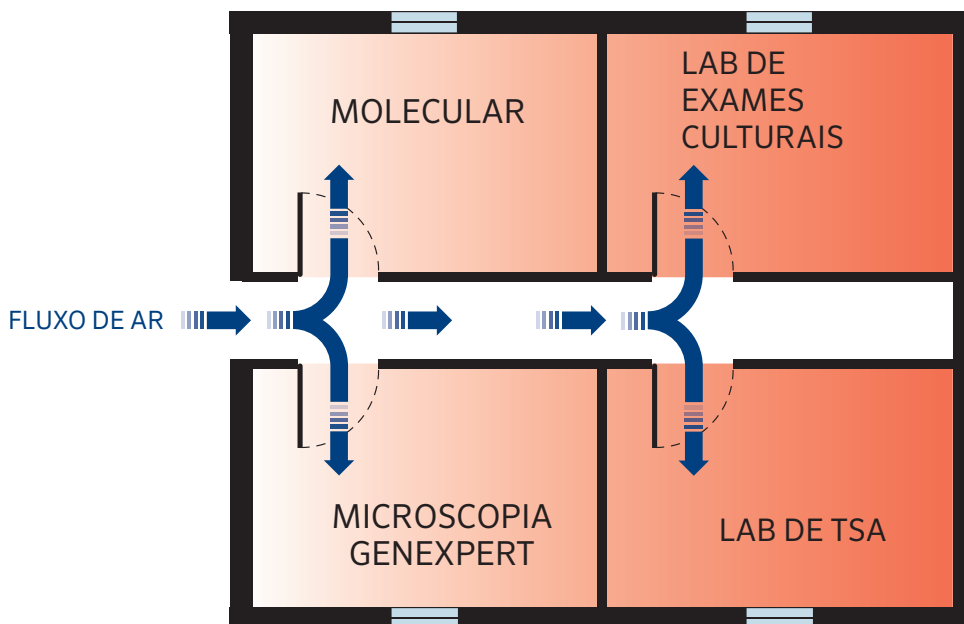
Em laboratórios com salas separadas para atividades específicas, aplicam-se os mesmos princípios. O ponto de entrada tem o menor nível de risco, aumentando este à medida que se avança para o interior da sala. Num laboratório de múltiplas salas, o ar circula das áreas “limpas” para as “sujas” dentro de cada sala.

Laboratório de uma sala

O ar circula das áreas “limpas” para as “sujas”

**Laboratório de múltiplas salas**

O ar circula do “limpo para o sujo” em cada área individual no laboratório



Nota: por uma questão de simplicidade, as eclusas dos laboratórios de exames culturais e TSA não foram representadas.

Estrutura

A estrutura do laboratório — a forma como distribuímos os espaços funcionais e definimos a relação que estabelecem — tem um impacto determinante tanto no fluxo de trabalho como na segurança.

Em laboratórios exclusivamente dedicados a exames culturais de TB, alguns requisitos estruturais são optativos. Contudo, a função deste tipo de laboratório está a transitar do diagnóstico para a monitorização de doentes com TB resistente a medicamentos. Os laboratórios devem antecipar uma percentagem crescente de amostras de doentes com TB-MDR/XDR. Por conseguinte, estas opções são altamente recomendadas para laboratórios que se dediquem exclusivamente a exames culturais de TB.

Vestíbulo

Esta área é o primeiro ponto de entrada no laboratório.

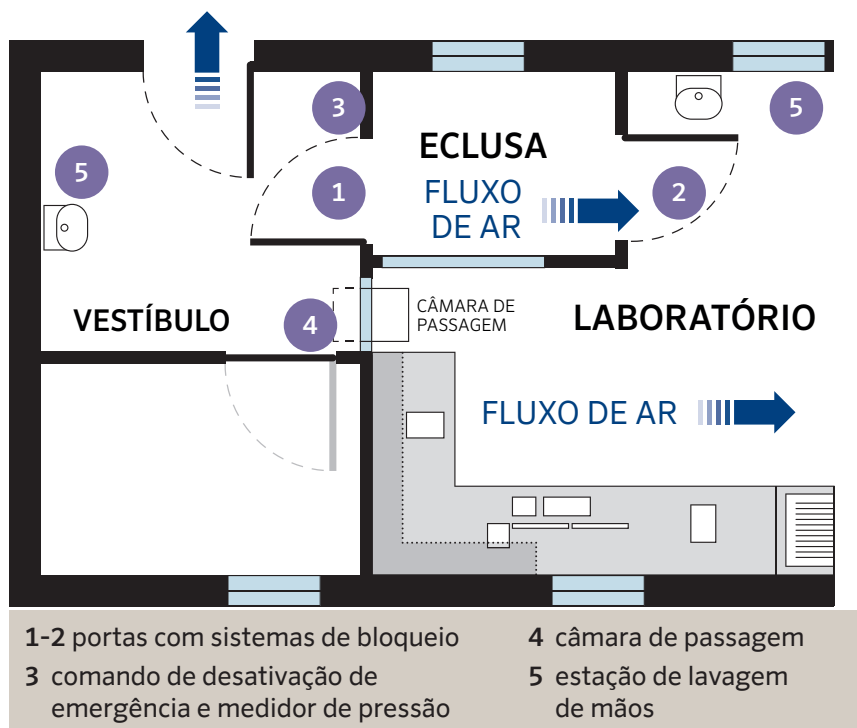
Considerações-chave

- Pode ligar a zona pública à antecâmara
- Está a uma pressão positiva em relação à eclusa
- Pode incluir uma estação de lavagem de mãos

Considerações adicionais

- Um espaço para acondicionar grandes quantidades de consumíveis, reagentes e EPI
- As casas de banho e os chuveiros podem ser contíguos ao vestíbulo
- Acesso aos serviços do edifício

Posição do vestíbulo em relação à eclusa e áreas adjacentes



Eclusa

As eclusas são altamente recomendadas para laboratórios que efetuem apenas exames culturais de TB e obrigatórias para laboratórios que efetuem exames culturais/TSA.

As eclusas não devem ser usadas para lavar as mãos ou armazenar o equipamento de proteção individual do pessoal, consumíveis, reagentes ou equipamentos.

Dispositivos de segurança como extintores e um kit de derrame podem ser acondicionados na eclusa.

Considerações-chave

- Proporciona uma barreira física entre o vestíbulo e o laboratório
- Está a uma pressão negativa em relação ao vestíbulo e a uma pressão positiva em relação ao laboratório
- Tem de ser suficiente grande para permitir acomodar e manobrar o maior equipamento usado no laboratório de TB
- As portas da eclusa têm de ter janelas que permitam ver o laboratório
- Medidores de pressão para eclusas/laboratório/vestíbulo
- Sistema de segurança de acesso
- Bloqueio das portas: só se pode abrir uma porta de cada vez; há um botão de emergência para desativar os sistemas de bloqueio
- Pavimentos uniformes com rodapés curvos

Considerações adicionais

- Pode ser fumigado de forma independente da área principal do laboratório
- As portas interior/exterior devem estar alinhadas



AS ECLUSAS SÃO OBRIGATÓRIAS EM LABORATÓRIOS DE TB QUE EFETUEM TSA



- 1 Sistemas de bloqueio
- 2 Janela de vidro com visibilidade
- 3 Entrada protegida
- 4 Medidor de pressão
- 5 Desativação do bloqueio de emergência
- 6 Pavimentos uniformes com rodapés curvos

Laboratório — Exames culturais de TB

Um laboratório de exames culturais de TB monitoriza um número cada vez maior de doentes com TB resistente a medicamentos. Conseqüentemente, os riscos no laboratório aumentaram, pelo que devem ser reanalisados. A infraestrutura de um laboratório de exames culturais pode ter de ser adaptada aos requisitos de um laboratório de TSA.

Considere a inclusão de

- Uma eclusa
- Uma câmara de passagem
- Um esterilizador a vapor sob pressão

A concepção de um laboratório passa por três etapas: (i) arquitetura, (ii) engenharia e (iii) adaptação.

Arquitetura

Os pavimentos, paredes e juntas estruturais têm de ser uniformes, fáceis de limpar, impermeáveis a líquidos e resistentes aos químicos e desinfetantes usados no laboratório.

- Os pavimentos são antiderrapantes e têm rodapé curvo até às paredes
- As juntas estruturais devem ser reduzidas ao mínimo
- Os materiais adequados incluem (mas não se limitam a) revestimento vinílico e tinta epóxi

As bancadas têm de ser suficientemente fortes para suportar equipamentos, uniformes, fáceis de limpar, impermeáveis a líquidos e resistentes aos químicos e desinfetantes usados no laboratório.

- Estrutura de sustentação forte
- Os materiais mais adequados para bancadas são
 - Materiais à base de resina
 - Fibra de vidro/epóxi
 - Núcleo de madeira selado e coberto com um laminado impermeável
- Desaconselham-se as superfícies de madeira pintadas
- A altura das bancadas deve variar de acordo com a atividade
 - Bancada para trabalhos gerais ≈ 900 mm
 - Administração, microscopia ≈ 720 mm
- As áreas por baixo das bancadas devem estar acessíveis para facilitar a limpeza
 - O acondicionamento debaixo das bancadas deve ser reduzido ao mínimo



Bordos das bancadas arredondados para reduzir as lesões



**NÃO USAR MADEIRA NÃO SELADA
(MADEIRA SÓLIDA, CONTRAPLACADO, AGLOMERADO, PAINEL DE FIBRA
DE MADEIRA DE MÉDIA DENSIDADE)**

Engenharia

Os laboratórios requerem um abastecimento estável, fiável e adequado de eletricidade e água (serviços públicos). Conceber um novo laboratório ou renovar um existente com equipamentos adicionais irá sobrecarregar as redes públicas existentes, sobretudo a elétrica. Adicionar novas unidades a um laboratório é geralmente oneroso. Para trabalhar com os fornecedores de serviços adequados, é necessário fazer um planeamento muito anterior à construção.

O fornecimento de eletricidade é estável e suficiente para as necessidades atuais e futuras?

- Requer proteção contra a sobretensão para salvaguardar circuitos elétricos e equipamentos
- Os sistemas de tratamento de ar e equipamentos adicionais podem aumentar substancialmente as necessidades de energia elétrica
- Incluir as necessidades de alimentação de emergência para manter os sistemas de tratamento de ar (fluxos de ar direcionais, ar condicionado), a iluminação e os componentes-chave dos equipamentos (CSB, GeneXpert, refrigeradores) quando a alimentação elétrica falhar
 - O fornecimento elétrico de emergência é feito por um sistema autónomo ou a partir das instalações?
 - Existe combustível suficiente para alimentar o sistema elétrico de emergência?

- As componentes-chave dos equipamentos têm UPS de apoio para falhas de energia de curta duração (p. ex., CSB, GeneXpert)?

Fornecimento de água suficiente para suprir as necessidades atuais e futuras

- Lavatórios e estações de lavagem de mãos no laboratório
- Casas de banho e chuveiros na área do vestíbulo
- Fornecimento de água de emergência através de um reservatório elevado (5 000 l) com bomba

Recomenda-se uma combinação de luz natural e artificial. Um requisito especialmente importante são as janelas para os corredores ou outros espaços no laboratório que permitam observar a segurança dos técnicos. As janelas têm de ser vedadas e não podem ser abertas.

O gás não é necessário no laboratório.

Adaptação



- | | |
|--|---|
| 1 Dispensador de sabão | 5 Poster sobre "como lavar as mãos" |
| 2 Produto auxiliar para lavagem de mãos (p. ex., gel de mãos à base de álcool) | 6 Cabides para pendurar as batas de proteção usadas no laboratório; perto da estação de lavagem de mãos |
| 3 Torneira mãos livres | 7 Caixote do lixo |
| 4 Dispensador de toalhetes de papel | |

Nota: Não está representada nenhuma estação de lavagem de olhos devido à grande variedade de opções existente.

Deve haver uma estação de lavagem de mãos à entrada do laboratório.

- Torneira mãos livres
- Dispensador de sabão
- Lavatório secundário de reserva
- Dispensador de toalhetes de papel
- Poster sobre a lavagem das mãos (opcional)
- Caixa do lixo
- Estação de lavagem de olhos — pode consistir de uma simples garrafa lava-olhos de solução salina estéril ou de uma estrutura com canalização própria e pressão de saída ajustável
- Cabides para pendurar as batas de proteção usadas no laboratório, situados perto do posto de lavagem de mãos

Lavatórios específicos para as atividades do laboratório

- Feitos de um material resistente a corantes, solventes e produtos químicos
- Não se devem usar lavatórios de cerâmica

A mobília do laboratório tem de ser robusta, feita de materiais impermeáveis e fácil de descontaminar

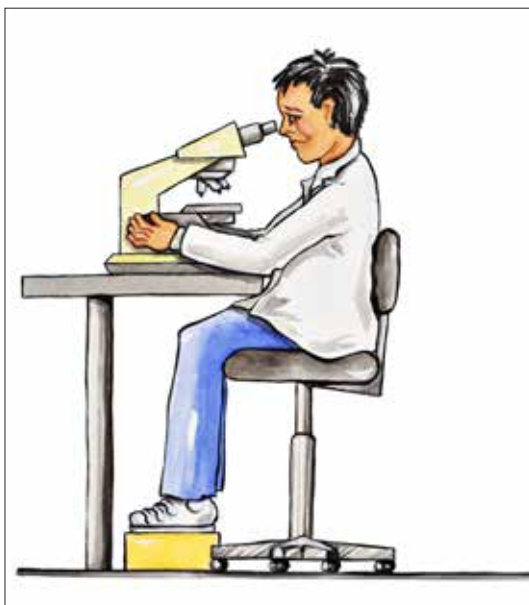
- Cadeiras de laboratório
 - Altura ajustável
 - Os rodízios têm de fixar a posição ao aplicar-se peso sobre o assento
 - Uma base de 5 pernas é ideal para aumentar a estabilidade

Área para pequenas quantidades de ácidos, solventes e corantes

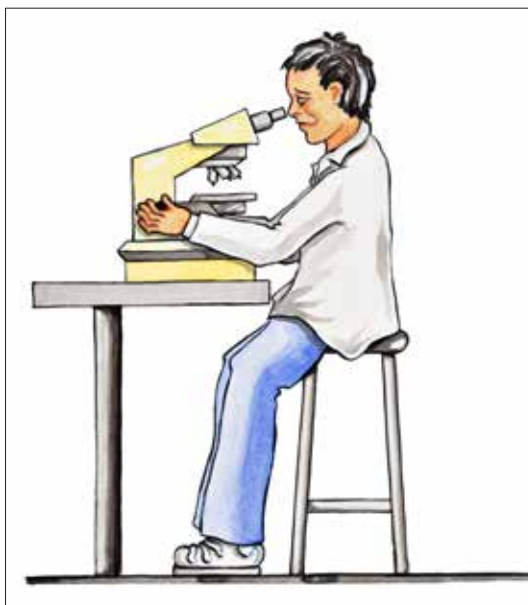
- Preparação de corantes e reagentes fora do laboratório

Área de acondicionamento dentro do laboratório

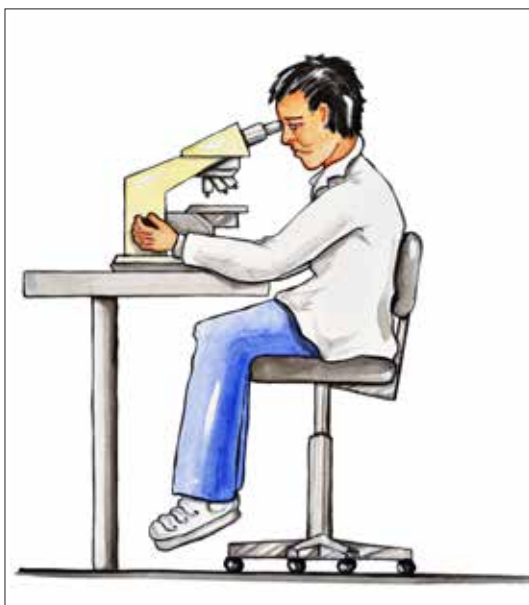
- Armário ou prateleiras separadas das bancadas de trabalho
- Na área “limpa” do laboratório
- Capacidade para conter pelo menos o EPI, os consumíveis e os reagentes necessários para uma semana de trabalho
- Área de acondicionamento fora do laboratório
 - Área protegida para prevenir roubos
 - Vestíbulo ou área próxima
 - Acondicionamento de maiores quantidades de EPI, consumíveis e reagente por períodos mais longos
 - Pequena provisão de materiais usados com menos frequência



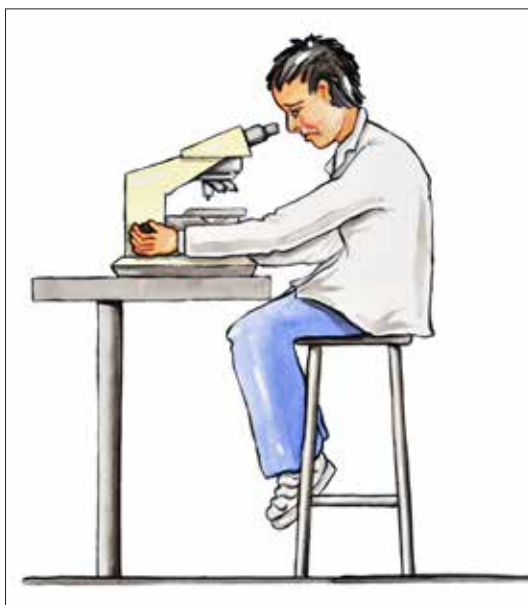
Boa postura
Apoiar os pés ajuda a endireitar as costas



Boa postura
Levante o microscópio para ajudar a endireitar as costas e apoie os pés totalmente no chão



Má postura
Pés sem apoio



Má postura
Assento demasiado alto ou bancada demasiado baixa; os pés não estão totalmente apoiados

Laboratório — Exames culturais/TSA

Um laboratório que realize TSA necessita obrigatoriamente de infraestruturas adicionais.

Espaço do laboratório

- Eclusa com sistemas de bloqueio para garantir que só se abre uma porta de cada vez
 - Comando de desativação de emergência necessário em ambas as portas
- Sistema de segurança com inserção de código ou cartão de acesso
- Câmara de passagem para amostras e outros materiais
- Dois sistemas de comunicação independentes
 - Telefone
 - Intercomunicador de duas vias
- Esterilizador a pressão de vapor situado na extremidade “suja” do laboratório
 - Deve usar-se um esterilizador a vapor sob pressão independente
 - Os esterilizadores a vapor sob pressão de porta dupla são desaconselhados devido aos custos e à complexidade
 - Fluxo de ar direcional criado, p. ex., por um exaustor de chaminé, para remover vapor e calor
- Sistema de alarme que indique que a pressão negativa no laboratório está fora dos limites
 - Uma pressão excessivamente alta ou baixa representa um risco para a saúde, pelo que têm de instalar-se sistemas para desligar o sistema de tratamento de ar



Uma câmara de passagem é uma eclusa para pequenos materiais



Exaustor de chaminé sobre um esterilizador a vapor sob pressão

Tópicos de engenharia e arquitetura

As informações fornecidas tanto pelo pessoal como pelos especialistas qualificados de laboratórios de TB têm de integrar as especificações. Os requisitos de concepção e as dimensões finais do laboratório irão depender de muitos fatores.

Carga de trabalho

- Tipos de teste atualmente realizados (microscopia, GeneXpert, LPA, exames culturais, TSA, outros)
- Estimativa da carga de trabalho futura
- Implementação de testes adicionais, requisitos de espaço?

Números relativos ao pessoal

- Número atual de trabalhadores
- A tabela abaixo contém o número estimado de testes efetuados por técnico num dia de trabalho de 8 horas

Serviços de apoio

- Irá instalar-se um sistema de informação laboratorial durante a construção ou os próximos 10 anos?

Estimativa da carga de trabalho máxima por teste que pode ser realizada por um técnico competente

Teste	Número máximo de testes/técnico ¹			
	Dia	Semana	Mês	Ano ²
Microscopia ligeira de BAAR	25	125	500	5 750
Microscopia de fluorescência de BAAR	50	250	1 000	11 500
Tratamento de amostras para cultura (líquida/sólida)	40	200	800	9 200
TSA (líquido)	20	100	400	4 600
TSA (sólido)	20	100	400	4 600
Xpert (4 módulos)	16	80	320	3 680
LPA – primeira linha (manual)	24	120	480	5 520

- 1 O número máximo é meramente indicativo* e depende de
- Recursos humanos, experiência e competência especializada do pessoal, do laboratório,
 - Equipamentos e
 - Fiabilidade dos serviços públicos como eletricidade e água

* Referência: Global Laboratory Initiative. GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening. <http://stoptb.org/wg/gli/gat.asp>.

- 2 O ano corresponde a 230 dias de trabalho

- Necessidades de equipamento por teste
 - Quantidade de equipamentos (CSB, incubadoras, MGIT960, centrífugas) determinada por carga de trabalho, tipo de teste, meios líquidos e/ou sólidos e pessoal
 - Restrições à localização de equipamentos, sobretudo CSB, impostas por portas, movimentação de pessoas, fluxos de ar (ver o capítulo sobre como usar a CSB)

- Relações entre equipamentos e fluxo de trabalho (ver a configuração do laboratório)
- Instalação elétrica
 - Consumidores: Equipamentos Iluminação Ventilação Ar condicionado
 - Localização de equipamentos e outros consumidores necessários por área
 - Número e localização de tomadas para usos gerais
 - Tomadas do circuito elétrico de emergência em caso de falha de energia
- Água
 - Fornecimento para: Estações de lavagem de mãos Lavatórios Casas de banho e chuveiros (se fizerem parte das instalações do laboratório)

Modelo à escala

Recorrer a uma planta à escala com equipamentos e bancadas recortados também à escala é uma forma simples e eficaz de estudar opções estruturais, fluxos de trabalho no laboratório e a localização dos equipamentos.

Medidas (mm)	Escala	Dimensão à escala (mm)
1 000	1:100	10
1 000	1:50	20

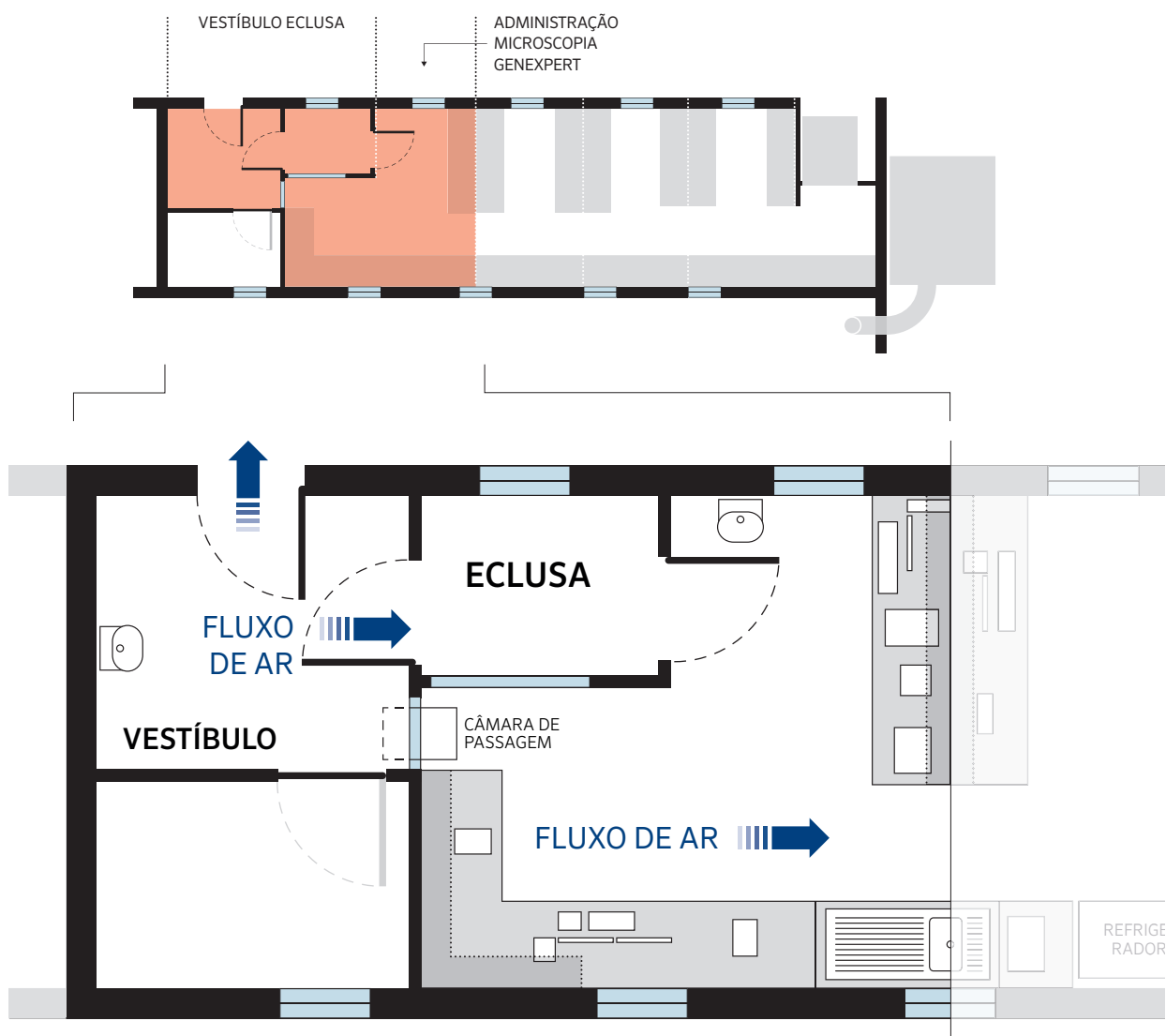
Manutenção da infraestrutura

Imagine que compra um carro novo e não lhe faz qualquer manutenção ou reparação durante toda a vida do veículo. As ações de manutenção e reparação são sempre necessárias para um bom desempenho contínuo.

Em muitos países, a manutenção das infraestruturas é muitas vezes negligenciada. É necessário que haja anualmente uma verba disponível para a manutenção da infraestrutura para garantir que o laboratório opera de acordo com as especificações. A tabela seguinte indica as prioridades de manutenção.

Objeto/evento de manutenção	Ação	Periodicidade
Entrega do laboratório concluído	Confirmação de que a estrutura está conforme as especificações e “pronta a usar” O laboratório deve estar operacional A validação deve contar com representantes do ministério competente, doadores e parceiros	Conclusão dos trabalhos
Primeiro ano de operação	Quaisquer defeitos, avarias/ reparações tratados ao abrigo da garantia	Durante os primeiros 12 meses após a entrada em funcionamento
Sistema de tratamento de ar	Manutenção do sistema, incluindo o desempenho do HEPA	Anual
Instalação elétrica	Verificação de todas as tomadas do sistema	De 2 em 2 anos
Avarias	Qualquer avaria que pare os trabalhos	Sob demanda Tempo de resposta <24 horas
CSB	Manutenção	Durante a instalação e antes de usar, anualmente, quando o CSB for deslocado ou se proceder à substituição do filtro
Todos os outros equipamentos	Manutenção	Anualmente ou conforme as instruções do fabricante

Configuração do laboratório — Área de risco baixo



Deve haver apenas uma porta de entrada no laboratório. A estação de lavagem de mãos/olhos deve estar imediatamente adjacente à porta.

Entre outros elementos incluem-se

Administração

Espaço de bancada, registos do laboratório, computador, impressora/scanner/fax, telefone

Microscópio(s)

Área de acondicionamento de consumíveis e reagentes prontos a usar

Câmara de passagem

GeneXpert

Cabides para batas de proteção

Refrigerador (apenas consumíveis e reagentes)

Num contexto de risco biológico, a preparação de reagentes de trabalho e a área e coloração são “limpas”. Contudo, ambas requerem uma zona húmida, devendo por isso situar-se longe da entrada.

Configuração do laboratório — Área de risco moderado



As atividades originam partículas infecciosas em baixas concentrações. É necessário equipamento específico, devendo todo o tratamento de amostras ser feito dentro da CSB.

O equipamento inclui

CSB

Centrífuga

MGIT960

Incubadora

Resíduos infecciosos

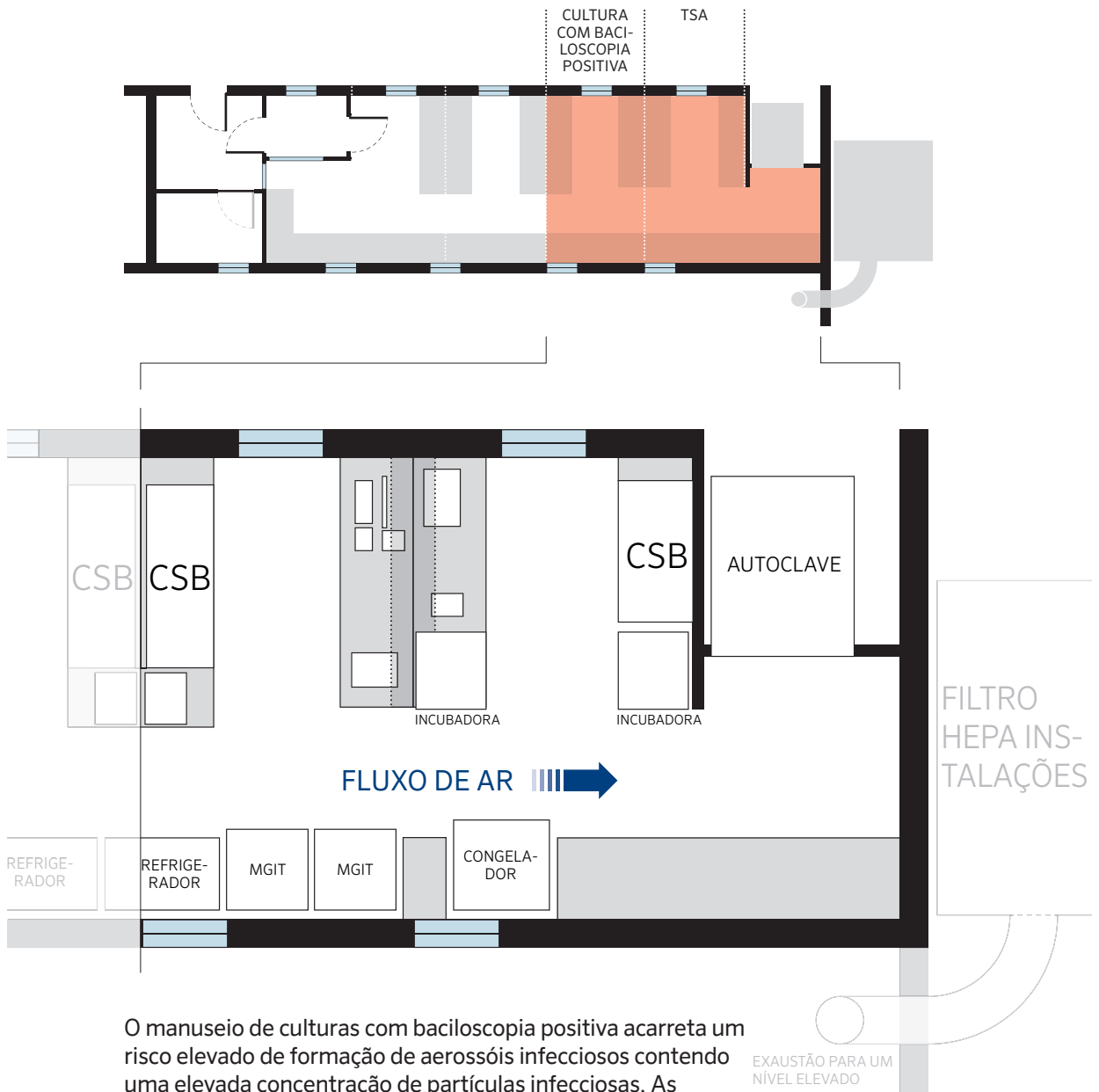
Refrigerador para material
não infeccioso

Refrigerador para material
infeccioso

Vortex (dentro da CSB)

Acesso a uma autoclave

Configuração do laboratório — Área de risco elevado



O manuseio de culturas com baciloscopia positiva acarreta um risco elevado de formação de aerossóis infecciosos contendo uma elevada concentração de partículas infecciosas. As atividades envolvidas incluem a preparação de baciloscopias a partir de culturas positivas, identificação, TSA e preparação de culturas para LPA. Todas as atividades têm de ser realizadas dentro da CSB, adotando práticas de trabalho seguras.

O equipamento inclui

CSB

MGIT960

Incubadora

Refrigerador para material
não infeccioso

Refrigerador para material
infeccioso

Ultracongelador

Autoclave

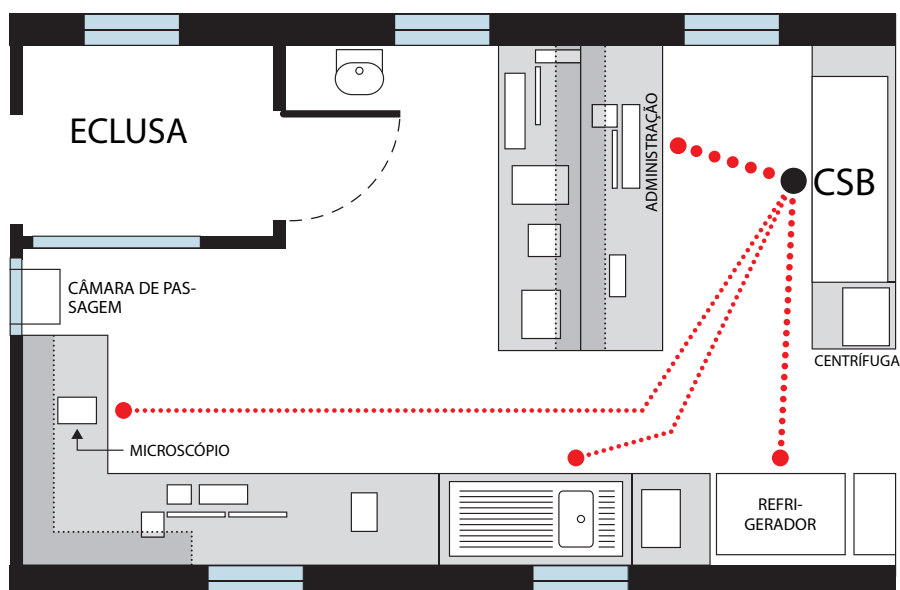
Triangulação

Para otimizar uma área de trabalho, aproxime equipamentos-chave numa “configuração triangular” à volta da estação de trabalho onde se realize uma dada atividade.

Responda a estas perguntas ao planear a localização dos equipamentos

- Que atividade específica irá ser realizada?
- Que equipamentos serão necessários para realizar essa atividade?
- Com que frequência se usam os equipamentos ao realizar a atividade?

Triangulação para microscopia



Microscopia

Esta atividade inclui

Administração

(inscrição, registo e relatório)

Preparação de baciloscopias

(em bancada aberta ou numa CSB)

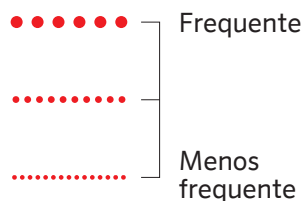
Coloração

(lavatório com escorredor, abastecimento de água)

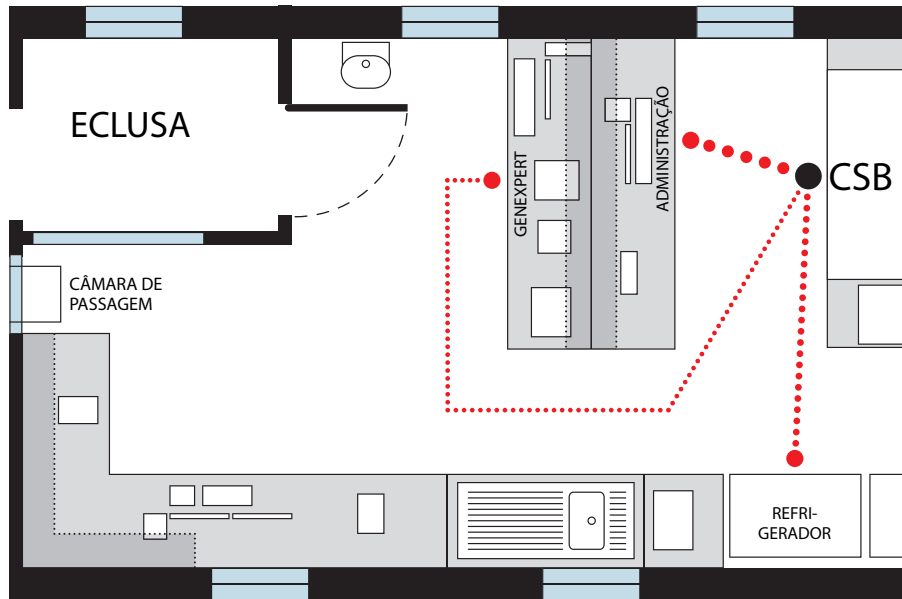
Microscopia

(microscópio e espaço de bancada)

Frequência de deslocamentos



Triangulação para GeneXpert

**GeneXpert**

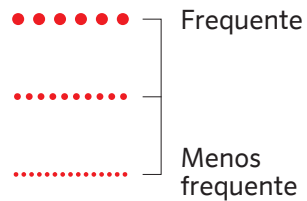
Inclui

Administração

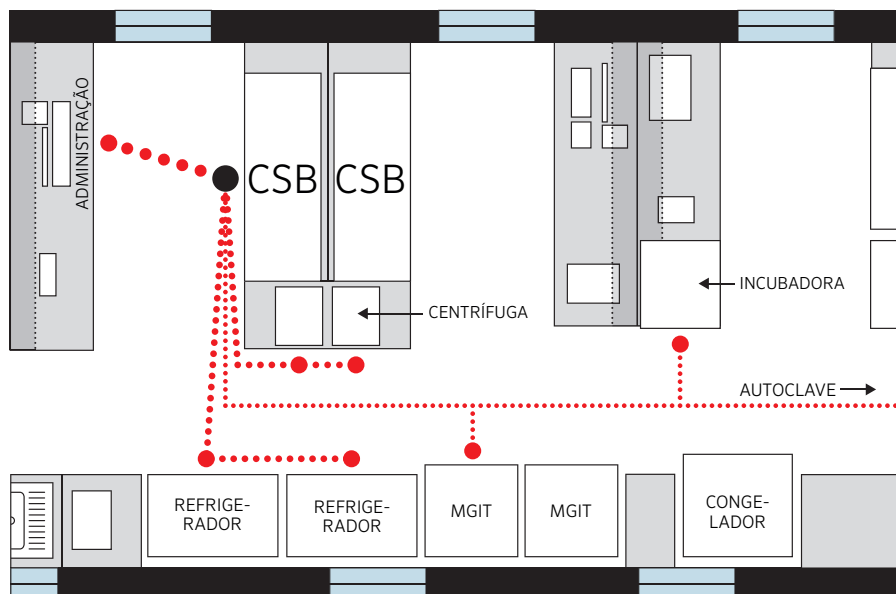
(inscrição, registo e relatório)

Preparação de amostras

(em bancada aberta ou numa CSB)

Carregar/descarregar a máquina
de GeneXpert**Frequência de deslocações**

Triangulação para tratamento de amostras destinadas a exames culturais



Tratamento de amostras para exame cultural

Inclui

Administração

(etiquetagem, registo e relatório)

Centrifugação

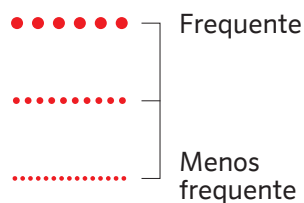
Descontaminação de amostras

Inoculação de meios

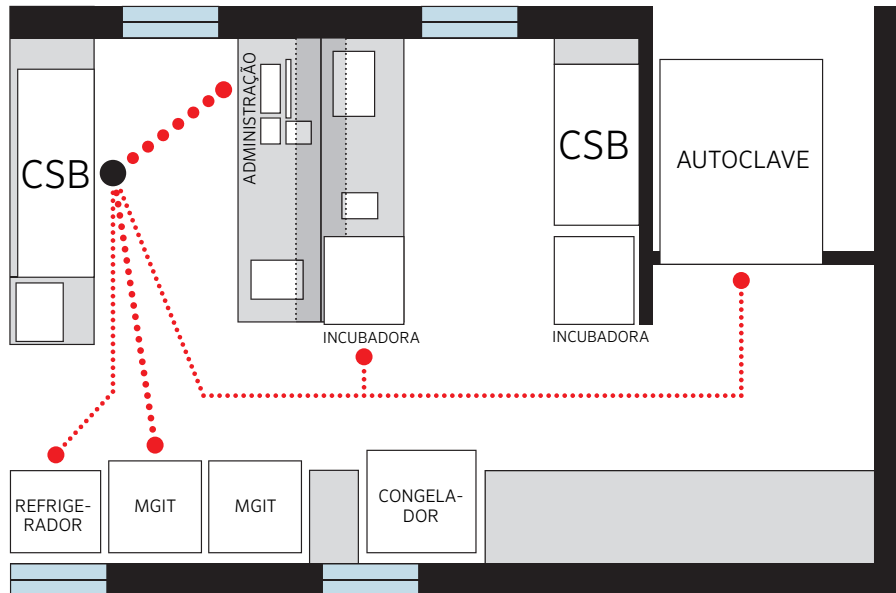
Gestão de resíduos infecciosos

Dado que a maior parte do tempo é despendida a usar a CSB, esta deve ser o centro em torno do qual decorrem outras atividades e se posicionam os restantes equipamentos.

Frequência de deslocações



Triangulação para culturas com baciloscopia positiva



Culturas com baciloscopia positiva

Inclui

Administração

(etiquetagem, registo e relatório)

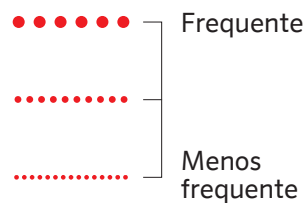
Preparação de baciloscopias

Realização de testes rápidos (MPT64, LPA)

Inoculação de meios

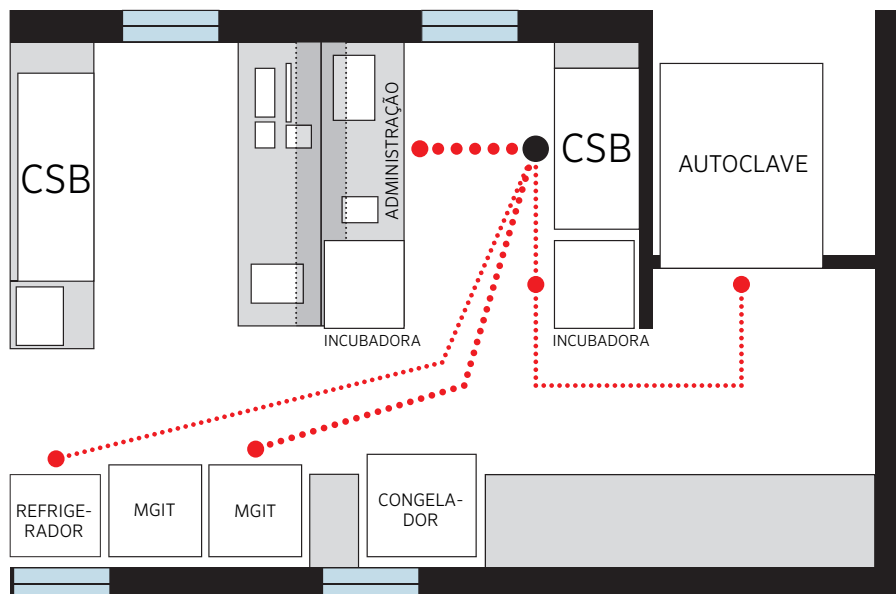
Gestão de resíduos infecciosos

Frequência de deslocações



Dado que a maior parte do tempo é despendida a usar a CSB, esta deve ser o centro em torno do qual decorrem outras atividades e se posicionam os restantes equipamentos.

Triangulação para TSA



Testes de suscetibilidade Antimicrobiana Inclui

- Administração
- (etiquetagem, registo e relatório)
- Adição de solução medicamentosa a meios (líquidos)
- Inoculação de meios
- Preparação do inóculo
- Gestão de resíduos infecciosos

Frequência de deslocações

- ● ● ● ● — Frequente
- ● ● ● ● — Menos frequente
- ● ● ● ● — Menos frequente

Dado que a maior parte do tempo é despendida a usar a CSB, esta deve ser o centro em torno do qual decorrem outras atividades e se posicionam os restantes equipamentos.

Resumo

Tornar um laboratório exclusivo de exames culturais de TB ou de exames culturais de TB/TSA devidamente funcional raramente acontece por acaso. Tal requer a colaboração de pessoas com competências especializadas que ajudem a identificar os problemas e a desenvolver uma estratégia resolutiva através da conceção, da construção e da configuração. Os contributos do pessoal de laboratório e de especialistas de laboratórios de TB são vitais para ajudar a conceber um laboratório funcional e com um ambiente de trabalho seguro.

3

EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL

Este capítulo fornece conselhos sobre a aplicabilidade, o uso e a disponibilidade do equipamento de proteção individual (EPI) no laboratório de TB.

	PÁGINA
Batas de proteção e batas de laboratório	42
Luvas	45
Respiradores	49
Máscaras cirúrgicas	55
Proteção dos olhos e da face	56
Calçado	58
Resumo	58

O equipamento de proteção individual proporciona uma barreira física para minimizar o risco de exposição a aerossóis, salpicos e inoculação acidental. O EPI tem de ser usado durante todo o tempo de permanência no laboratório.

O EPI mal ajustado, desadequado ou incorretamente envergado reduz a sua eficácia e pode criar uma falsa sensação de segurança. A escolha do EPI depende do tipo de trabalho realizado e do risco a minimizar.

Todo o EPI deve ser fornecido pelo laboratório. Os artigos de EPI devem ser descartáveis e não reutilizáveis.

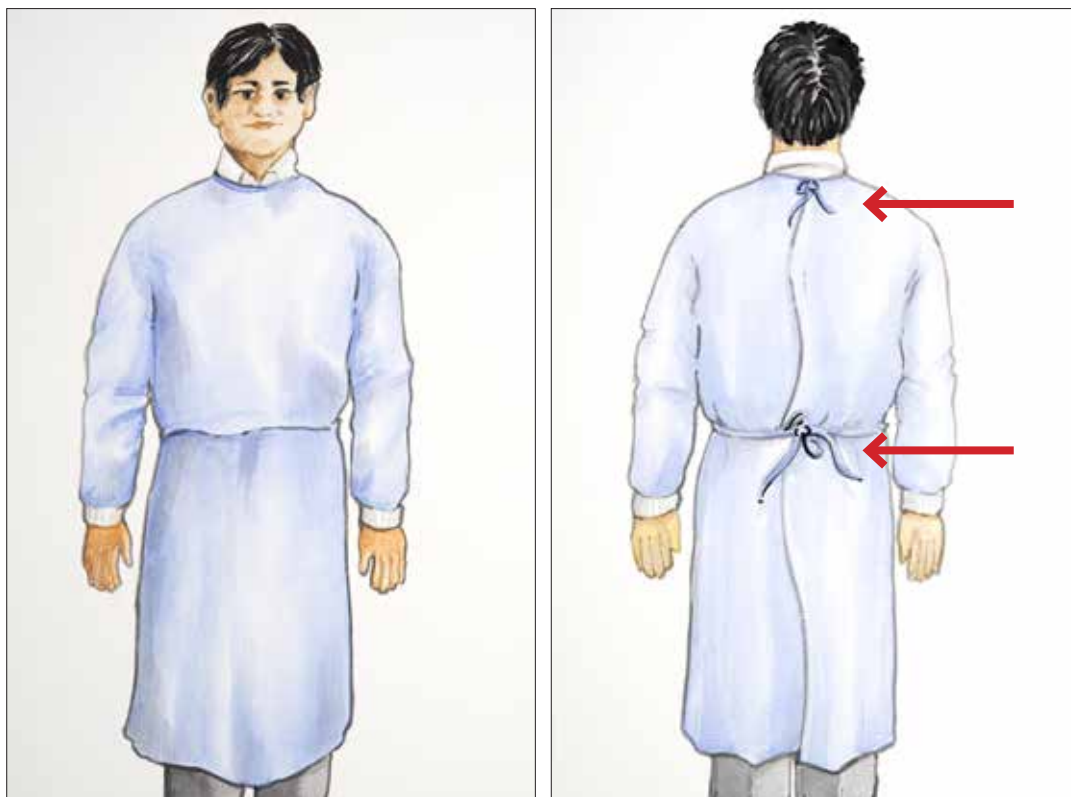
O pessoal não pode levar consigo nenhum EPI para lavar, eliminar ou usar fora do laboratório.

Batas de proteção e batas de laboratório



Batas de proteção

As batas de laboratório são apertadas atrás, proporcionando proteção à frente.

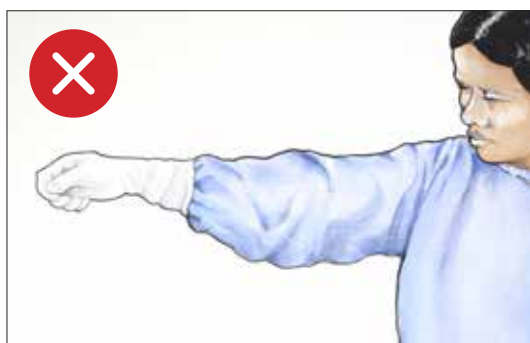
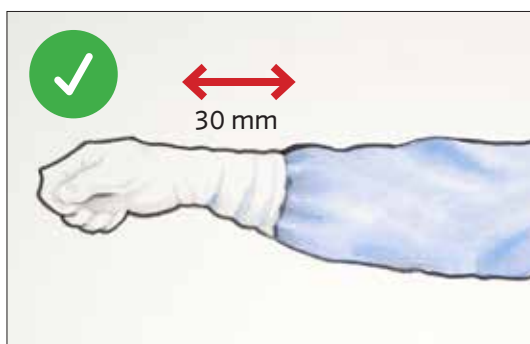


As batas de proteção podem ser descartáveis ou reutilizáveis

- As batas de proteção reutilizáveis têm de ser esterilizadas em autoclave (121 °C durante 15 minutos) antes de serem levadas para limpeza
- Caso se usem batas de proteção reutilizáveis, deve haver pelo menos três batas disponíveis por cada membro da equipa
 - A uso
 - Em limpeza
 - Pronta a usar
- As batas de proteção devem ser mudadas semanalmente ou depois de um derrame significativo
- As batas de proteção têm de estar disponíveis nos tamanhos pequeno, médio e grande

Características

- Aperta-se no pescoço e na cintura
- Cobertura total à frente
- Punhos elásticos com pelo menos 30 mm
- Suficientemente comprida para cobrir as coxas na posição sentada
- Material não absorvente



Manga demasiado grande



Não atar



É ALTAMENTE RECOMENDADO O USO DE BATAS DE PROTEÇÃO DESCARTÁVEIS

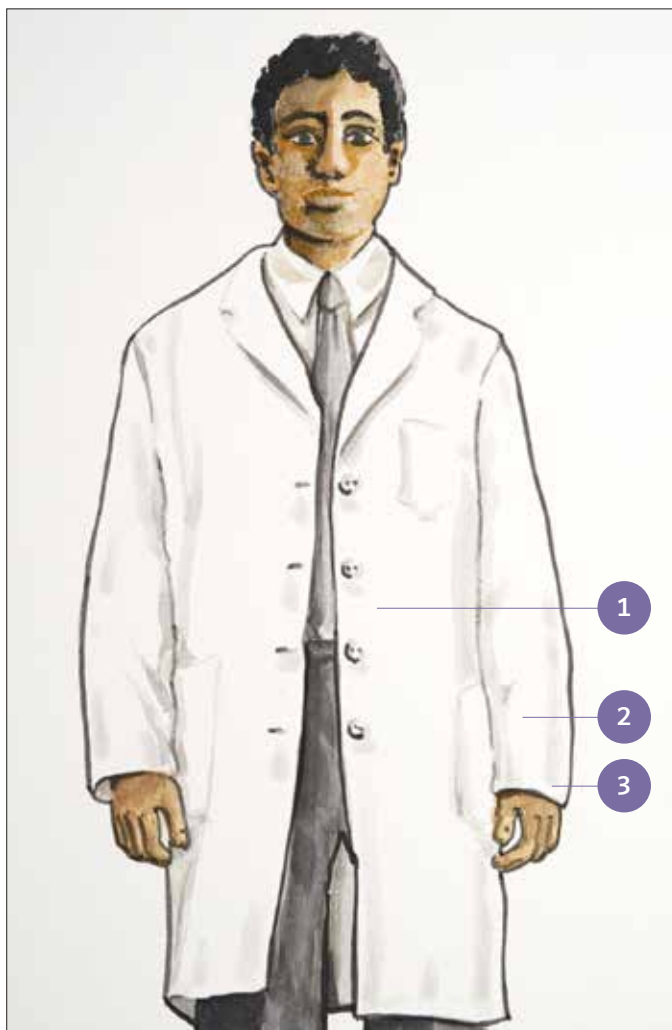
As batas de proteção não podem ser usadas fora do laboratório.

As batas de proteção não podem ser guardadas no mesmo local onde se guardam as roupas da rua.

Não use batas de proteção com máscara incluída.

Batas de laboratório

As batas de laboratório são abertas à frente e podem ter mangas curtas ou compridas.

**Batas de laboratório**

- 1 São abertas à frente, não conferindo proteção em exames culturais de TB ou TSA
- 2 Têm mangas curtas ou compridas
- 3 Não têm bandas elásticas nos pulsos



AS BATAS DE LABORATÓRIO NÃO PODEM SER USADAS DURANTE ATIVIDADES LABORATORIAIS EXAMES CULTURAIS DE TB OU TSA



Luvas

Num laboratório de TB apenas se podem usar luvas descartáveis.



NÃO REUTILIZE LUVAS USADAS

Todos os dias são usados diversos pares de luvas, devendo, por isso, haver reservas suficientes prontamente disponíveis.



Devem usar-se luvas em todos os procedimentos que envolvam contacto com amostras ou materiais do laboratório usados no manuseio de amostras e culturas.

As pessoas que utilizam luvas de latex (com ou sem talco) podem manifestar reações alérgicas, como erupção cutânea (dermatite), e reações de hipersensibilidade. Em alternativa, podem usar-se, por exemplo, luvas de vinil ou nitrilo, que raramente causam reações alérgicas.



Não leve as luvas para fora do laboratório.

Usar as luvas

As luvas têm de ser disponibilizadas em diferentes tamanhos (pequeno, médio e grande). As luvas mal ajustadas reduzem a destreza dos dedos, aumentando o risco de contaminação das luvas e de ocorrência de acidentes.

- Se demasiado pequenas, rasgam com facilidade
- Se demasiado grandes, perde-se a coordenação motora fina



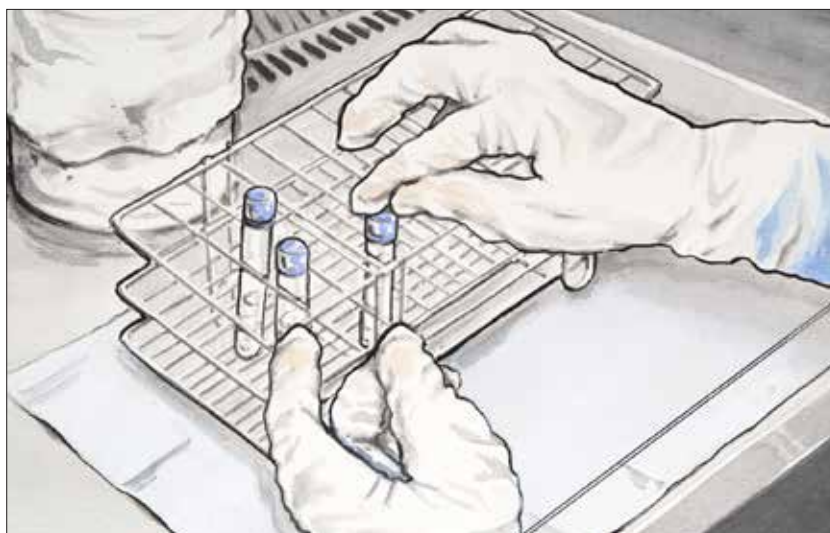
Luvas bem ajustadas



Luvas mal ajustadas



As luvas têm de cobrir os pulsos em pelo menos 30 mm
As luvas cobrem sempre os pulsos



Luvas demasiado grandes comprometem a coordenação motora fina



Não prenda as luvas aos punhos da bata com fita adesiva



Substitua imediatamente uma luva rasgada



Nunca use o telemóvel com as luvas calçadas ou enquanto estiver a trabalhar no laboratório

Tirar as luvas

As luvas usadas têm de ser descartadas num caixote para resíduos infecciosos.



- 1 Segure no punho da luva da mão oposta e descalce-a da mão lentamente
- 2 Segure a luva usada com a palma da outra mão e feche os dedos
- 3 Deslize cuidadosamente os dedos da mão descalça por baixo do punho da mão com luva; tenha cuidado para não tocar na superfície externa da luva
- 4 Descalce a luva de forma que a outra que está agarrada fique dentro da que está a ser removida
- 5 Descarte as luvas num caixote para resíduos infecciosos



Depois de remover as luvas, lave imediatamente as mãos.

Respiradores

Respiradores e máscaras cirúrgicas não são a mesma coisa. As máscaras cirúrgicas não proporcionam uma proteção respiratória eficaz contra aerossóis, pelo que não devem ser usadas.

Os respiradores têm de filtrar >95 % das partículas infecciosas maiores que 0,2 μm . Os respiradores N95 e FFP2 cumprem os requisitos, sendo dispositivos leves e descartáveis que cobrem o nariz e a boca.

Tanto o respirador FFP2 como o N95 podem ser “com válvula” ou “sem válvula”.

- Respiradores “com válvula” permitem a fácil expiração do ar dos pulmões para o ambiente, mas a válvula fecha durante a inspiração.
- Os respiradores “sem válvula” não têm válvula

Os respiradores não são geralmente necessários para trabalhar num laboratório de exames culturais de TB. Porém, têm de ser usados ao preparar-se um TSA.

Os respiradores podem ser reutilizados, desde que sejam usados, acondicionados e tratados adequadamente.



OS RESPIRADORES NÃO SÃO UM SUBSTITUTO PARA UMA CSB DEVIDAMENTE MANTIDA E FUNCIONAL

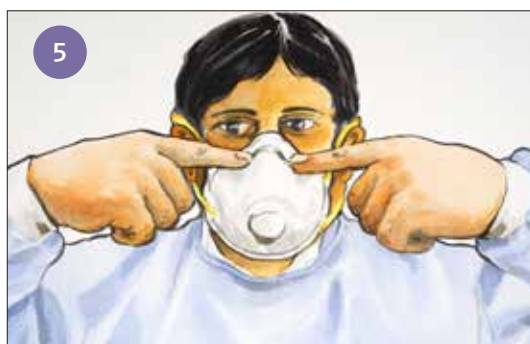
No caso de se usarem respiradores, o pessoal tem de ser

- Instruído no seu uso correto
- Ensinado a cuidar do respirador

Como colocar corretamente o respirador



- 1 Segure o respirador com a palma da mão, com os elásticos para baixo e devidamente alinhados
- 2 Apoie o respirador por baixo do queixo e posicione-o cuidadosamente sobre a face
- 3 Passe o elástico superior sobre a cabeça, deixando-o pousar na parte de trás numa posição elevada e acima das orelhas
- 4 Passe o elástico inferior por cima da cabeça, fixando-o abaixo das orelhas
- 5 Coloque as pontas dos dedos de ambas as mãos sobre o clip nasal metálico e molde-o ao nariz. Expire e inspire para verificar a pressão e detetar possíveis fugas



USE SEMPRE OS DEDOS DE AMBAS AS MÃOS — USAR APENAS UMA MÃO PODE RESULTAR NUM AJUSTE INCORRETO

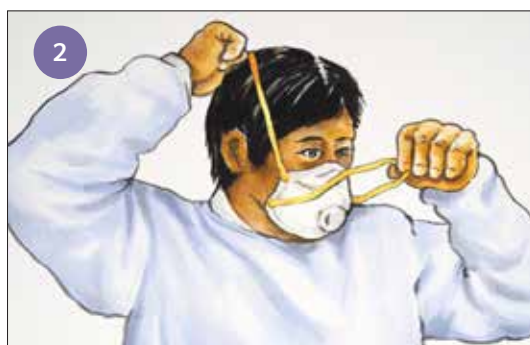
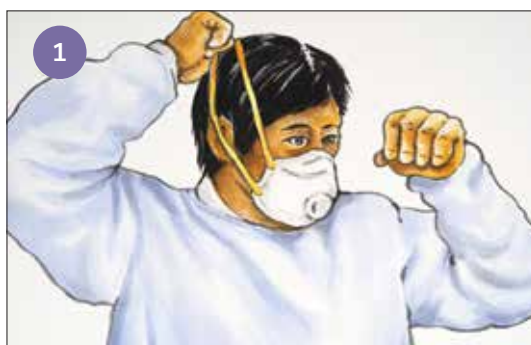


UMA BARBA ESPESSA PODE IMPEDIR UMA VEDAÇÃO EFICAZ ENTRE A FACE E O RESPIRADOR



Remoção correta de um respirador

Remova as luvas e lave bem as mãos.



- 1 Agarre no elástico inferior e puxe-o por cima da cabeça; alivie a tensão no elástico e segure-o numa mão
- 2 Agarre no elástico superior e puxe-o por cima da cabeça; alivie a tensão no elástico e segure-o numa mão
- 3 Afaste o respirador da face e segure ambos os elásticos numa mão

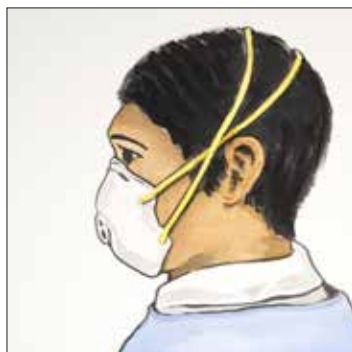
Guarde o respirador numa área limpa e seca (ver “Como cuidar de um respirador”)

Lave as mãos imediatamente

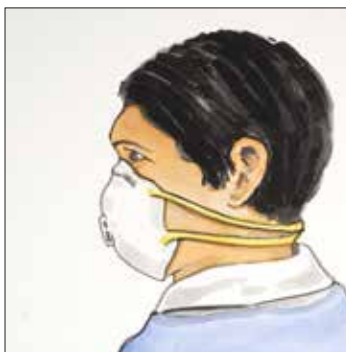


Erros frequentes

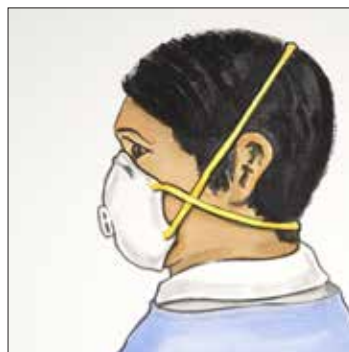
Elásticos na posição incorreta



Ambos os elásticos acima das orelhas



Ambos os elásticos abaixo das orelhas



Elásticos cruzados

Erros frequentes



Clip nasal moldado de forma incorreta —
abertura na zona do clip nasal



Colocar o respirador à volta
do pescoço irá danificá-lo



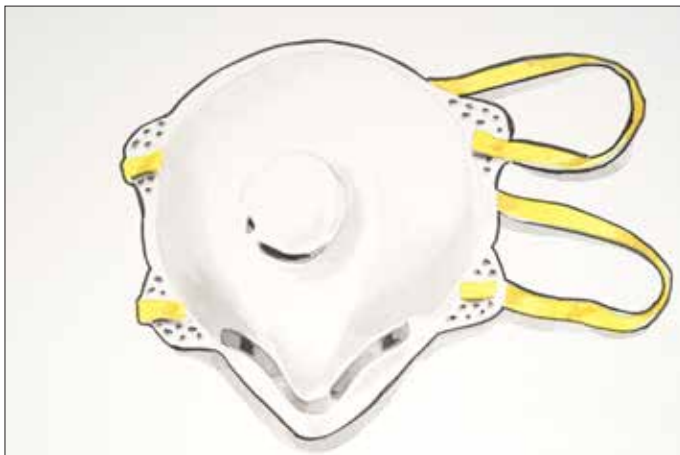
Colocar o respirador sobre
a testa irá danificá-lo

Como cuidar de um respirador

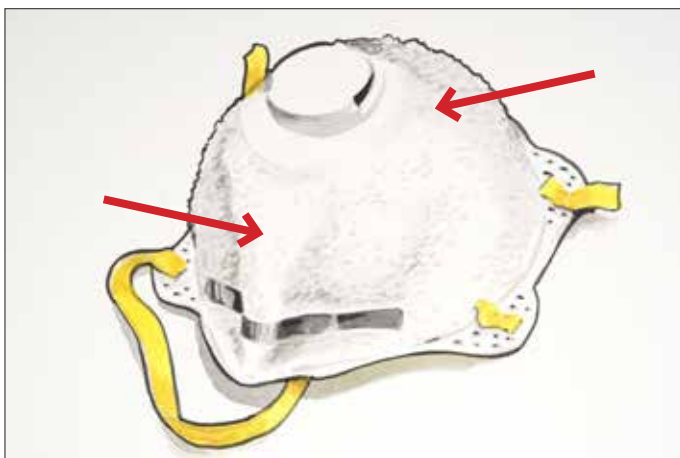
Devidamente cuidado, um respirador pode ser reutilizado múltiplas vezes durante duas a três semanas.

Antes de o usar, tenha sempre o cuidado de verificar que

- Não existem orifícios
- Os pontos de ligação dos elásticos não estão danificados
- A superfície do respirador está limpa e sem fibras soltas
- Os elásticos não esticaram demasiado



Antes de usar um respirador, verifique se este tem algum dano



Superfície danificada

Acondicione o respirador num saco de papel com orifícios de arejamento que permitam a evaporação da humidade.

Não desinfete, limpe ou repare respiradores danificados; descarte-os num caixote para resíduos com risco biológico e obtenha um novo respirador.

Não acondicione o respirador num saco de plástico, pois este impede a humidade de evaporar.



Acondicione os respiradores em sacos de papel com orifícios de arejamento



Não pendure o respirador pelos elásticos

Quando não estiver a ser usado, um respirador deve ser acondicionado num local bem ventilado para que possa secar.



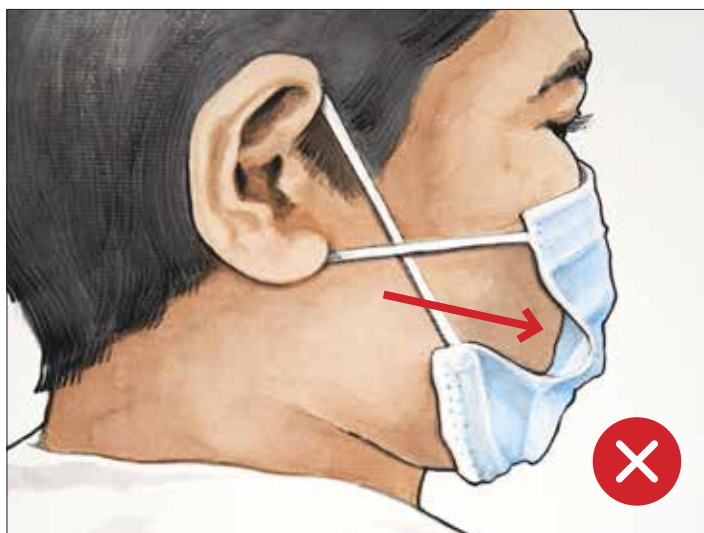
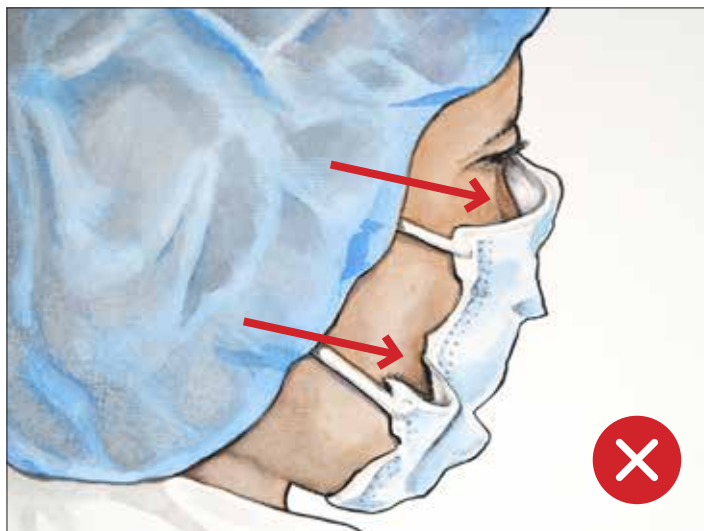
NÃO GUARDE UM RESPIRADOR NO BOLSO, POIS ELE PERDERÁ A FORMA PREVIAMENTE MOLDADA

Testar o ajuste de um respirador

Testar o ajuste requer equipamento especializado e pessoal habilitado, que não se encontram habitualmente disponíveis em muitos contextos. Além disso, a variedade de traços, formas e tamanhos das faces requer uma gama de diferentes respiradores adaptados aos vários padrões.

Máscaras cirúrgicas

As máscaras cirúrgicas não proporcionam uma proteção respiratória eficaz contra aerossóis, pelo que não devem ser usadas em contexto laboratorial.



AS MÁSCARAS CIRÚRGICAS NÃO CONFEREM PROTEÇÃO RESPIRATÓRIA EFICAZ

Proteção dos olhos e da face

A seleção do equipamento para proteger os olhos e a face de salpicos é determinada pelo tipo de atividade laboratorial.

O equipamento tem de estar permanentemente disponível no laboratório.

Opções de equipamento

Os óculos de proteção são feitos de plástico inquebrável e curvados na parte lateral. Alguns óculos de proteção panorâmicos são concebidos para encaixar por cima dos típicos óculos graduados.

As viseiras são feitas de plástico inquebrável, protegem a frente e ambos os lados da face e são fixadas na cabeça por uma banda.

Os óculos graduados e as lentes de contacto não conferem nenhuma proteção.



NÃO USE ÓCULOS GRADUADOS NEM LENTES DE CONTACTO COMO PROTETORES OCULARES

Seleção do equipamento

Tipo	Atividade	Comentários
Óculos de segurança ou óculos de proteção panorâmicos	Diluição de ácidos fortes para reagente de descoloração em atividades de coloração Preparação de soluções alcalinas fortes (4 % NaOH) para descontaminação de amostras Kit de derrame	Adicionar sempre ácidos fortes à água. Haverá formação de calor, por isso, adicione o ácido lentamente e misture Haverá formação de calor, por isso, adicione os grãos de NaOH lentamente e misture
Viseira (ver página 137)	Descarregar uma autoclave	Após a autoclavagem, os grandes volumes de líquido podem transbordar se forem movidos antes de arrefecerem



Os óculos de segurança são feitos de plástico inquebrável e curvados na parte lateral



Os óculos de proteção panorâmicos cobrem os óculos graduados e são feitos de plástico inquebrável, conferindo uma cobertura frontal e lateral

Calçado

Os sapatos têm de cobrir os dedos e o dorso do pé e ter um apoio de calcanhar fechado de modo que o calçado não se desprenda facilmente do pé.

Calçado como chinelos e sandálias não confere proteção contra lesões físicas provocadas pelo embate dos dedos em estruturas sólidas, queda de objetos pesados sobre os pés, cortes por objetos afiados e salpicos de materiais/líquidos infecciosos.



Calçado apropriado



Calçado inadequado

Resumo

O uso correto do EPI proporciona uma barreira importante contra aerossóis e contaminações. Contudo, o seu uso não protege o utilizador de práticas de trabalho inseguras.

4

UTILIZAÇÃO DA CABINE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Este capítulo fornece conselhos práticos sobre o posicionamento, o uso e a manutenção de Cabines de Segurança Biológica.

	PÁGINA
Mitos de segurança	60
Alarmes e funcionamento da CSB	60
Como funciona a proteção numa CSB	60
Localização da CSB	62
Ergonomia	64
Trabalhar numa CSB	66
Separação das áreas de trabalho	68
Movimento do corpo na CSB	69
Configuração da CSB	70
Após trabalhar numa CSB	73
Fumigação	74
Certificação	75
Resumo	76

Mitos de segurança

Um dos mitos mais persistentes entre os técnicos de laboratório em todo o mundo é que a CSB confere uma proteção total contra o material infeccioso que nela se encontra. Isto não é verdade.



UMA PRÁTICA DE TRABALHO SEGURA É A SUA MELHOR PROTEÇÃO

Trabalhar numa CSB com uma técnica incorreta irá expô-lo a uma possível infeção.

- Uma CSB só é capaz de manter o nível de esterilização criado por si, não pode produzi-lo sozinha
- As suas ações têm sempre de complementar o funcionamento da CSB
- Ao adotar uma prática de trabalho segura está a prevenir a contaminação cruzada

Alarmes e funcionamento da CSB

A maioria das CSB estão equipadas com alarmes visuais e auditivos. Os alarmes da CSB avisam-no de que já não é seguro trabalhar nela e que as funções de proteção podem não estar devidamente operacionais.

Antes de usar a CSB, deve familiarizar-se com os alarmes. Consulte as instruções do fabricante para garantir que compreende inteiramente o modo de funcionamento da CSB antes de a usar.

O laboratório tem de dispor sempre de uma cópia das instruções do equipamento.

Os alarmes são instruções — tem de agir sempre que ouvir um alarme.



QUANDO UM ALARME É DESENCADEADO, PARE IMEDIATAMENTE O TRABALHO E NOTIFIQUE O SUPERVISOR OU O COORDENADOR DO LABORATÓRIO

NÃO CARREGUE NO BOTÃO PARA DESLIGAR O SOM NEM CONTINUE A TRABALHAR

Como funciona a proteção numa CSB

As CSB são categorizadas em Classe I, Classe II ou Classe III.

Classe I

As CSB de classe I aspiram o ar da sala não filtrado através da abertura frontal, fazem-no passar pela superfície de trabalho e expõem-no através de uma conduta de exaustão e de um filtro HEPA.

As CSB de classe I protegem o técnico, mas não protegem a área de trabalho contra a contaminação, pois fazem passar o ar da sala não filtrado pela Cabine e, consequentemente, pela superfície de trabalho.

Classe II

As CSB de classe II aspiram cerca de 70 % de ar purificado pelo filtro HEPA situado por cima da superfície de trabalho e cerca de 30 % de ar através da grelha frontal.

A classe II confere proteção ao utilizador, ao ambiente e à área de trabalho. Existem quatro tipos de CSB de classe II: A1, A2, B1 e B2. O mais adequado para todos os trabalhos relacionados com a TB é o tipo A2.



RECOMENDAM-SE AS CSB DE CLASSE II TIPO A2 PARA TODOS OS TRABALHOS RELACIONADOS COM A TB

Classe III

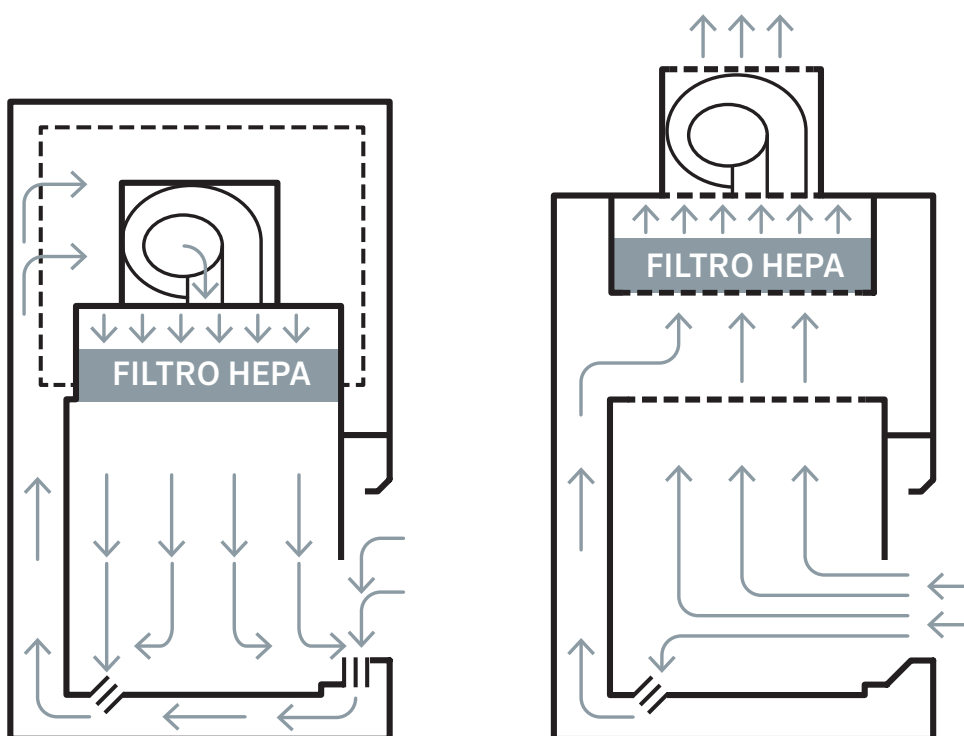
Também chamadas de “caixas de luvas”, estas câmaras são instaladas apenas em laboratórios de alta segurança.



NÃO USE CSB DE CLASSE III EM LABORATÓRIOS DE TB

A CSB deve estar ligada a uma fonte de alimentação estável, de preferência através de uma UPS autónoma com capacidade suficiente para garantir que a CSB consegue operar durante pelo menos 15 minutos.

Quando ocorre uma falha de energia, o trabalho deve parar imediatamente, devendo os 15 minutos ser usados para remover os aerossóis da cabine.



Recomendam-se as CSB de **classe 2** para todos os trabalhos relacionados com a TB, pois estas protegem tanto o técnico como a área de trabalho



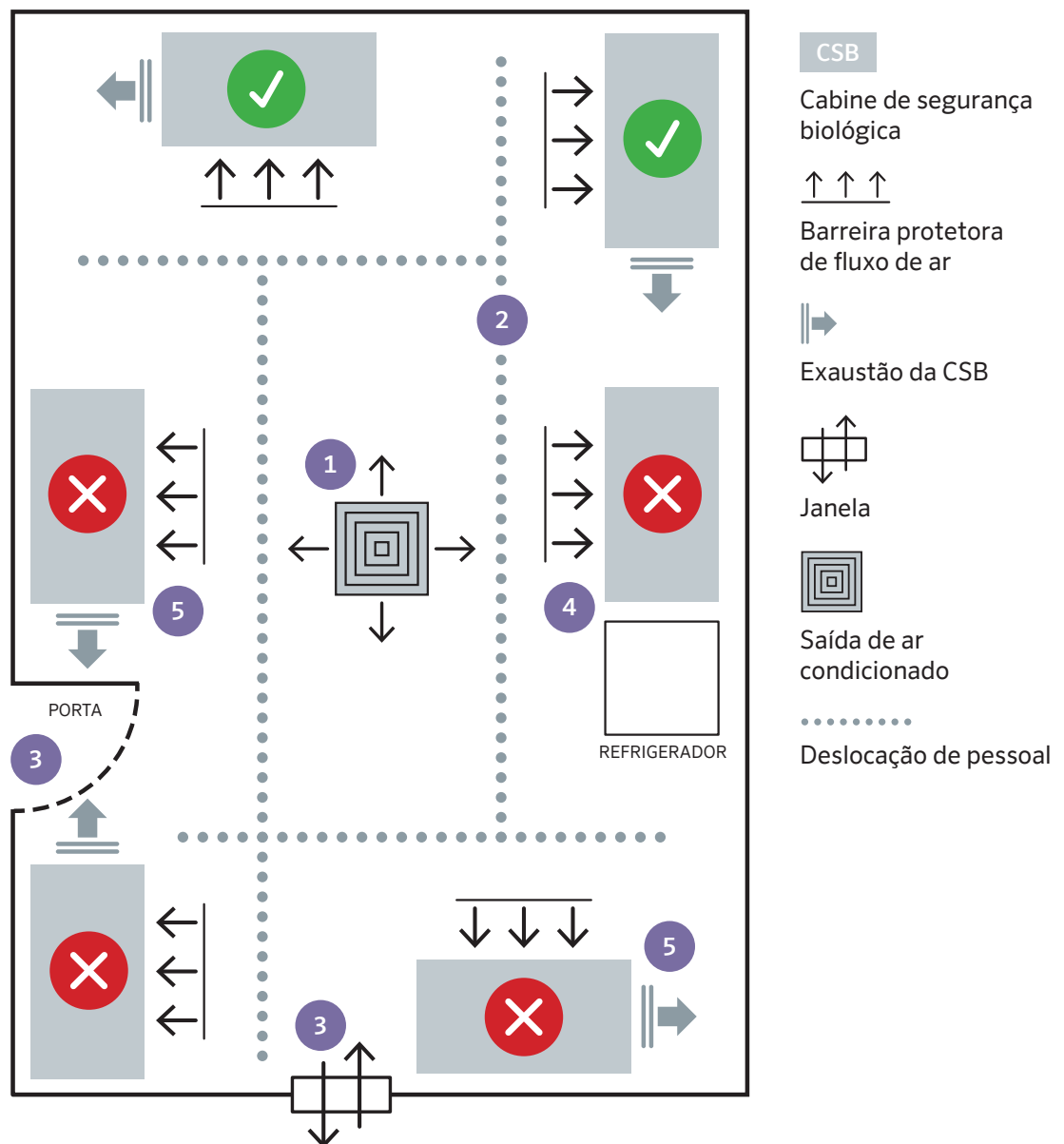
As CSB de **classe 1** protegem o técnico, mas não protegem a área de trabalho contra a contaminação, pois aspiram ar da sala não filtrado, fazendo-o passar pela superfície de trabalho

Localização da CSB

Ao pensar na localização da CSB no laboratório, terá de considerar que todas as deslocações de ar poderão comprometer a sua eficácia.

O fluxo de ar que ajuda a conferir proteção quando se trabalha numa CSB é uma cortina frágil. A sua capacidade de proteger é facilmente comprometida por outra deslocação de ar. Os grandes volumes de ar deslocados por ares condicionados e ventiladores representam um risco evidente. Porém, a frágil cortina de ar protetora pode ser quebrada por algo tão simples como abrir e fechar portas ou caminhar muito perto de uma CSB. Uma CSB não pode ser colocada perto de áreas de grande movimento.

Posicionar uma CSB no laboratório



Localização da CSB

A figura ao lado ilustra alguns dos desafios habituais com que irá deparar ao tomar a decisão.

1 Deslocação de ar

Os ares condicionados forçam o ar a deslocar-se através da sala, possivelmente comprometendo a cortina de ar a mais de 3 metros de distância.

2 Deslocação de pessoas

Caminhar provoca deslocação de ar

Guarde uma distância de 1,5 metros entre a CSB e as áreas de maior movimento no laboratório

Em laboratórios pequenos, restrinja a deslocação das pessoas no seu interior quando a CSB estiver em uso

3 Portas e janelas

Abrir e fechar portas pode criar uma deslocação de ar suficiente para perturbar a cortina de ar

As janelas abertas permitem que um fluxo de ar perturbador circule para dentro e para fora do laboratório

Feche e tranque sempre as janelas em laboratório de TB de risco moderado ou elevado

4 Localização de outros equipamentos

A exaustão de outra CSB ou outros equipamentos pode perturbar a cortina de ar

Ao posicionar uma CSB, tenha em conta a influência de todos os outros equipamentos e o seu efeito na deslocação do ar

5 Espaço livre

Colocar uma CSB muito perto de uma parede ou teto pode criar uma contrapressão que compromete o seu funcionamento

Guarde uma distância mínima de 35 cm de todos os lados e por cima da CSB

Apoio da CSB

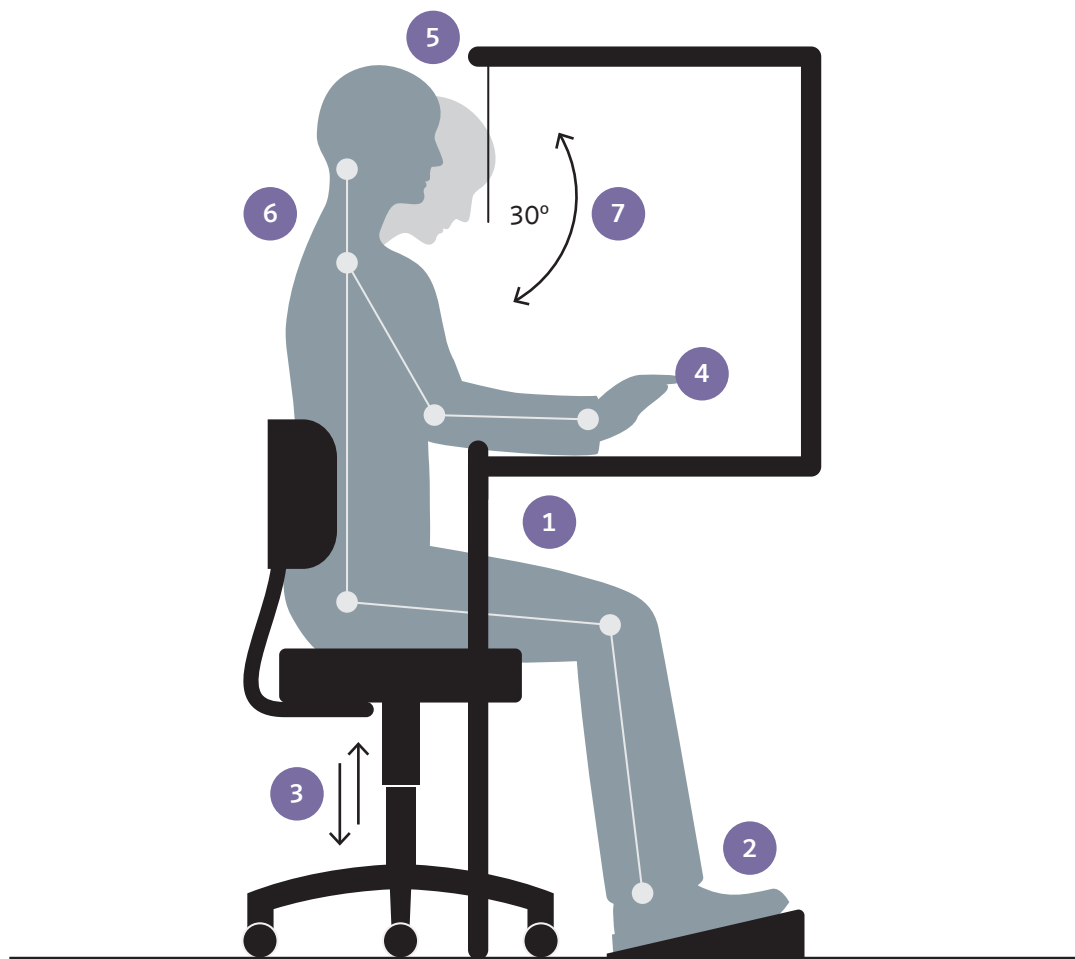
Uma CSB deve ser colocada numa mesa ou bancada própria capaz de suportar em segurança várias centenas de quilos

A mesa pode conter rodízios com travão para facilitar a deslocação da CSB no laboratório

Certifique-se de que a CSB está nivelada

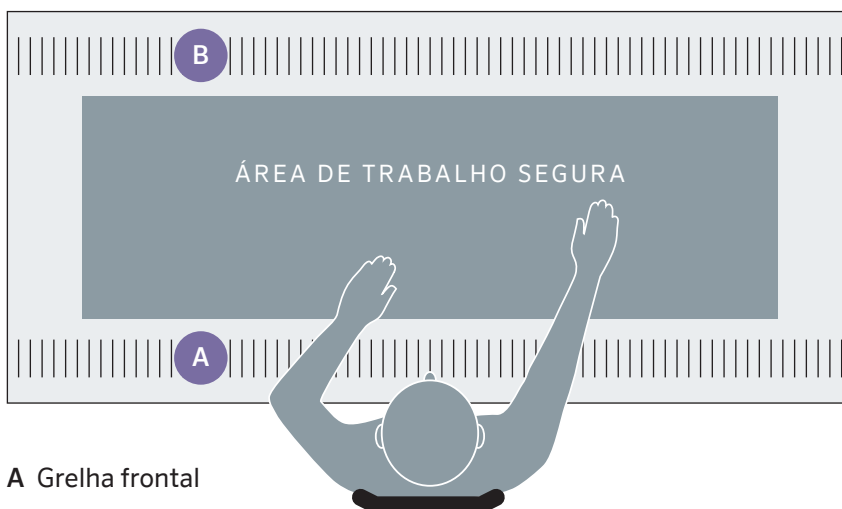
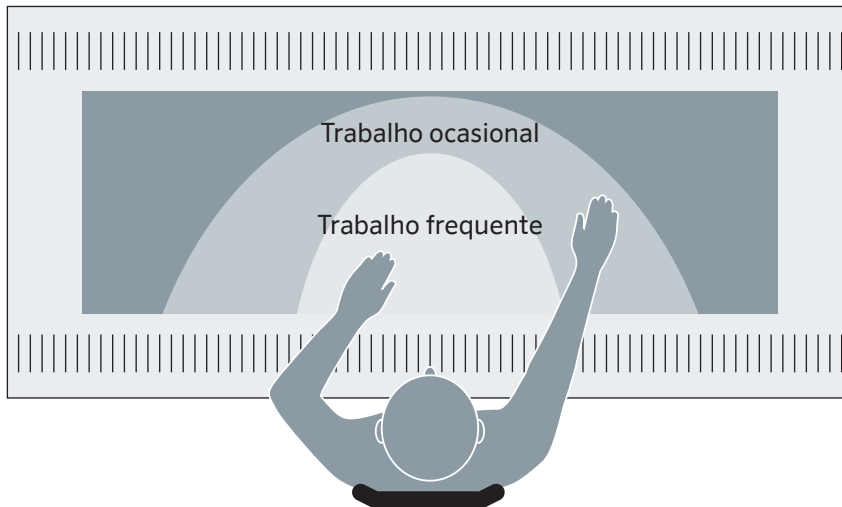
Ergonomia

Poderá ter de passar várias horas por dia a trabalhar numa CSB. Uma boa ergonomia é fundamental para que consiga concentrar-se no trabalho que está a executar e fazê-lo em segurança. Para evitar esticar-se, posicione a CSB perto do bordo da bancada.



- 1 Existe espaço suficiente debaixo da bancada para se sentar confortavelmente e mover as pernas?
Atente em armários e apoios de bancada que restrinjam os movimentos
- 2 Consegue apoiar os pés totalmente no chão?
Se não, use um apoio para os pés
- 3 A altura da cadeira é ajustável de forma que os antebraços fiquem apoiados na horizontal na parte da frente da CSB?
- 4 Os pontos de abastecimento de serviços na CSB (como tomadas) estão perto de si, de forma que não tenha de se torcer ou dobrar para os alcançar?
- 5 A iluminação na CSB está resguardada para protegê-lo da luz e do calor?
- 6 Consegue sentar-se mantendo as costas direitas e o pescoço, os ombros e os braços descontraídos?
- 7 Restrinja a amplitude das torções da cabeça e do corpo para menos de 30° em todas as atividades habituais

Distribua a sua área de trabalho na CSB para limitar os movimentos de extensão e torção.



A Grelha frontal

B Grelha traseira

■ Área de trabalho segura

Trabalhar numa CSB



Só deve trabalhar uma pessoa de cada vez na CSB; mais do que uma pessoa irão danificar a cortina de ar frontal e permitir a libertação de aerossóis.



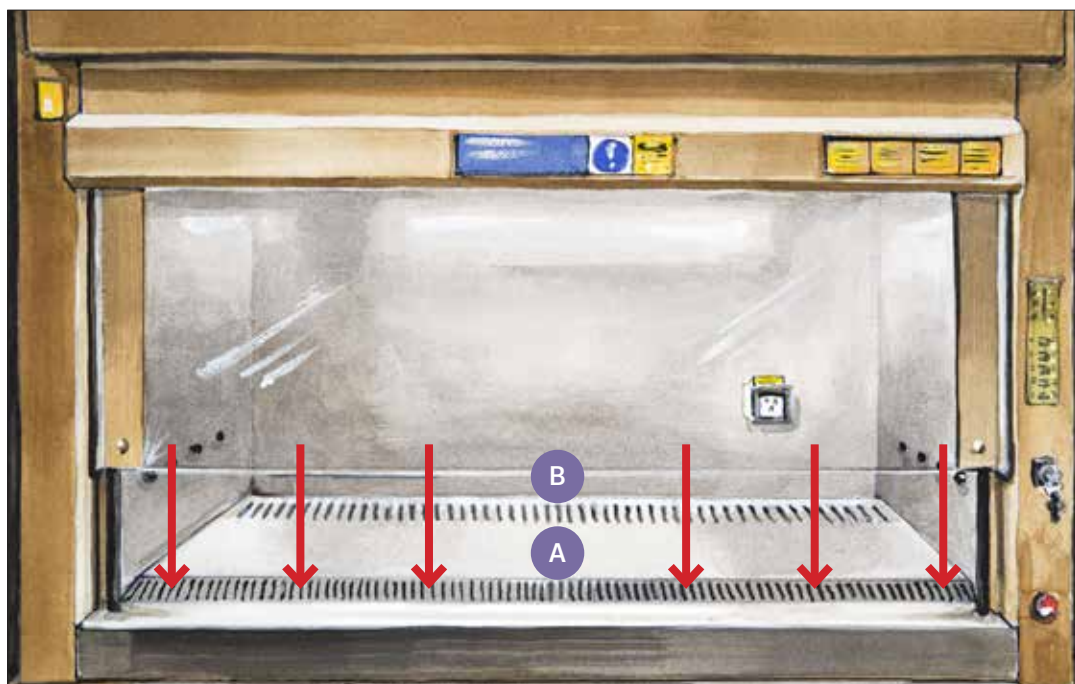
Numa CSB pequena, não há espaço suficiente para manter todos os materiais necessários dentro da cabine. Em vez disso, coloque utensílios limpos num carrinho a que possa aceder facilmente sem interromper o trabalho.



Grelhas

- A grelha frontal (A) ajuda a criar e manter a cortina de ar protetora
- A grelha traseira (B) ajuda a manter o fluxo laminar na CSB e aspira ar para a exaustão

Se as grelhas estiverem bloqueadas, mesmo que parcialmente, a sua eficiência é reduzida, comprometendo o desempenho da CSB.



A Grelha frontal B Grelha traseira ↓ Cortina de ar



Ambas as grelhas têm de estar sempre totalmente desobstruídas



Não trabalhe nem coloque objetos sobre a grelha

Chamas abertas

Não podem usar-se chamas abertas (nuas) numa CSB.

- A deslocação de ar quente pode prejudicar os fluxos de ar na CSB
- O ar quente dos bicos de Bunsen pode danificar o frágil filtro de HEPA



Se for necessário recorrer ao calor para esterilizar ansas, use um incinerador elétrico



Não podem usar-se chamas abertas (nuas) numa CSB



É ALTAMENTE RECOMENDADO O USO DE ANSAS E PIPETAS ESTÉREIS DESCARTÁVEIS

Separação das áreas de trabalho

A tarefa a realizar determina os materiais que necessita de ter na CSB. Colocar outros objetos na CSB aumenta o risco de contaminação cruzada.



A CSB NÃO É UM COMPARTIMENTO DE ARMAZENAGEM — REMOVA OS OBJETOS QUE NÃO SEJAM NECESSÁRIOS AO TRABALHO

O espaço na CSB é muito pequeno, pelo que importa separar as atividades relativamente “limpas” das “sujas”.



Configuração sugerida para um técnico destro a trabalhar da esquerda (limpa) para a direita (suja) — ordem inversa para um técnico esquerdino. As atividades típicas incluem

Lado esquerdo “Limpo”

Vortex
Recipiente com embalagem(s) de ansas estéreis descartáveis e pipetas descartáveis
Temporizador (chegado à frente)

Área central (área de trabalho principal)

Suporte com amostras (chegado atrás)
Suporte com tubos de centrifuga (chegado atrás)
Suporte com meios de cultura (chegado atrás)
Reagentes de descontaminação (chegados à frente)
Copos de centrifuga (chegado à frente)

Lado direito “Sujo”

Recipiente para eliminação de resíduos infecciosos
Recipiente para objetos afiados
Tabuleiro de lâminas

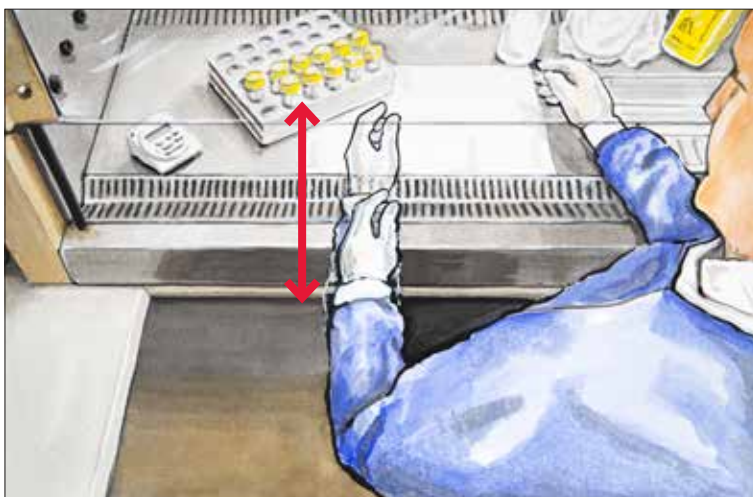
Movimento do corpo na CSB

A cortina de ar é muito frágil e fácil de perturbar.

Restringir os movimentos dos braços para fora e para dentro e de um lado para o outro ajuda a manter a cortina de ar.

Reduza ao mínimo todos os movimentos desnecessários dos braços — ao mover-se, faça-o devagar para permitir que a cortina de ar rodeie os seus braços com ar filtrado e protetor.

Assim que os seus braços estejam dentro da CSB, mantenha-se imóvel para que a cortina de ar se restabeleça e envolva as suas mangas/luas em ar filtrado.



Leve 2 a 3 segundos a completar o movimento



Minimize os movimentos laterais dos braços

Configuração da CSB

Tratamento de amostras

O tratamento de amostras para exames culturais passa por três etapas.

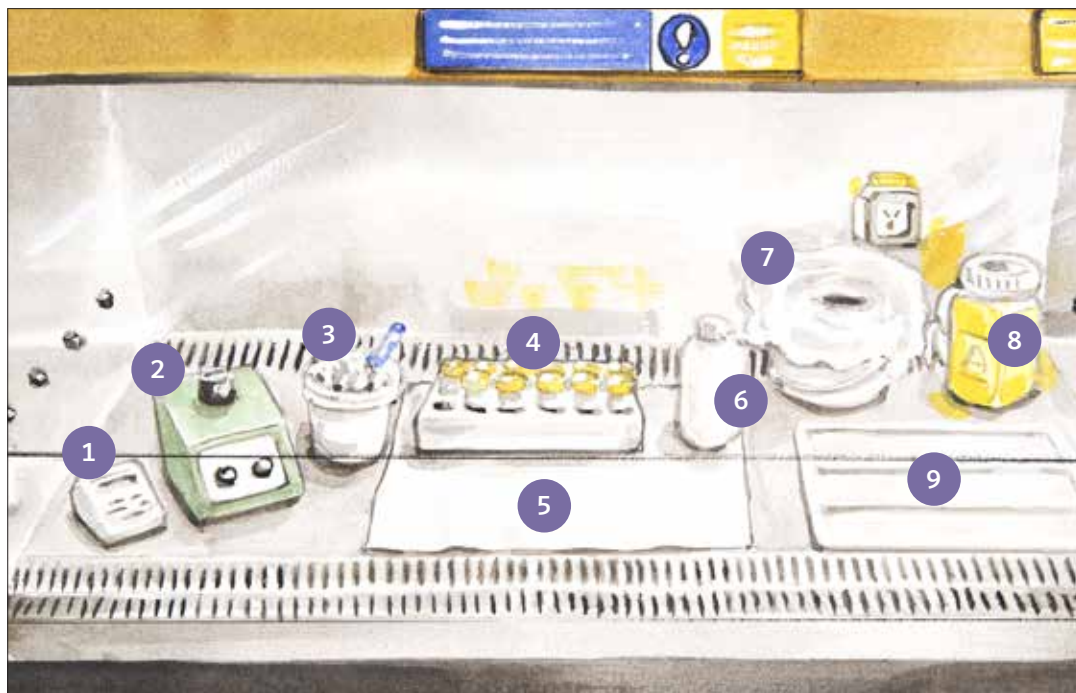
- 1 Descontaminação das amostras
- 2 Centrifugação
- 3 Inoculação de meios

Cada etapa do fluxo de trabalho requer materiais específicos. Remova da CSB todos os materiais que não sejam necessários à etapa específica que estiver a realizar.

Por exemplo

- O vortex só é necessário durante a descontaminação de amostras e após a centrifugação
 - Limpe-o com álcool a 70 % v/v e remova-o da CSB assim que a descontaminação esteja concluída
- Os reagentes de descontaminação só são necessários durante a fase de descontaminação de amostras
- Os meios sólidos ou líquidos só são necessários na CSB após concluída a centrifugação

Descontaminação de amostras



- 1 Temporizador
- 2 Vortex
- 3 Ansas e pipetas estéreis descartáveis
- 4 Suporte de tubos de centrifuga

- 5 Área de trabalho central com pano absorvente
- 6 Reagente de descontaminação
- 7 Recipiente para resíduos
- 8 Recipiente para objetos afiados
- 9 Tabuleiro de lâminas



Remove os materiais desnecessários

Centrifugação

Os copos de centrifuga têm de ser sempre carregados e descarregados dentro da CSB.



1 Vortex

2 Suporte de tubos de centrifuga

3 Área de trabalho central com copos de centrifuga

4 Reagente de diluição (PBS ou água estéril)

5 Recipiente para resíduos

6 Recipiente para objetos afiados

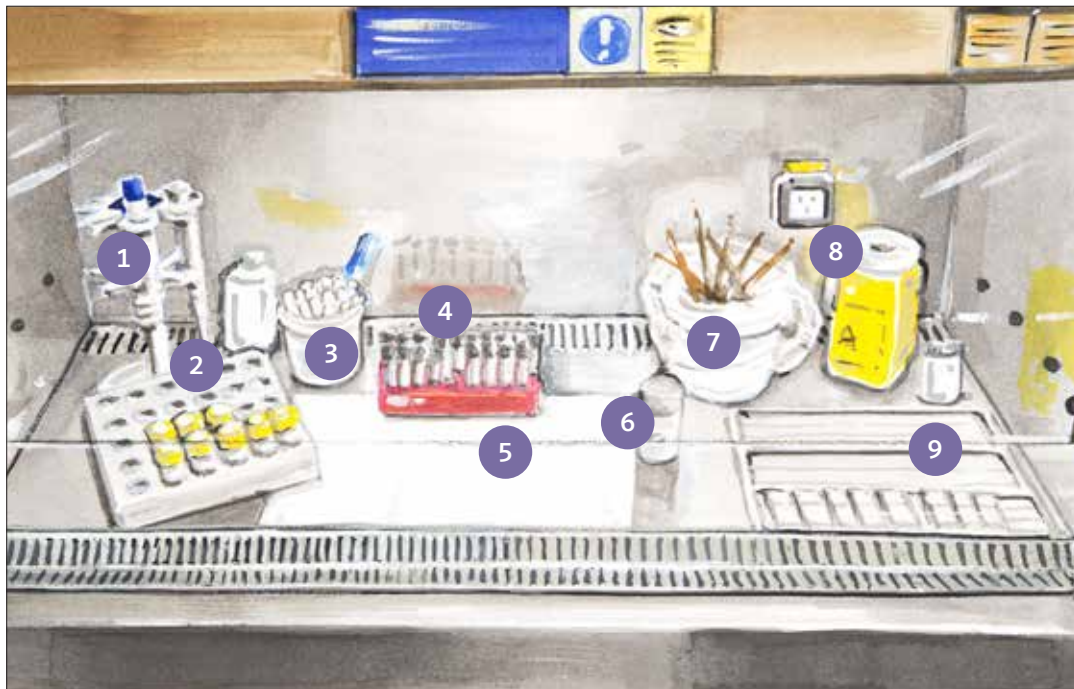


Remove os materiais desnecessários



A CSB NÃO É UM COMPARTIMENTO DE ARMAZENAGEM — REMOVA OS OBJETOS QUE NÃO SEJAM NECESSÁRIOS AO TRABALHO

Inoculação de meios



- | | |
|---|--|
| 1 Micropipetas | 6 Frasco pequeno de PBS ou água estéril |
| 2 Suporte de tubos de centrifuga | 7 Recipiente para resíduos |
| 3 Ansas e pipetas estéreis descartáveis | 8 Recipiente para objetos afiados |
| 4 Suporte com tubos de MGIT | 9 Tabuleiro de lâminas, se as baciloscopias forem preparadas a partir de concentrado |
| 5 Área de trabalho central | |



Remove os materiais desnecessários

TSA

Usando o exame cultural como exemplo, siga um procedimento semelhante para as várias etapas do TSA.

- 1 Adicionar soluções medicamentosas contra a TB aos tubos de MGIT
- 2 Preparar os inóculos
- 3 Inocular os meios para TSA

Cada etapa requer materiais específicos na CSB — remova todos os materiais que não sejam necessários à tarefa que estiver a realizar.

Após trabalhar numa CSB

**TEM DE LIMPAR E DESCONTAMINAR A CSB APÓS CADA USO**

Após finalizar o trabalho

- Deixe a CSB ligada durante 15 minutos para remover os aerossóis
- Não use a CSB nem remova nenhum material durante este período
- Após os 15 minutos, descontamine todos os materiais que se encontrem na CSB
- Depois, remova os materiais, deixando a CSB vazia
- Limpe a superfície de trabalho, as paredes internas e a face interna do vidro frontal da CSB (álcool a 70 % v/v)
- Use uma mopa extensível para alcançar as zonas de difícil acesso



Esvazie a CSB, deixando-a pronta para a limpeza



Não introduza nenhuma parte do corpo na CSB



Desinfetantes à base de cloro

As soluções à base de cloro, como a lixívia doméstica, são altamente corrosivas. Se as usar, enxague-as com água estéril ou álcool a 70 % v/v.



O cloro corrói o aço inox



Luz ultravioleta

As luzes UV não são recomendadas para CSB em laboratórios de TB.

- A radiação UV não penetra em superfícies sólidas e é ineficaz em organismos secos
- A exposição humana à radiação UV pode causar lesões oculares e queimaduras agudas na pele
- A radiação UV provoca a quebra de plásticos e outros materiais usados numa CSB
- A intensidade da radiação da lâmpada de UV diminui com o tempo, perdendo eficácia

Fumigação



A fumigação implica a descontaminação da CSB e só pode ser efetuada por um profissional qualificado.

A fumigação é necessária

- Após um grande derrame que represente risco biológico
- Após a substituição de filtros HEPA
- Quando for necessário aceder ao plenum vedado
- Para manutenção ou substituição de componentes
- Antes de transportar a CSB para outro laboratório
- Antes de mudar as atividades realizadas na CSB, p. ex., de TB para microbiologia de rotina
- Antes de enviar a CSB para venda ou recuperação

Certificação

O objetivo da certificação é protegê-lo ao assegurar que a CSB está a trabalhar corretamente.

Para verificar o desempenho da sua CSB, esta tem de ser certificada pelo menos uma vez por ano.

A CSB tem de ser avaliada por um técnico qualificado com base numa norma aceite a nível nacional ou internacional. O técnico é responsável por descontaminar a CSB antes da inspeção.

Cabe ao coordenador do laboratório organizar a certificação e avisar o pessoal de que a CSB está apta a ser usada em segurança.

É necessário efetuar a certificação da CSB

- Antes da primeira utilização após ter sido instalada
- Uma vez por ano
- Quando for deslocada dentro do laboratório
- Sempre que um filtro HEPA for substituído
- Sempre que for substituído um componente no plenum

A certificação tem de estar visível na CSB.

Resumo

Para efetuar exames culturais de TB e TSA é vital dispor de uma CSB a funcionar corretamente. Contudo, o nível de proteção que esta confere depende da competência do pessoal do laboratório. Se trabalhar na CSB adotando técnicas inseguras, ficará exposto a uma possível infecção.

5

FORMAÇÃO DE AEROSSÓIS E SUA PREVENÇÃO

Este capítulo tem por objetivo ajudar a compreender os riscos associados aos aerossóis, como estes se formam e como se pode diminuir a sua produção.

	PÁGINA
Formação de aerossóis	79
Minimizar a produção de aerossóis	79
Resumo	84

No laboratório de TB, todos os aerossóis devem ser considerados potencialmente infecciosos. Os aerossóis são passíveis de ser inalados e de provocar uma infecção. Uma vez depositados numa superfície, os aerossóis não voltam a aerossolizar e deixam de ser infecciosos. Porém, podem contaminar amostras, equipamentos, consumíveis e reagentes, criando um risco de contaminação cruzada.

Os aerossóis podem formar-se durante procedimentos como pipetagem, uso do vortex, centrifugação ou agitação de amostras ou culturas.

Os fatores-chave na infecciosidade dos aerossóis são

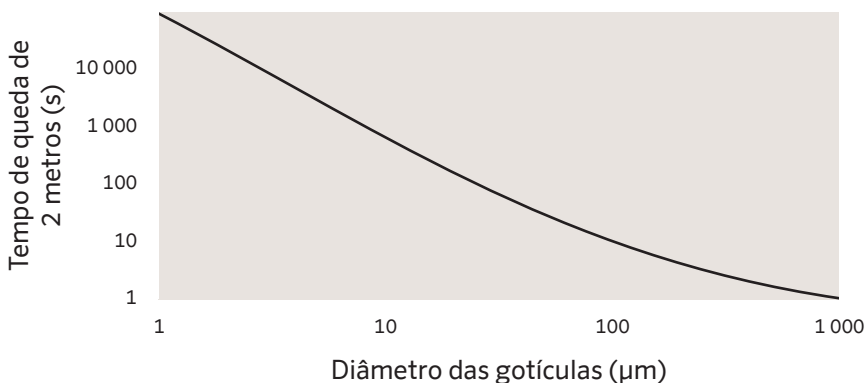
- O tamanho
- A carga bacilar
- A viscosidade

Tamanho

Quanto menor o aerossol, mais tempo consegue permanecer suspenso.

- Aerossóis menores conseguem penetrar mais fundo nos pulmões, aumentando o risco de infecção
- Os aerossóis só são infecciosos para os humanos quando em suspensão

Sedimentação das gotículas de água no ar saturado



Carga bacilar

A carga bacilar varia conforme a concentração de organismos no material manuseado.

- Para amostras com baciloscopia positiva, a carga bacilar de uma amostra escassa é de 10^3 - 10^4 organismos por ml, podendo, contudo, chegar a 10^6 por ml numa amostra com baciloscopia positiva +++
- As culturas com baciloscopia positiva têm uma carga bacilar muito superior (10^8 - 10^{10} organismos por ml), pelo que os aerossóis formados a partir de culturas apresentam maior risco de infecção

Viscosidade

A viscosidade de um material influencia a sua capacidade de formar aerossóis.

A viscosidade das amostras de escarro reduz a probabilidade de formação de aerossóis.

Em contrapartida, o risco de aerossolização é muito maior ao manusear uma cultura líquida com baciloscopia positiva.



A MAIORIA DOS AEROSSÓIS FORMADOS SÃO TÃO PEQUENOS, QUE SÃO INVISÍVEIS À VISTA DESARMADA

Formação de aerossóis

O fornecimento de energia a um líquido cria aerossóis.

Mais energia = mais e menores aerossóis = mais núcleos de gotículas = maior risco

Os procedimentos e práticas de risco elevado que aumentam a probabilidade de formação de aerossóis (que se tornam em núcleos de gotículas) incluem

- Utilizar o vortex, centrifugar, agitar (procedimentos mecânicos)
- Verter/dispensar
- Pipetar

Minimizar a produção de aerossóis

Trabalhar em segurança para minimizar a produção de aerossóis é uma das ações mais importantes num laboratório de TB.

Recipientes

Qualquer recipiente passado no vortex, centrifugado ou agitado tem de ter uma tampa à prova de fuga e ser suficientemente forte para resistir às forças mecânicas sobre ele exercidas.

Após a utilização do vortex ou agitação

Amostras

- Espere pelo menos 10 minutos antes de abrir a tampa de uma amostra passada no vortex ou agitada

Culturas

- Espere pelo menos 15 minutos antes de abrir a tampa de uma cultura ou organismo em suspensão passado no vortex ou agitado



AMOSTRAS, CULTURAS OU ORGANISMOS EM SUSPENSÃO PASSADOS NO VORTEX OU AGITADOS DEVEM SER SEMPRE ABERTOS NUMA CSB

Centrifugação

Se uma amostra tiver sido centrifugada num copo de biossegurança com tampa, este pode ser levado para uma CSB e aberto imediatamente.



AS CENTRÍFUGAS SEM UM COPO DE BIOSSEGURANÇA COM TAMPA NÃO DEVEM SER USADAS PARA TB



Abra os copos de biossegurança apenas na CSB

Verter/dispensar

Qualquer ação que transfira líquido de um recipiente para outro.

Nunca verta uma solução diretamente noutra, pois isso produzirá aerossóis.



SE ESTIVER A FORMAR BOLHAS, ESTÁ TAMBÉM A PRODUZIR AEROSSÓIS

Alguns exemplos são

- Introduzir uma solução descontaminante num escarrador ou num tubo de centrífuga
- Verter o sobrenadante num desinfetante após a centrifugação
- Introduzir água estéril ou tampão fosfato salino numa amostra descontaminada
- Diluir um inóculo de MTB durante a preparação para um TSA



Ao verter o líquido de um recipiente noutra, deixe-o sempre escorrer pela parede interna
O mesmo se aplica ao usar uma pipeta para transferir líquido de um recipiente para outro



Nunca verta um líquido de um recipiente diretamente noutra



Correto: expelir o líquido acima do menisco, deixando-o cair pela parte lateral do tubo



Errado: a ponta da pipeta está abaixo do menisco



Errado: dispensar um líquido diretamente noutro



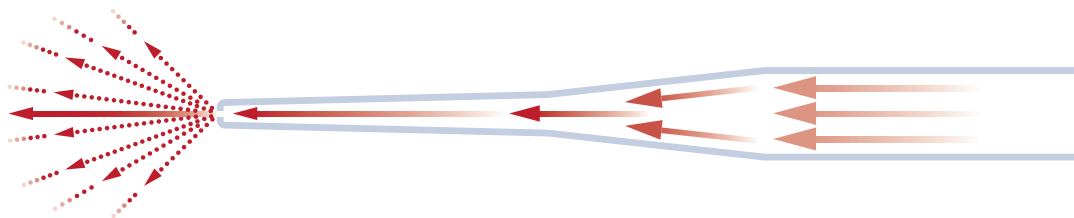
Errado: a pipeta está fora do tubo



Ao verter líquido num recipiente para resíduos, use um funil para aumentar a área de superfície da parede interna e evitar vertê-lo diretamente no recipiente na CSB

Pipetagem

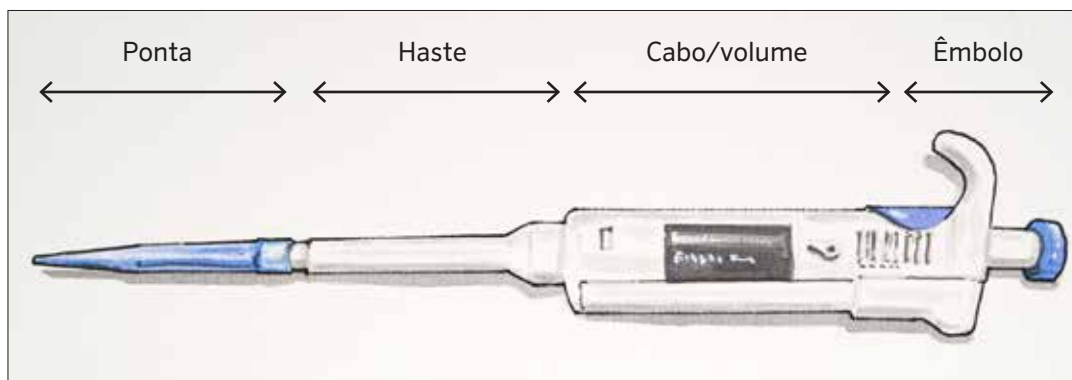
O uso de pipetas (p. ex., de Pasteur) ou de micropipetas acarreta um risco elevado de formação de aerossóis.



Sob a pressão de ar criada por um bolbo ou êmbolo de uma micropipeta, a passagem do fluido da câmara de condicionamento, ou haste, pela ponta pode imprimir-lhe grande velocidade e produzir aerossóis.



Estrutura elementar de uma pipeta descartável



Estrutura elementar de uma micropipeta

Para minimizar a formação de aerossóis

- Dispense o líquido da pipeta devagar
- Direcione-o para a parede interna no recipiente
- Certifique-se de que a ponta da pipeta está acima do menisco

Estes princípios aplicam-se a todos os tipos de pipeta.

Cerca de 20 % das infeções ocorridas em laboratórios têm causa evidente; as restantes 80 % resultam sobretudo da formação de aerossóis devido a práticas de trabalho inseguras. Minimizar a formação de aerossóis constitui, por isso, uma competência vital dos técnicos que trabalhem num laboratório de exames culturais de TB ou de TSA.

Reduzir a produção de aerossóis é fundamental para o bem-estar do pessoal que trabalha no laboratório e respetivos colegas. Além disso, evita que o doente receba falsos resultados positivos do laboratório, que ocorrem quando outras amostras, culturas, reagentes ou consumíveis são contaminados com aerossóis.



SE ESTIVER A FORMAR BOLHAS, ESTÁ TAMBÉM A PRODUZIR AEROSSÓIS

Resumo

Perceber como se formam os aerossóis é o primeiro passo para minimizar a sua produção. Sendo a maioria dos aerossóis invisíveis, o pessoal de laboratório geralmente ignora que estes estão a ser produzidos.

6

CAUSAS DA CONTAMINAÇÃO E SUA PREVENÇÃO

Este capítulo descreve a forma como ocorre a contaminação e as ações necessárias para prevenir a sua ocorrência no laboratório.

	PÁGINA
Manuseio de recipientes	86
Utilização de pipetas e micropipetas	88
Utilização de dados para detetar uma contaminação	95
Resumo	102

Os incidentes de contaminação no laboratório podem ser perigosos para o pessoal, para a credibilidade do laboratório e, possivelmente, para o doente.

Adotar boas práticas de trabalho reduz o risco de ocorrência de contaminação. Uma análise de dados feita por programas de qualidade pode permitir identificar contaminações desconhecidas.

Além disso, a observação regular das práticas de trabalho por supervisores do laboratório permitirá corrigir práticas inseguras.

A contaminação pode ser causada por práticas de trabalho inseguras que permitem que

- Microrganismos do ambiente (bactérias, fungos, micobactérias não tuberculosas) entrem em consumíveis ou reagentes, ou maculem superfícies de equipamentos ou o equipamento de proteção individual
- Material aerossolizado (amostras/culturas/inóculos) contamine amostras, culturas ou reagentes adjacentes



Manuseio de recipientes

Algumas partes de um recipiente nunca podem ser tocadas, como o interior ou a tampa. Outras podem ser menos óbvias, como a rosca.

Durante a colheita de amostras, é possível que a parte externa da rosca (e a superfície exterior do tubo) fique contaminada com escarro; o fechamento da tampa irá espalhar a amostra por toda a rosca, tal como a remoção da mesma. O perigo agrava-se ao trabalhar-se com culturas com baciloscopia positiva, sobretudo líquidas.



Derrame de escarro para fora do recipiente

É vital usar luvas com o tamanho certo. Mantenha os dedos protegidos com luvas afastados da rosca.

Ao manusear um recipiente, inclusive um tubo de centrífuga e de cultura, segure-o no meio, bem longe da rosca ou da boca.

Ao verter o conteúdo de um recipiente para outro, certifique-se primeiro de que as etiquetas coincidem e rode-as depois para fora do campo de visão.



A etiqueta fora do campo de visão permite ver com nitidez



Dedos protegidos por luvas longe da rosca e boa visibilidade do conteúdo do tubo

Ao remover a tampa de um recipiente ou tubo, nunca a pouse voltada para baixo. A rosca pode estar contaminada, pelo que transferiria uma parte da amostra ou cultura para a área de trabalho.



Utilização de pipetas e micropipetas

A contaminação por pipeta ou micropipeta pode ocorrer de três formas.

1

Da pipeta para a amostra

Usar uma pipeta ou uma ponta contaminada pode resultar na contaminação de uma amostra, cultura ou inóculo.

Previna-o

- Usando pipetas/pontas estéreis
- Segurando corretamente na pipeta
- Considerando cada pipeta ou ponta como sendo de utilização única

2

Da amostra para a pipeta

A amostra, inóculo ou aerossol pode penetrar no mecanismo interno da micropipeta ou no bulbo da pipeta.

Previna-o usando pipetas ou pontas com filtros para evitar a saída de líquidos/aerossóis da extremidade da pipeta/ponta.

3

De uma amostra para outra (contaminação cruzada)

Este tipo de contaminação ocorre ao dispensar a amostra ou inóculo.

O cruzamento ocorre quando parte da amostra/inóculo permanece agarrada ao interior da pipeta/ponta na forma de gotícula. A mesma pipeta/ponta é depois usada no manuseio de outra amostra/inóculo.

Previna a contaminação cruzada substituindo a pipeta/ponta após tê-la inserido em qualquer líquido potencialmente não estéril.

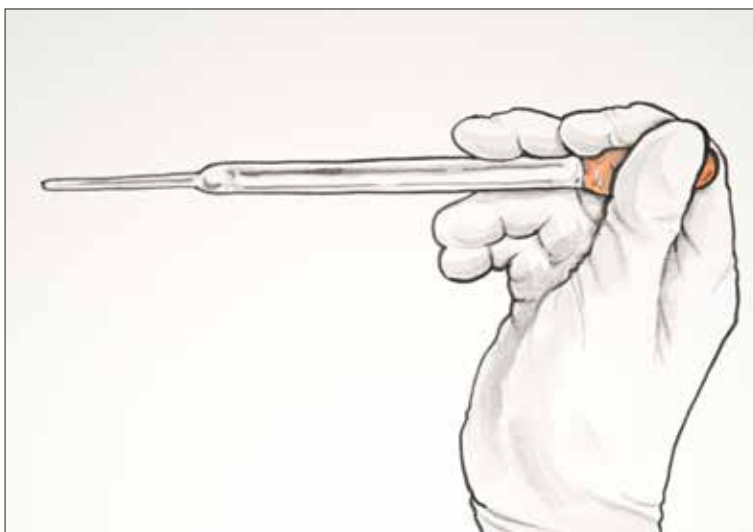
Pipetas

Recomenda-se o uso de pipetas de plástico descartáveis e de utilização única.

As melhores são as de peça única com bulbo moldado. Os bulbos devem fazer parte das pipetas, assegurando que não é necessário nenhum bulbo separado. As pipetas de plástico descartáveis podem ser embaladas individualmente ou agrupadas em sacos. Uma vez aberto, volte a selar o saco quando não estiver a uso.

As pipetas de Pasteur de vidro não são recomendadas, pois partem-se com facilidade, originando arestas afiadas. Além disso, requerem um bulbo separado, que pode ficar contaminado e provocar contaminação cruzada.

Segurar corretamente uma pipeta é vital para garantir que o líquido é depositado no recipiente de forma segura.



Segure na pipeta com o polegar e o indicador, usando o dedo médio para orientar o posicionamento

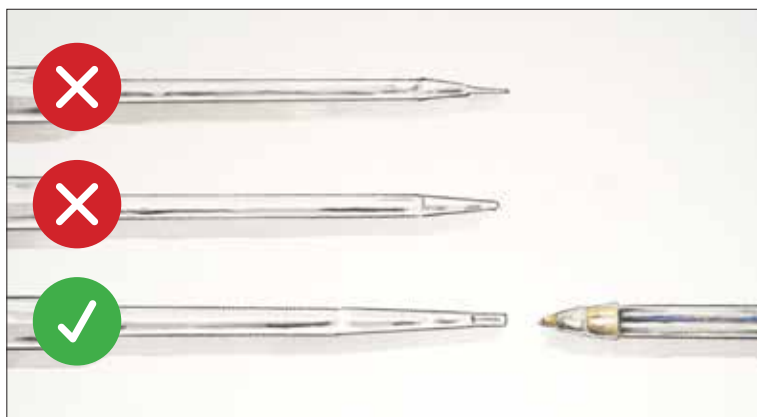


Controlo incorreto da pipeta



NUNCA TOQUE NA PONTA DE UMA PIPETA OU MICROPIPETA

Na inoculação de meios sólidos e líquidos não pode usar-se uma micropipeta — a ponta possui uma abertura muito pequena, que pode ficar facilmente obstruída, correndo o risco de ser projetada para fora da pipeta e originar um derrame infeccioso na CSB. Use uma pipeta de plástico estéril e graduada para inocular amostras descontaminadas em meios, pois esta possui uma ponta muito mais aberta que permite a passagem do conteúdo.



Use pipetas com ponta mais aberta para inocular meios

Após transferir o líquido da pipeta, coloque-a diretamente num recipiente de resíduos contendo desinfetante.



Não use pipetas de vidro no laboratório de TB.

Caso não haja alternativa, as extremidades têm de ser tamponadas com algodão.

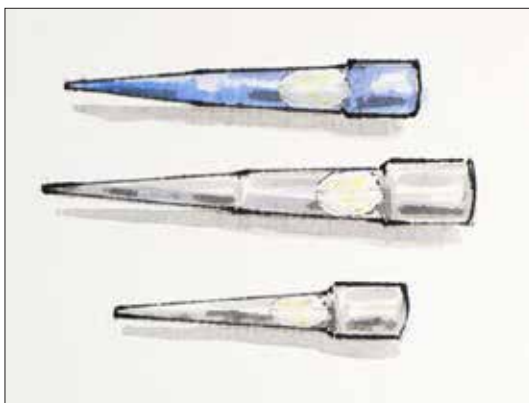


Tampão de algodão totalmente inserido

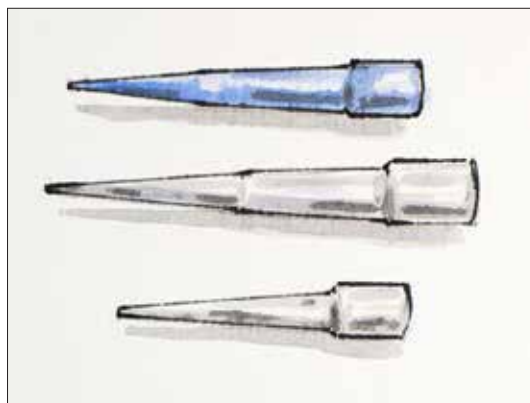
Micropipetas

As micropipetas são instrumentos de precisão para aspirar e dispensar líquidos com exatidão, usando pontas de plástico estéreis e descartáveis. O seu uso está limitado às soluções não viscosas.

A forma e o tamanho da ponta descartável dependem do volume aspirado e da forma e tamanho do recipiente que contém o líquido.



Pontas de micropipeta com filtro



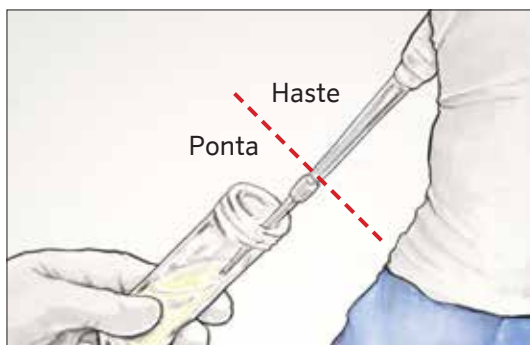
Pontas de micropipeta sem filtro

As pontas com filtro protegem eficazmente as micropipetas contra a contaminação. Estas pontas evitam que os aerossóis ou líquidos contendo microrganismos penetrem nos mecanismos internos da haste.

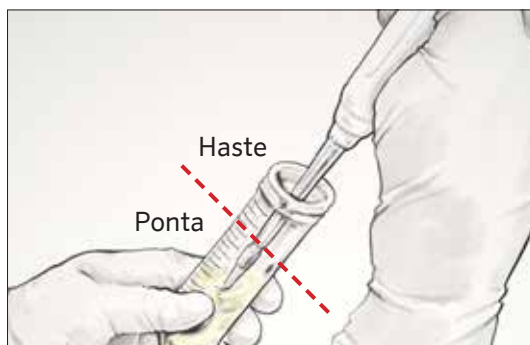
Certifique-se sempre de que a ponta se encontra dentro do recipiente e acima do menisco antes de libertar lentamente o conteúdo. Nunca insira a haste no recipiente.



INSIRA APENAS A PONTA DESCARTÁVEL NUM RECIPIENTE, NUNCA A HASTE



Insira apenas a ponta



Nunca insira a haste no tubo

A ponta de uma micropipeta tem um diâmetro interno estreito (<1 mm) e as amostras tratadas têm frequentemente uma consistência não homogênea, contendo porções >1 mm. Forçar uma amostra tratada a passar pela ponta de uma micropipeta irá bloquear a ponta, criando uma contrapressão suficiente para projetá-la da haste e produzir aerossóis infecciosos e um derrame.



NÃO USE MICROPIPETAS PARA INOCULAR AMOSTRAS TRATADAS EM MEIOS

Quando usar uma micropipeta

Em exames culturais, deve usar-se uma micropipeta apenas para

- Adicionar 800 µl de suplemento PANTA a um tubo de MGIT

Em TSA, deve usar-se uma micropipeta apenas para

- Preparar a diluição do inóculo
- Adicionar uma solução medicamentosa a um tubo de MGIT
- Adicionar o inóculo a um tubo de MGIT ou a um meio sólido

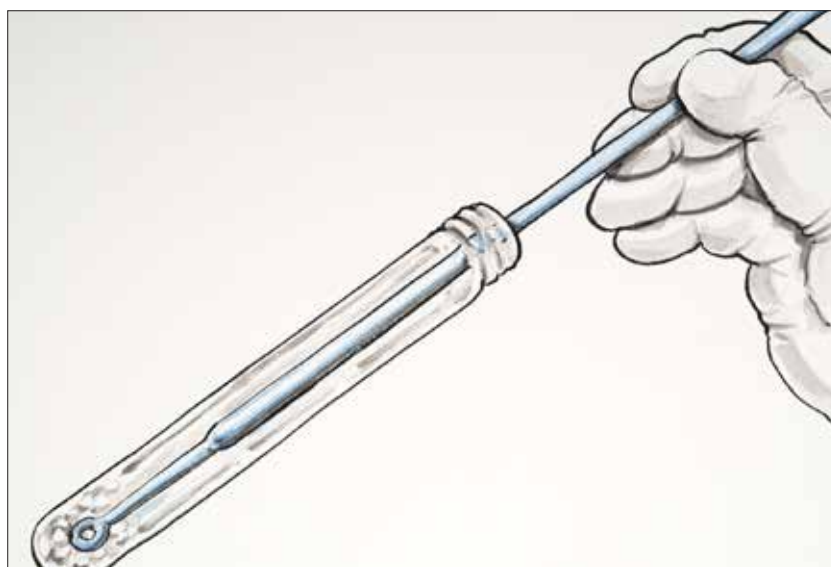
Ansas bacteriológicas

Usadas na preparação de baciloscopias de escarro e no manuseio de isolados.

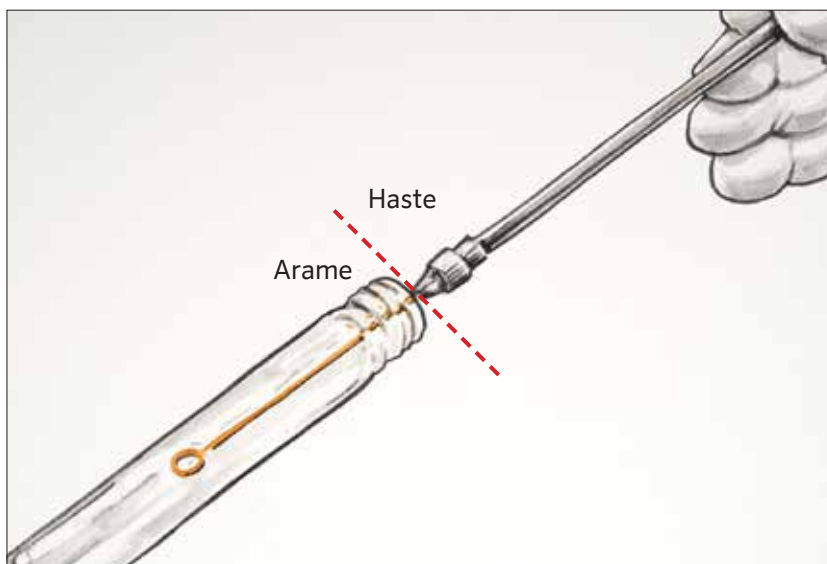
Podem ser de dois tipos: ansas de plástico de utilização única e ansas de arame reutilizáveis.

Nas ansas de arame reutilizáveis, que são esterilizadas num incinerador elétrico a cada utilização,

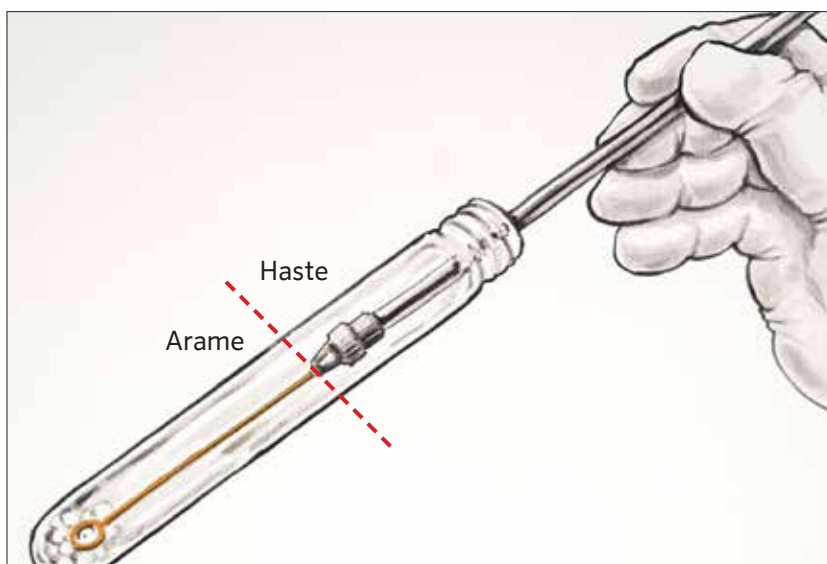
- O arame pode ser aquecido, mas não a haste



Ansas de plástico de utilização única — altamente recomendadas.
Pode inserir-se a haste da ansa descartável, pois esta será eliminada imediatamente após o uso.



Insira apenas o arame no tubo



Nunca insira a haste
Faça corresponder o comprimento da haste
ao tamanho do tubo



Incinerador elétrico

A não esterilização correta do arame ou a colocação da haste da ansa bacteriológica no recipiente pode resultar em contaminação.

Se houver uma falta temporária de ansas descartáveis, pode usar-se em alternativa uma zaragatoa de algodão humedecido e estéril para preparar o inóculo.

Utilização de dados para detetar uma contaminação

Rever os dados do laboratório é uma boa oportunidade para identificar uma ocorrência de contaminação que de outra forma permaneceria indetetável.

Estes organismos podem provir diretamente de uma amostra, do manuseio incorreto de uma cultura com baciloscopia positiva, bem como de reagentes contaminados, de consumíveis como pipetas ou de equipamentos.

Contaminação cruzada de culturas

Causada pela MTB

Exemplo: Uma amostra com baciloscopia positiva torna-se numa cultura com baciloscopia positiva no período de uma semana. Múltiplas amostras subsequentes têm baciloscopia negativa, mas tornam-se em culturas com baciloscopia positiva, requerendo geralmente um período de incubação mais longo antes de revelarem a positividade (tabela 6.1).

- NRL# 243: uma amostra com baciloscopia positiva +++ para BAAR revela positividade para a MTB após uma semana (1S) de incubação — Verdadeiro positivo
- As NRL# 244-248 têm todas baciloscopia negativa e tornam-se culturas com baciloscopia positiva após quatro a cinco semanas
 - Provável contaminação
 - Têm todas baciloscopia negativa, porém, tornam-se em culturas com baciloscopia positiva ao fim de quatro a cinco semanas
 - Todas derivam diretamente de uma amostra de escarro com baciloscopia positiva +++

Tabela 6.1 Contaminação cruzada de culturas com MTB

NRL	Data	Nome	Idade/Sexo	Dx/FU	Baciloscopia	Cultura	Comentários
236					Neg	N6S	
237					Neg	N6S	
238					Neg	N6S	
239					Neg	N6S	
240					Neg	N6S	
241					Neg	N6S	
242					Neg	N6S	
243					+++	MTB1S	Verdadeiro resultado positivo
244					Neg	MTB4S	Contaminação provável
245					Neg	MTB4S	Contaminação provável
246					Neg	MTB5S	Contaminação provável
247					Neg	MTB5S	Contaminação provável
248					Neg	MTB5S	Contaminação provável
249					Neg	N6S	
250					Neg	N6S	

Notas

- **N6S** – Nenhum crescimento (N) após incubação de 6 semanas (6S)
- **MTB1S** – Crescimento da MTB após uma semana (1S) de incubação

Causa possível	Soluções possíveis
Aerossóis libertados na CSB <ul style="list-style-type: none"> • Abrir um tubo de centrifuga imediatamente após tê-lo passado no vortex ou agitado para misturar o descontaminante com a amostra ou para ressuspender o sedimento após a centrifugação 	Esperar pelo menos 10 minutos antes de abrir uma amostra passada no vortex ou agitada ou um sedimento centrifugado
A contaminação do reagente ocorre a partir da NRL#243 <ul style="list-style-type: none"> • O reagente acabou após o tratamento da NRL#248 	Use apenas pequenos volumes de reagente; recomenda-se um limite de 5 a 10 volumes

No exemplo acima, se a contaminação cruzada não for detetada, os doentes #244-248 podem receber falsos diagnósticos de TB e um consequente tratamento desnecessário.

Quando ocorre contaminação cruzada com MTB, é importante que o pessoal sênior discuta os resultados com os clínicos para determinar se os achados laboratoriais são consistentes com a apresentação ou a evolução clínica.

Causada por microrganismos não micobacterianos

Exemplo: As amostras NRL# 243-251 estão todas contaminadas (Tabela 6.2).

Tabela 6.2 Contaminação cruzada de culturas com microrganismos não micobacterianos

NRL	Data	Nome	Idade/Sexo	Dx/FU	Baciloscopia	Cultura	Comentários
238					Neg	N6S	
239					Neg	N6S	
240					Neg	N6S	
241					Neg	N6S	
242					Neg	CAB1S	
243					+++	CAB3S	Contaminação provável
244					Neg	CAB3S	Contaminação provável
245					Neg	CAB3S	Contaminação provável
246					Neg	CAB3S	Contaminação provável
247					Neg	CAB3S	Contaminação provável
248					Neg	CAB3S	Contaminação provável
249					Neg	CAB3S	Contaminação provável
250					Neg	CAB3S	Contaminação provável
251					Neg	CAB3S	Contaminação provável

Notas

- **N6W** – Sem crescimento (N) após incubação de 6 semanas (6W)
- **CAB3S** – Culturas abandonadas (CAB) após três (3) semanas de incubação

Causa possível	Soluções possíveis
Aerossóis libertados na CSB <ul style="list-style-type: none"> • Abrir um tubo de centrífuga imediatamente após tê-lo passado no vortex ou agitado para misturar o descontaminante com a amostra ou para ressuspender o sedimento após a centrifugação 	Espere pelo menos 10 minutos antes de abrir uma amostra passada no vortex ou agitada ou um sedimento centrifugado
Um frasco de reagente aberto no início do tratamento fica contaminado pela amostra NRL# 242, contaminando subsequentemente todas as restantes amostras a tratar <ul style="list-style-type: none"> • Mostra a importância de usar pequenos volumes de reagente 	Use apenas pequenos volumes de reagente; recomenda-se um limite de 5 a 10 volumes
Um novo frasco de reagente (contaminado) é aberto e usado da NRL#242 em diante	Verifique sempre se os reagentes não usados revelam sinais claros de turvação ou crescimento de fungos



Note que a amostra com baciloscopia positiva +++ estava igualmente contaminada, dado que os contaminantes crescem mais depressa que a MTB. Este resultado atrasa o diagnóstico e a obtenção de um resultado de TSA.

As amostras de outros doentes foram igualmente contaminadas e tiveram de ser abandonadas, o que resultou no atraso dos diagnósticos, na repetição dos testes ou na procura de um diagnóstico diferencial.

Indicadores de qualidade para cultura

Estes indicadores de qualidade (tabela 6.3) são recomendados para culturas e devem ser recolhidos e analisados mensalmente. Os indicadores devem ser recolhidos por tipo de meio cultural, se for usado mais do que um, e também por tipo amostra, se o laboratório tratar um conjunto de amostras.

Tabela 6.3 Indicadores de qualidade em culturas

Indicador	Descrição	Objetivo
Número e percentagem de amostras de diagnóstico (novo e recidiva) com baciloscopia positiva para o MTBC	Número de amostras de diagnóstico com baciloscopia positiva para MTBC em cultura/Número de amostras de diagnóstico tratadas para cultura	10-15 %
Número e percentagem de amostras de diagnóstico (novo e recidiva) com baciloscopia positiva para BAAR e com baciloscopia positiva para o MTBC em cultura	Número de amostras com baciloscopia positiva para BAAR e com baciloscopia positiva para o MTBC em cultura/Número de amostras de diagnóstico com baciloscopia positiva tratadas para cultura	95-98 % (líquido) 85-90 % (sólido)
Número e percentagem de amostras de diagnóstico com baciloscopia negativa para BAAR e com baciloscopia positiva para o MTBC em cultura	Número de amostras com baciloscopia negativa para BAAR e com baciloscopia positiva para o MTBC em cultura/Número total de amostras, independentemente da baciloscopia, que revelaram baciloscopia positiva para o MTBC em cultura	20-30 % (líquido) 10-20 % (sólido)
Número e percentagem de culturas contaminadas que levaram a resultados impossíveis de interpretar	Número de tubos ou caixas de cultura inoculados que foram abandonados por contaminação/Número total de tubos ou caixas inoculados para cultura	3-5 % (sólido) 8-10 % (líquido)

Contaminação cruzada de TSA

Durante o TSA

A contaminação cruzada pode ocorrer quando uma MTB suscetível a medicamentos é inoculada noutra cultura ou diluição de cultura. Este tipo de contaminação cruzada é quase impossível de detetar, pois a sua ocorrência não é óbvia. A contaminação cruzada de uma MTB suscetível a medicamentos por outra MTB suscetível a medicamentos será “invisível”, na medida em que será desativada pelos medicamentos específicos contra a TB.

Contrariamente, a contaminação provocada por um organismo de TB resistente a medicamentos é detetada mais prontamente. (Tabela 6.4)

Tabela 6.4 Contaminação cruzada de testes de suscetibilidade antimicobiana por MTB resistente a medicamentos

NRL	Data	Nome	Idade/Sexo	STR	INH	RIF	EMB	Comentário
270	12/12/2018			S	S	S	S	
275	12/12/2018			S	S	S	S	
279	12/12/2018			S	S	S	S	
285	12/12/2018			S	R	S	S	
290	16/12/2018			R	R	R	S	Resultado verdadeiro
296	16/12/2018			R	R	R	S	Contaminação provável
303	16/12/2018			R	R	R	S	Contaminação provável
311	16/12/2018			R	R	R	S	Contaminação provável
315	16/12/2018			R	R	R	S	Contaminação provável
326	16/12/2018			R	R	R	S	Contaminação provável
333	16/12/2018			R	R	R	S	Contaminação provável
252	18/12/2018			S	S	S	S	Resultado verdadeiro
253	18/12/2018			S	S	S	S	Resultado verdadeiro

Notas

- A contaminação cruzada de TSA ocorreu num único dia (16/12/2018)
- Um perfil de TSA invulgar (resistência a S/H/R) propicia a contaminação cruzada
- Se for possível efetuar genotipagem, os isolados 290-333 devem ser testados para determinar se têm o mesmo perfil

Causa possível	Ação corretiva
Aerossóis libertados na atmosfera da CSB <ul style="list-style-type: none"> • Abrir um tubo imediatamente após tê-lo passado no vortex • Agitar uma cultura com baciloscopia positiva para preparar um inóculo para TSA 	Espere pelo menos 15 minutos antes de abrir uma cultura passada no vortex ou agitada
Um reagente foi contaminado por aerossóis a partir da NRL#290 e foi usado o resto do dia	Use pequenos volumes de reagente
Um reagente foi contaminado pela ponta de uma pipeta ou outro consumível que entrou em contacto com uma cultura com baciloscopia positiva	Use sempre uma boa técnica de pipetagem e recipientes de tamanho adequado em relação ao comprimento da ponta
Caso ocorra contaminação cruzada no TSA ao longo de vários dias, verifique se os reagentes estão a ser usados ao longo de vários dias	Descarte todos os reagentes que não sejam usados até ao fim após cada TSA



No exemplo acima, se a contaminação cruzada não for detetada, os doentes 296-333 podem ser erradamente diagnosticados com TB-MDR e tratados com um regime medicamentoso mais longo, mais tóxico e menos eficaz. O resultado pode ser financeiramente catastrófico para os doentes e as suas famílias.



Avaliar um resultado resistente a medicamentos

É necessária cautela sempre que se observa um resultado resistente a medicamentos. Num TSA-MGIT, os tubos de TSA contaminados produzem geralmente, mas não sempre, um resultado em quatro dias, que a máquina de MGIT declara inválido. Alguns microrganismos não micobacterianos demorarão mais de quatro dias, pelo que produzem um resultado no TSA.

Sempre que ocorrer um resultado resistente a medicamentos, sobretudo quando todos os medicamentos contra a TB testados fornecerem um resultado resistente a medicamentos, proceda da seguinte forma

- Certifique-se de que o caldo MGIT está limpo
 - É comum haver grânulos brancos no fundo do tubo
 - Se estiver turvo, prepare duas baciloscopias, uma para coloração de ZN e outra para coloração de Gram
- Fale com o supervisor do laboratório
 - Prepare uma caixa com ágar sangue ou ágar nutriente para verificar o crescimento de microrganismos não micobacterianos
- Se houver resistência à rifampicina (RIF), prepare uma diluição de 1:100 do caldo no tubo de RIF
 - Efetue um teste GeneXpert ou LPA para confirmar a resistência à RIF
 - Se for possível fazer a sequenciação do gene *rpoB*, realize uma análise de sequenciação urgente
- Alerta o clínico para o resultado e indique que o TSA será repetido ou que o isolado será enviado para um laboratório de nível superior para um TSA de segunda linha

Indicadores de qualidade para um TSA fenotípico

Estes indicadores (tabela 6.5) devem ser recolhidos e analisados mensalmente. Podem recolher-se outros indicadores secundários com menor frequência (p. ex., trimestralmente) como o número e percentagem de padrões invulgares de resistência a medicamentos. Contudo, esteja sempre a par dos resultados do TSA e suspeite sempre que forem registados conjuntos de perfis de TSA invulgares.



Avaliação de práticas de trabalho

Os supervisores de laboratório são responsáveis por formar o pessoal jovem até que atinjam um nível de competência que inclua a correta execução dos procedimentos operacionais padrão, o controlo de garantia da qualidade e a adoção de práticas de trabalho seguras. Completada a formação, os supervisores devem verificar periodicamente as práticas de trabalho, sobretudo do pessoal recém-formado.

Manter registos

A recolha e análise de dados laboratoriais, incluindo práticas de trabalho e indicadores de qualidade, tem de integrar o Sistema de Gestão da Qualidade de qualquer laboratório.

Tabela 6.5 Indicadores de qualidade para TSA fenotípicos

Indicador	Descrição	Objetivo
Número e percentagem de monorresistências e multirresistências a todas as combinações de medicamentos testadas (p. ex., monorresistência à INH, monorresistência à RIF, MDR)	Número de isolados resistentes a uma ou a múltiplas combinações de medicamentos/Número total de isolados testados	Dependente da população testada, da prevalência da resistência a medicamentos no país e dos padrões
Número e percentagem de isolados inoculados para TSA que foram abandonados por contaminação	Número e isolados abandonados por contaminação/Número total de isolados inoculados para TSA	<3 %
Número e percentagem de isolados inoculados para TSA impossíveis de interpretar devido à falta de crescimento nos tubos/placas de controlo (sem medicamentos)	Número de isolados abandonados devido à falta de crescimento em meios sem medicamentos/ Número total de isolados inoculado para TSA	<3 %
Tempo de resposta (TR) do laboratório	Tempo entre a inoculação para TSA e a comunicação de resultados (média, intervalo e 90º centil). Para TR TSA total, adicione este valor ao TR da cultura	Meios sólidos: 8-16 semanas Meios líquidos: 4-6 semanas

Resumo

As amostras ou culturas contaminadas por microrganismos do ambiente podem causar atrasos no diagnóstico. Muito mais preocupantes são, contudo, as amostras ou culturas contaminadas com MTB. Os doentes podem receber falsos resultados positivos que levam a tratamentos desnecessários e prolongados, ou ser erradamente diagnosticados com TB-MDR/XDR, com consequências catastróficas para o doente e a sua família.

7

RECIPIENTES E REAGENTES

A forma como utiliza os recipientes e administra os reagentes diminui o risco de contaminação cruzada.

O termo “recipiente” engloba materiais como tubos, garrafas, frascos e pipetas de todos os tipos.

	PÁGINA
Recipientes para líquidos	104
Outros tipos de recipiente	108
Reagentes	109
Resumo	110

Recipientes para líquidos

Os recipientes têm de ser “adequados à finalidade”.

Algumas características-chave são

- Tampas de encaixe e de rosca que reduzam o risco de aerossolização
- Disco de verter líquidos para um vazamento preciso
- Tamanho adequado
- Reutilizável ou de utilização única
- Vidro ou plástico

Tampas de encaixe e de rosca

Use tampas rosçadas ou tampas de encaixe à prova de fuga para todos os reagentes líquidos.

As tampas flip-top não são recomendadas, pois podem espalhar aerossóis quando são abertas ou fechadas.



Tampa rosçada



Flip-top

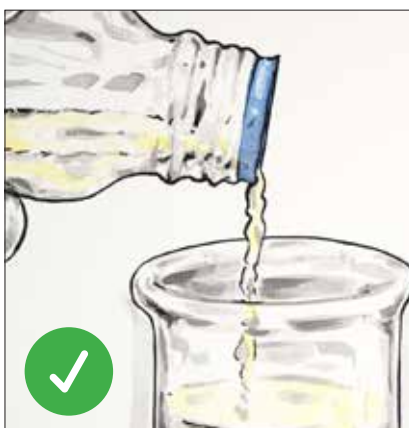


Coberturas inadequadas — tampão de algodão, algodão encerado, borracha

Não use coberturas como tampão de algodão, algodão encerado ou borracha em culturas ou reagentes.

Disco de verter líquidos

Os recipientes de bordo “afiado” reduzem o risco de vazamento descontrolado em relação aos de bordo arredondado.



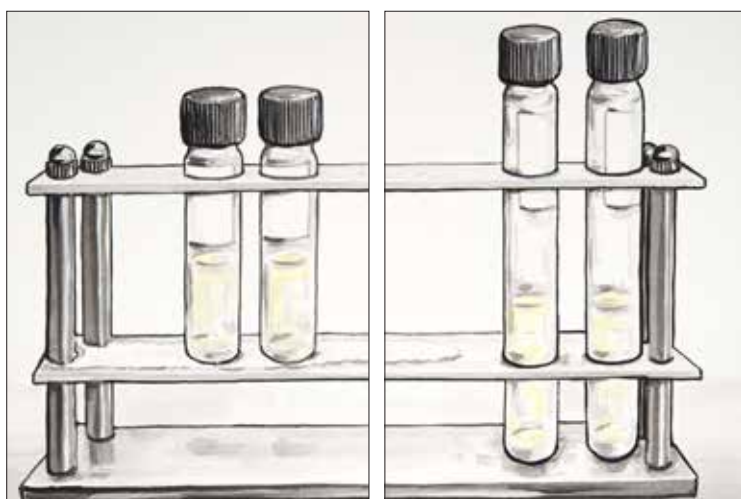


Os tubos de centrífuga têm um bom disco para verter reagentes

Tamanho

Tenha em consideração o tamanho, a forma e a constituição dos recipientes, bem como o método de transferência de reagentes de ou para um recipiente.

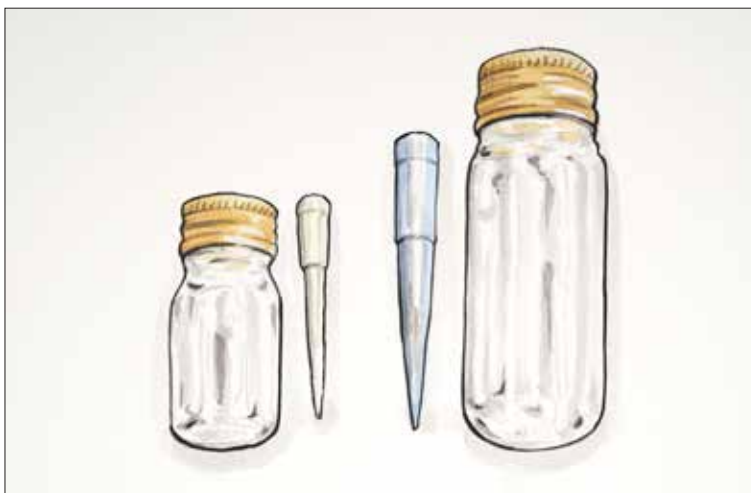
- Plástico ou vidro transparente permite-lhe ver o reagente, ajudando-o a posicionar a ponta de uma pipeta ou ansa bacteriológica
- A boca do recipiente é suficientemente larga para verter ou receber reagentes líquidos ou pipetas
- Os recipientes devem ser suficientemente grandes para conter a quantidade necessária de reagente e permitir a sua recolha com as pontas das micropipetas
 - Nunca insira a haste de uma micropipeta num recipiente



Os recipientes de pescoço curto são adequados



Os recipientes de pescoço longo são inadequados



Faça corresponder o tamanho do recipiente ao comprimento da ponta da micropipeta

Reutilizável ou de utilização única

Sempre que possível, devem usar-se recipientes de utilização única. Uma vez usados, os recipientes têm de ser descartados para eliminar o risco de contaminação cruzada.

Os recipientes reutilizáveis como os frascos McCartney (para cultura sólida) têm de ser suficientemente fortes para serem esterilizados em autoclave, desinfetados, lavados e reacondicionados múltiplas vezes.



OS RECIPIENTES DANIFICADOS TÊM DE SER ELIMINADOS

Recipientes de vidro ou plástico

Um recipiente de vidro pode ser reutilizado, um de plástico, não. A sua opção por um recipiente de plástico ou vidro será determinada pelo uso que dele fizer.

Plástico

Geralmente usado para

- Escarradores
- Centrifugação
- Volumes menores de reagente (<100 ml)

Vidro

Geralmente usado para

- Tubos com tampas roscadas (p. ex., frascos McCartney) para meios sólidos
- Volumes maiores de reagente (>100 ml)
- Podem ser reutilizáveis

Outros tipos de recipiente

Os materiais de utilização única como pontas de micropipeta apresentam risco elevado de contaminação se não forem usados corretamente.

Feche a tampa da caixa que contém as pontas quando não estiver a retirar nenhuma.



Abra a caixa para escolher uma ponta e feche depois a tampa



Risco de contaminação — nunca toque com os dedos ou o equipamento nas pontas que não estejam a uso

Reagentes



O número de amostras tratadas por dia irá determinar os volumes de reagente.

Para minimizar o risco de contaminação durante o uso, tenha em consideração

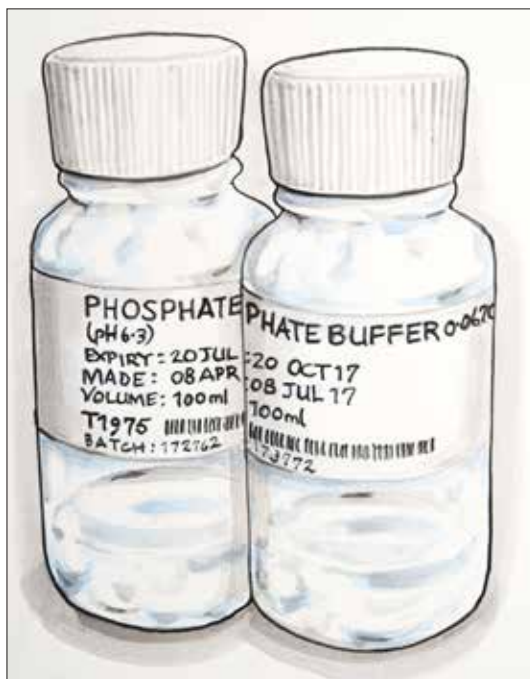
- A etiquetagem
- Os volumes de reagente necessários
- A carga de trabalho
- A gestão dos reagentes não utilizados

Etiquetagem

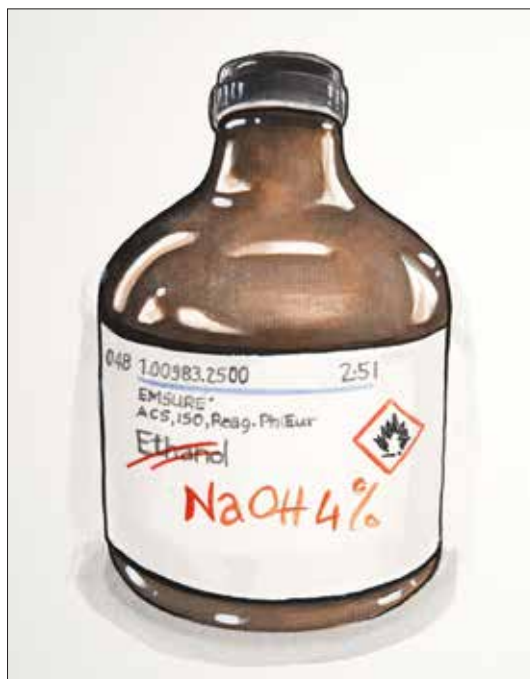
Uma etiqueta bem visível é fundamental para dar ao utilizador a confiança de que os reagentes são “adequados à finalidade”.

A etiqueta deve indicar

- O nome do reagente
- Quando foi produzido
- Quem o produziu
- A data de validade
- O número do lote
- As condições específicas de acondicionamento



Use etiquetas novas



Nunca apague ou modifique uma etiqueta

Volumes de reagente

Quando um dado volume de reagente é usado para tratar múltiplas amostras, pode ocorrer contaminação cruzada. Quanto mais vezes se aceder a um reagente, maior a probabilidade de ocorrer contaminação cruzada.

Diminuir o número de vezes em que se acede ao reagente limita o número de amostras potencialmente afetadas em caso de contaminação cruzada. Recomenda-se um limite de 5 a 10 volumes.

É aconselhável um volume máximo de 250 ml para qualquer reagente de trabalho.

Volumes maiores tornam-se difíceis de administrar e de verter ou manusear com precisão.

Reagente/amostra	Volume padrão geralmente necessário (ml)	Volume máximo recomendado (ml)
Descontaminante	<5	50
PBS ou água destilada estéril para etapa de neutralização/tubo de centrifuga	≤45	250
PBS para ressuspender o depósito centrifugado	≤2	20

Alguns laboratórios têm 50 ml de água estéril (ou PBS) num tubo Falcon para usar apenas numa amostra descontaminada.

- É a estratégia mais eficaz, mas também a mais dispendiosa



Faça corresponder o volume de reagente à carga de trabalho diária

Carga de trabalho

Com base no número médio de amostras tratadas por dia, calcule o volume de cada reagente usado e use esse número como volume máximo de reagente (acrescido de uma reserva de mais 10 %). Não exceda o volume de 250 ml. Os laboratórios com grandes volumes de trabalho devem seguir estes princípios orientadores nas práticas de trabalho.



Gestão dos reagentes parcialmente utilizados

Após completar o tratamento, elimine todos os reagentes usados apenas parcialmente.

Resumo

Adquirir recipientes com base na função e não apenas no preço.

8

UTILIZAÇÃO SEGURA DOS EQUIPAMENTOS

Este capítulo apresenta uma abordagem prática sobre o uso e a manutenção dos equipamentos laboratoriais. Os equipamentos de laboratório são onerosos e, uma vez adquiridos, têm de operar de forma fiável e duradoura. Os equipamentos têm de ser adequados à finalidade e usados corretamente para prevenir danos.

	PÁGINA
Centrífugas	112
Incubadoras	121
Vortex	125
Suportes	127
Micropipetas	129
Objetos afiados	130
Resumo	130

A falta de manutenção e de uma utilização segura dos equipamentos acarreta riscos para o pessoal do laboratório, com possível formação de aerossóis ou ocorrência de lesões físicas, bem como para os doentes, ao dar origem a resultados falsos.

Uma boa prática consiste em ter os equipamentos registados no sistema de fornecedores e/ou estar registado como cliente. O fornecedor divulga as atualizações dos equipamentos e fornece informações essenciais sobre questões de qualidade, p. ex., recomendações sobre um defeito de fabrico.

O laboratório deve conter uma cópia das instruções do fornecedor de todos os equipamentos.



LEIA E SIGA SEMPRE AS INSTRUÇÕES DO FORNECEDOR

Centrífugas



Dado que as centrífugas produzem aerossóis, as amostras têm obrigatoriamente de ser contidas num copo de biossegurança com tampa selada.



A centrífuga tem de ser capaz de alcançar e manter 3 040 FCR (força centrífuga relativa) durante 15 a 20 minutos para sedimentar a maioria dos bacilos álcool-ácido resistentes

FCR vs RPM

As rotações por minuto (RPM) e a FCR não são a mesma coisa. A FCR é usada para parametrizar a centrífuga.

A FCR é determinada pela RPM e pelo raio da centrífuga.

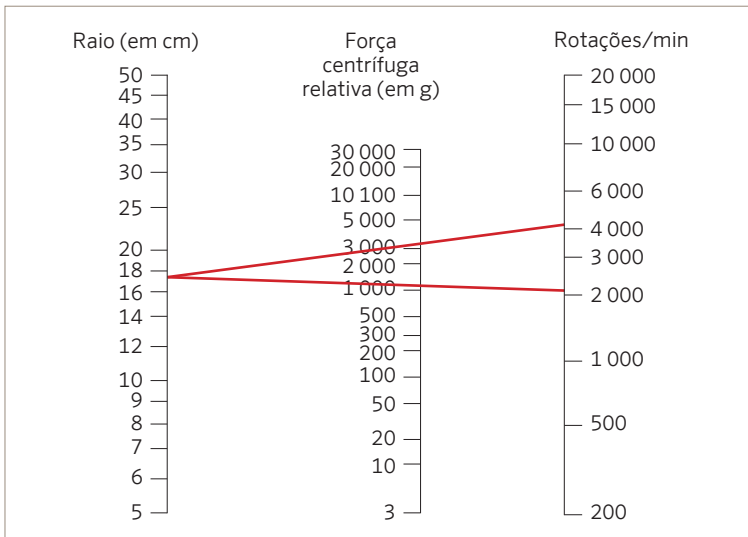
Por exemplo, uma centrífuga com raio de 17 cm a

- 2 000 RPM produz 760 RCF: <50 % dos BAAR sedimentados
- 4 000 RPM produz 3 040 RCF: >95 % dos BAAR sedimentados

A RCF pode ser calculada através da fórmula:

$$1,118 \times 10^{-5} \times \text{raio}_{(\text{max} - \text{cm})} \times \text{RPM}^2$$

Para um determinado valor de RPM, a FCR aumenta de forma não linear com o raio.



RPM 4 000



RCF >3 040<

Deve ponderar-se o uso de centrífugas refrigeradas em ambientes quentes ou quando se conduzem múltiplas centrifugações por dia.

- Os bacilos da TB podem morrer se expostos a temperaturas superiores a 38 °C, mesmo por um curto período
- Configure uma centrífuga refrigerada para 10 a 15 °C

Se usar uma centrífuga refrigerada

- Ligue-a pelo menos 30 minutos antes
- Mantenha os copos dentro da centrífuga durante o período de arrefecimento

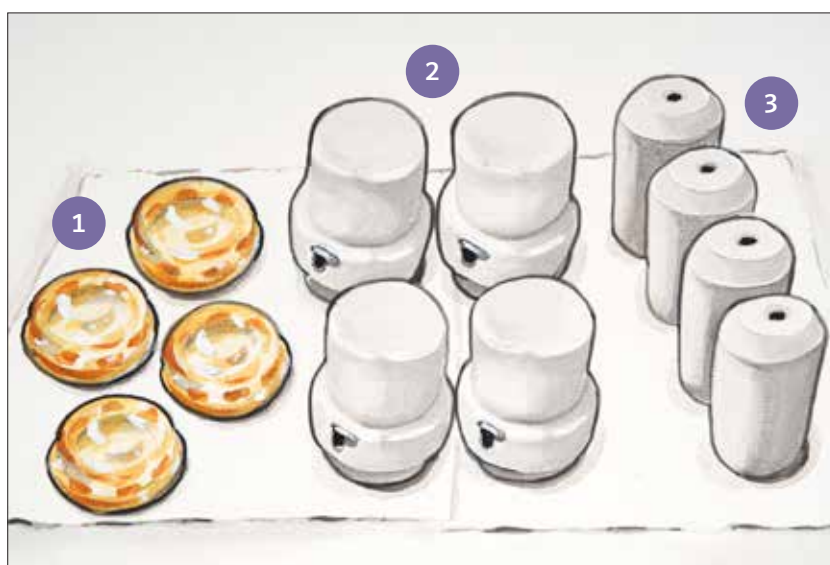


USE APENAS AS COMPONENTES DE CENTRÍFUGA RECOMENDADAS PELO FABRICANTE



Copos de biossegurança

São obrigatórios quando a centrífuga é usada para exames culturais de TB.



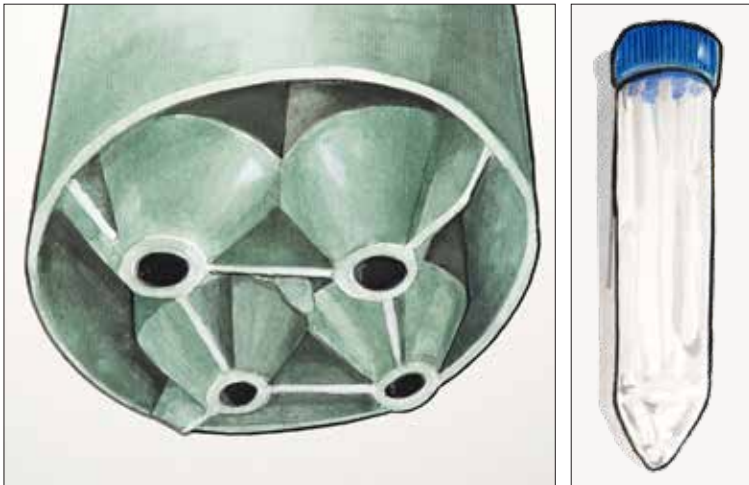
Cada fabricante produz copos de biossegurança específicos para as suas centrífugas

- 1 Tampa
- 2 Copos
- 3 Adaptador

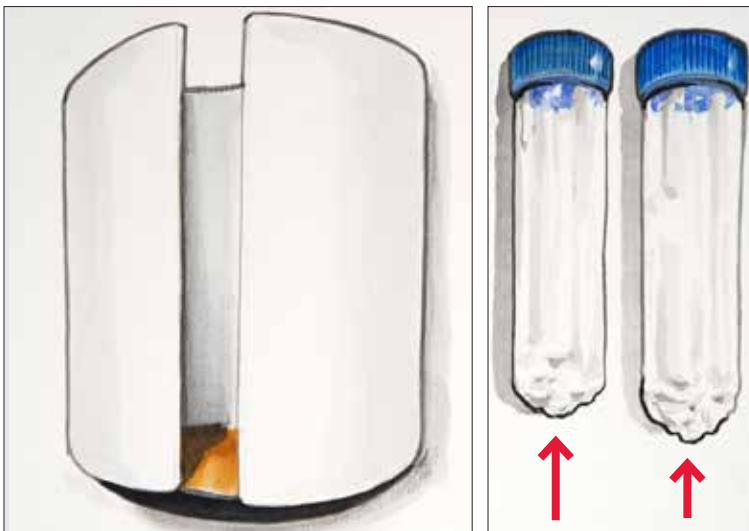
Adaptadores

Os adaptadores de copos mantêm os tubos em posição durante a centrifugação. É fundamental que a forma do adaptador coincida com a forma da base do tubo de centrifuga.

Por exemplo, um adaptador de fundo plano irá danificar os tubos de centrifuga em forma de V, possivelmente fissurando o plástico e derramando o conteúdo.



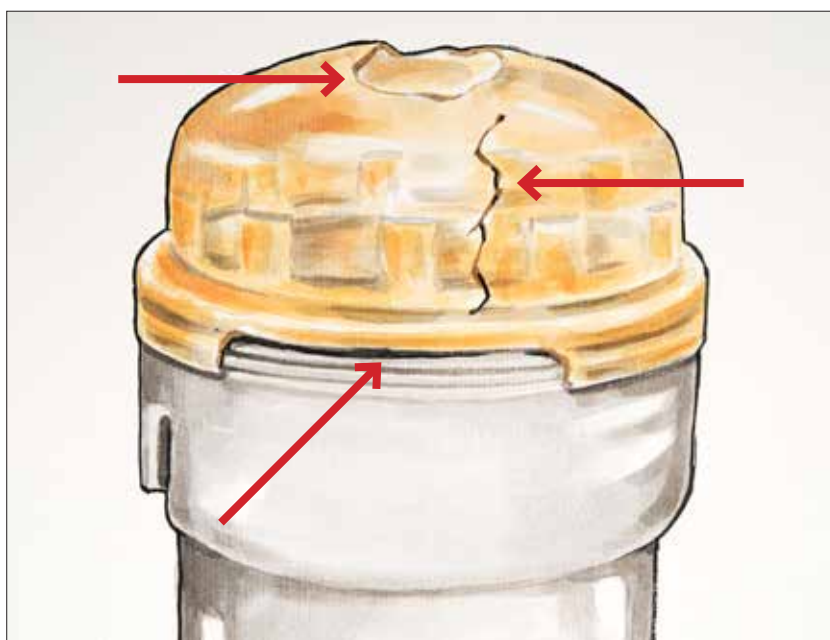
Um adaptador de centrifuga com uma base em forma de V apoia os tubos de centrifuga, evitando que se danifiquem



Um adaptador de fundo plano não apoia um tubo de centrifuga, podendo danificá-lo ou parti-lo



Antes de cada utilização, verifique os o-rings para se certificar de que não estão fissurados ou partidos. Os o-rings podem estar posicionados na tampa ou no copo



Não use tampas danificadas ou partidas. Substitua os o-rings fissurados, partidos ou em falta



Localização da centrífuga

Uma centrífuga tem de estar localizada

- Na parte “suja” do laboratório
- Perto da CSB
- Numa bancada sólida e estável, capaz de suportar o peso e as vibrações geradas durante o uso
- Numa posição de trabalho correta e ergonómica
- Longe de lavatórios, água e químicos para evitar salpicos ou derrames
- Numa área isenta de pó



Assente numa bancada sólida



Não pouse a centrífuga no chão

- Risco de pó e insetos entrarem no equipamento
- Perigo de tropeço
- Má ergonomia

Usar uma centrífuga

Uma carga equilibrada e simétrica é fundamental para qualquer centrífuga.

Uma carga desequilibrada cria vibrações que irão danificar a centrífuga. Todas as cargas têm de ser contrabalançadas em relação ao eixo central.

A maioria das centrífugas tem quatro posições para copos giratórios; todas as posições têm de ser preenchidas com copos, adaptadores e tampas do mesmo tipo e com as mesmas especificações. Não utilize componentes de outros fabricantes, a salvo se especificamente autorizadas.



NUNCA OPERE UMA CENTRÍFUGA COM A TAMPA ABERTA

PARE A CENTRÍFUGA IMEDIATAMENTE SE OUVIR ALGUM RUÍDO ESTRANHO



Todas as posições carregadas de forma idêntica



Cada copo tem de conter o mesmo número de tubos com a mesma carga



Todas as posições dos copos têm de ser carregadas

Número de tubos assimétrico

- Use tubos de centrífuga com água para equilibrar a carga
- Assinale claramente os tubos em branco para que não se confundam com as amostras
- Alguns laboratórios usam tubos pré-preparados com volumes variáveis

Limpeza e cuidados

Diariamente — após o uso

- Desligue e deixe a tampa aberta
- Deixe o tambor da centrífuga atingir a temperatura ambiente
- Limpe quaisquer vestígios de humidade
- Feche a tampa
- Separe os copos, os adaptadores e as tampas e ponha-os a secar sobre um papel ou pano

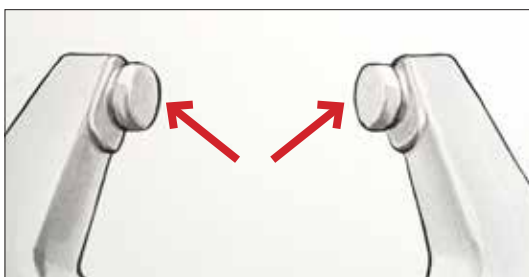
Semanalmente

Se não tiverem ocorrido derrames, limpe o tambor, o rotor, os copos, os adaptadores e as tampas da centrífuga semanalmente

- Verifique se há condensação na câmara da centrífuga
- Verifique se a base de borracha da centrífuga está fissurada, desgastada ou danificada
- Verifique sinais de desgaste e corrosão no rotor
- Faça as substituições necessárias

Verifique se há fissuras nos rotores e munhões giratórios

- Remova o lubrificante antigo e quaisquer detritos
- Lubrifique os munhões do rotor e os encaixes nos copos
- Use uma pequena quantidade de lubrificante do fabricante ou de gordura de pH neutro



Os munhões estão localizados no rotor da centrífuga



Os encaixes estão localizados em ambos os lados de um copo de centrífuga



NÃO PONHA DEMASIADO LUBRIFICANTE, POIS ESTE É PULVERIZADO PARA A PAREDE DA CENTRÍFUGA

Verifique se existem sinais de corrosão nos copos

- Pitting
- Formação de placas
- Mudança de cor
- Fissuras



Copos de centrífuga com sinais de corrosão e falta de limpeza



Corrosão severa
Substituir imediatamente

Verifique as tampas

- O-rings intactos e corretamente posicionados
- Remova cuidadosamente quaisquer detritos dos o-rings
- Sem fissuras ou fraturas
- Substitua imediatamente os o-rings e as tampas com fissuras ou desgaste
- Esfregue suavemente os o-rings com pó talco
- Os grampos não estão dobrados nem danificados



COMUNIQUE TODOS OS DANOS AO SUPERVISOR DO LABORATÓRIO

NÃO USE A CENTRÍFUGA SE OS COPOS E AS TAMPAS NÃO GARANTIREM UMA VEDAÇÃO ESTANQUE



Desinfecção

- Consulte as instruções do fabricante
- Esterilize em autoclave os copos e adaptadores a 121 °C no máximo durante 15 minutos
- Desinfete as tampas com desinfetante fenólico ou à base de cloro durante 15 minutos
 - Se usar um desinfetante à base de cloro, lave com água ou com álcool a 70 % v/v e seque



Para limpeza de derrames, consulte o capítulo 10.

Considerações adicionais

Ao encomendar uma nova centrífuga, inclua pelo menos dois conjuntos sobressalentes de tampas e *o-rings* na proposta, pois estes são os elementos mais frágeis do equipamento.

Compre apenas centrífugas com tampa de bloqueio que não possa ser aberta durante o uso.

A centrífuga necessita de manutenção anual por um técnico qualificado que terá de garantir que a unidade opera adequadamente e em segurança. A manutenção deve incluir

- A limpeza das serpentinas do condensador, ventiladores, ecrãs e filtros
- A verificação das escovas, rolamentos, temporizador, temperatura e velocidade da centrífuga, bem como da sua integridade elétrica

O técnico tem de emitir um certificado de inspeção que ateste a conformidade com a segurança e o funcionamento adequado.

Incubadoras

Ao encomendar uma incubadora, tenha em conta as características seguintes.

- Comandos eletrónicos externos
- Portas exteriores duplas para incubadoras grandes
- Portas interiores de vidro permitem a pré-seleção de culturas
- Carrinho de rodas (com travão de pé) para facilitar a deslocação
- Verifique o nível de ruído produzido durante o uso
- Quantas prateleiras inclui? Encomende mais, se necessário

O tamanho adequado da incubadora (volume) depende

- Da carga de trabalho
- Do tamanho do tubo que contém o meio /p.ex., McCartney)
- Do número de tubos por suporte

Localização da incubadora

As incubadoras representam um risco biológico, pois podem conter muitas culturas com baciloscopia positiva.

Considere

- Localizá-la na parte “suja” do laboratório
- Perto da zona de tratamento de amostras ou TSA
- Longe de lavatórios, água e químicos para evitar salpicos ou derrames
- Numa área isenta de pó
- longe da luz solar direta



LEIA O MANUAL DE INSTRUÇÕES DA INCUBADORA, QUE PODERÁ CONTER MAIS INDICAÇÕES SOBRE A LOCALIZAÇÃO

Prateleiras

Ao fazer a encomenda ao fornecedor, pondere a aquisição de prateleiras adicionais.

As prateleiras personalizadas são geralmente inadequadas

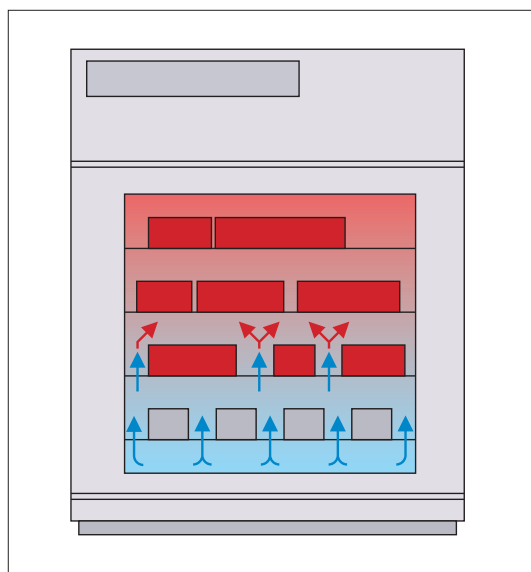
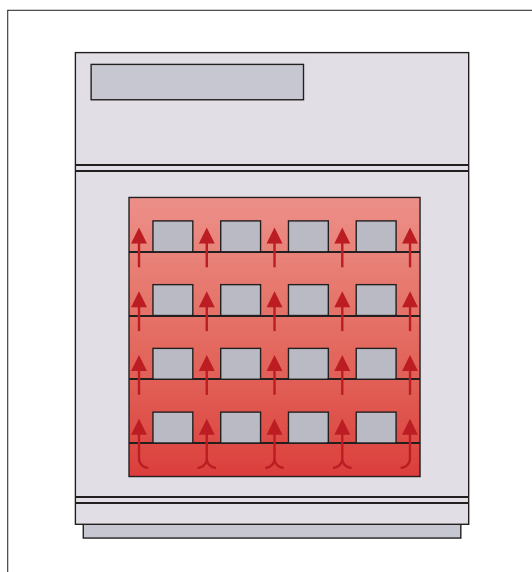
- Feitas de placa metálica com bordos afiados ou de madeira
- As prateleiras sólidas ou com orifícios pequenos podem interferir com o fluxo de ar



Carregar a incubadora

O ar aquecido tem de circular livremente dentro da incubadora de modo que não se formem “pontos quentes ou frios”

- Não pouse suportes ou culturas sobre a base da incubadora, pois estes podem sobreaquecer
- Use suportes de tamanho semelhante e disponha-os verticalmente
- Use sempre suportes de tamanho adequado para acondicionar os tubos de cultura em segurança
- Não sobrecarregue os suportes



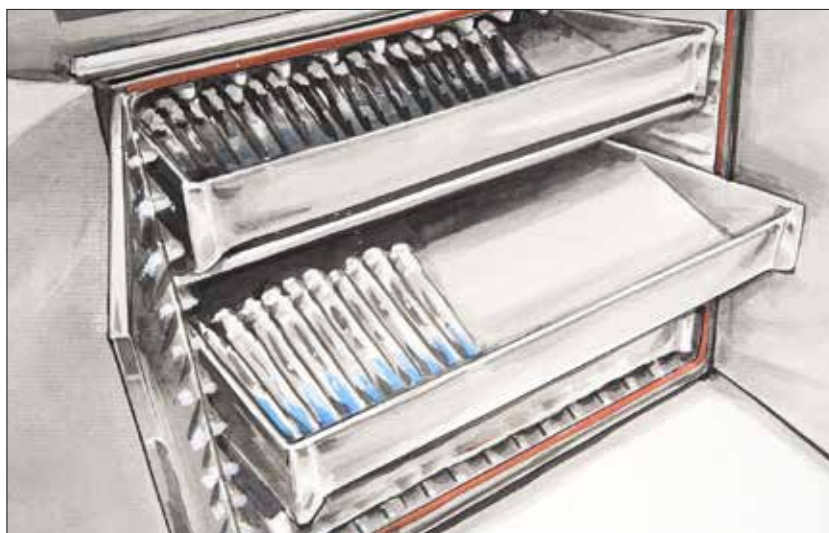
Um carregamento correto garante uma deslocação de ar e uma distribuição do calor equilibradas



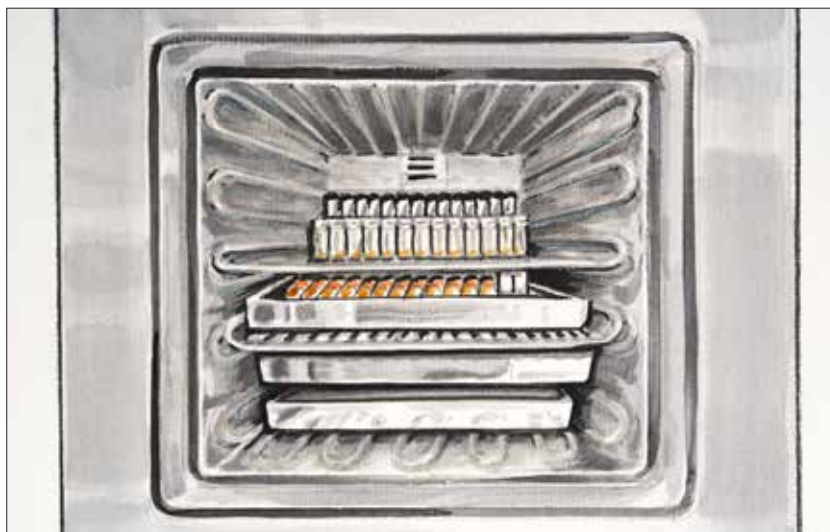
Um carregamento desnivelado pode originar desequilíbrios na deslocação de ar e na distribuição do calor



Suportes e tabuleiros em malha metálica permitem um deslocamento de ar eficaz à volta dos tubos



Prateleiras ou tabuleiros sólidos bloqueiam a deslocação do ar, prejudicando a incubação e o crescimento de organismos



Não pouse culturas sobre a base da incubadora, pois irão sobreaquecer



O sobrecarregamento dos suportes para culturas pode resultar na quebra de tubos e no desequilíbrio das temperaturas de incubação

Limpeza e cuidados de rotina

Leia as instruções do fabricante.

Limpe mensalmente as superfícies interna e externa, incluindo as prateleiras e os suportes, com álcool a 70 % v/v.

Derrames

Para limpeza de derrames, consulte o capítulo 10.

Vortex

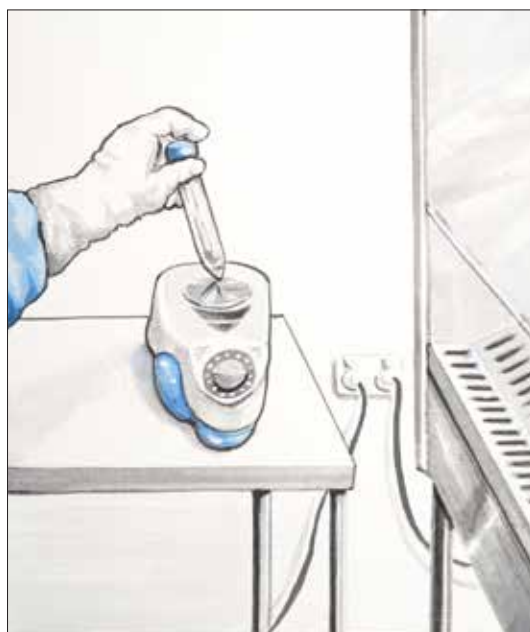


O vortex é talvez o equipamento que mais aerossóis origina. Use-o sempre com extremo cuidado.

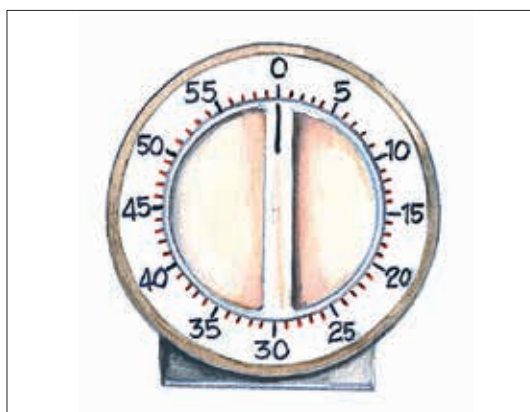
- Agite no vortex apenas tubos/recipientes que tenham uma tampa roscada à prova de fuga
 - A maioria dos escarradores não têm uma tampa à prova de fuga
- Use sempre o vortex dentro da CSB
- Espere pelo menos 10 minutos antes de abrir as amostras agitadas no vortex
- Espere pelo menos 15 minutos antes de abrir culturas de MTB agitadas no vortex



Use sempre o vortex dentro da CSB



Nunca use o vortex fora da CSB



Use um temporizador para garantir que os tempos mínimos são respeitados



É mais fácil gerar um vortex com tubos longos (p. ex., tubos de centrífuga de 50 ml)



É difícil gerar um vortex num recipiente baixo e largo, como um escarrador, ou quando a amostra é viscosa

Limpeza e cuidados

Consulte o manual de instruções do fabricante

- Antes de usar, verifique se a base de borracha está danificada
- Depois de usar, limpe com álcool a 70 % v/v

Se ocorrer um derrame, limpe as áreas afetadas com um desinfetante fenólico ou à base de cloro durante pelo menos 15 minutos. De seguida, limpe com álcool a 70 % v/v.

Para limpeza de derrames, consulte o capítulo 10.

Suportes

A conceção de um suporte simples é muitas vezes ignorada. Contudo, esta tem uma grande influência na segurança do trabalho. Um suporte bem concebido e bem construído irá funcionar durante anos e proporcionar um ambiente de trabalho mais seguro.

Suportes mal concebidos ou mal construídos aumentam o risco de produção de aerossóis e de contaminação cruzada.

Um suporte adequado deve

- Ser feito de metal ou plástico resistente a autoclave/químicos
- Segurar os recipientes a partir da base
- Ter orifícios ligeiramente maiores que o diâmetro do tubo
- Permitir que os tubos estejam fisicamente separados sem se tocarem
- Deixar espaço suficiente para que os dedos possam pegar no recipiente sem tocar
 - Na rosca
 - Nos tubos adjacentes
- Permitir a leitura fácil das etiquetas

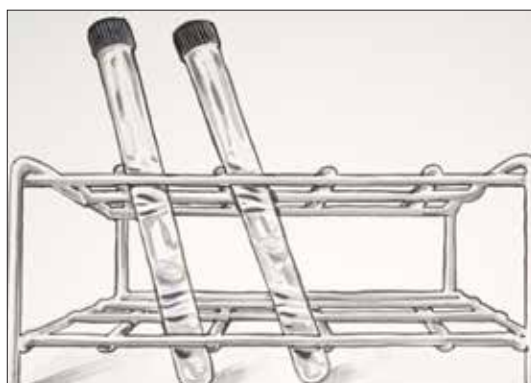
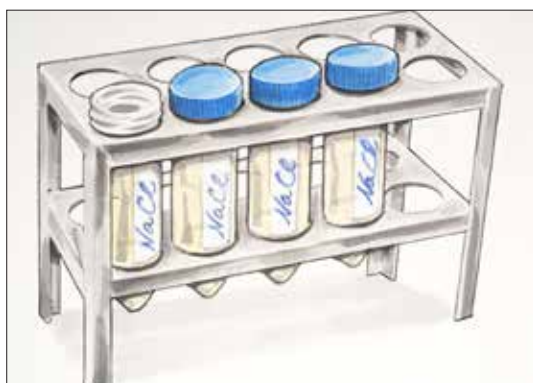


Os suportes inadequados têm um ou mais dos seguintes problemas

- Serem feitos de madeira
 - Absorvem derrames, permitem o crescimento de fungos e não podem ser descontaminados
- Suportes sem base
 - Seguram o recipiente pela rosca
 - Os recipientes caem quando o suporte é levantado
- Orifícios de tamanho desajustado: orifícios grandes não conseguem segurar tubos mais pequenos na vertical
- Recipientes em contacto físico
- Difícil levantar um recipiente sem tocar noutro



Os tubos são mantidos na vertical, estão separados entre si, têm uma base e existe espaço para os dedos pegarem num tubo



Tubos segurados pela rosca, sem base e com orifícios de tamanho desajustado



Os tubos têm de ser mantidos na vertical



Os frascos de cultura sem suporte representam um risco de derrame

Micropipetas

As micropipetas são ferramentas de precisão concebidas para aspirar e dispensar volumes específicos de reagente.



Não use micropipetas para inocular amostras tratadas em meios, pois as amostras podem ser viscosas e não homogêneas, bloqueando a ponta.

Ao libertar a ponta da micropipeta, aponte-a sempre para baixo em direção ao recipiente para resíduos.

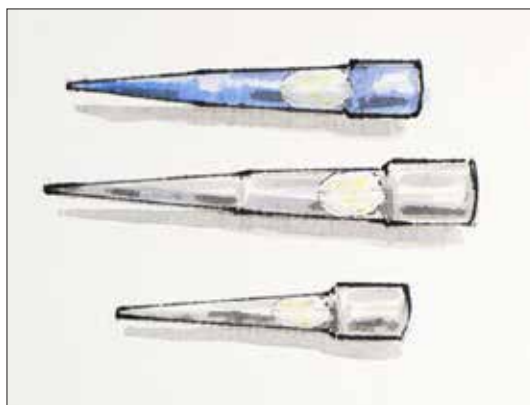


Seleção da ponta

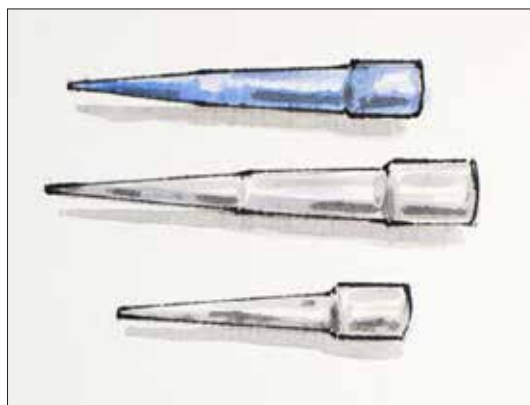
Existem muitos tipos de pontas e de fabricantes. Terá de assegurar que encomenda as pontas adequadas para as micropipetas que estiver a usar. Se tiver dúvidas, solicite uma amostra para testar.

O uso de uma ponta errada pode resultar na dispensa de volumes imprecisos ou em fugas que acarretam risco biológico.

Para prevenir danos na haste ou contaminação, use sempre pontas com filtro.



Pontas de micropipeta com filtro



Pontas de micropipeta sem filtro

Manter registos

Todos os procedimentos de manutenção preventiva têm de ser documentados num registo de manutenção assinado e datado.

Objetos afiados

É necessário um cuidado extremo com objetos afiados que estejam contaminados, incluindo lâminas, pipetas e bisturis.

Elimine os objetos afiados diretamente nos recipientes designados para o efeito.

Risco de infecção

Se manusear uma agulha, corre um risco muito elevado de lesão por picada e subsequente infecção.



NÃO USE AGULHAS/SERINGAS NUM LABORATÓRIO DE TB

Vidro partido

Use uma escova e uma pá ou fórceps para apanhar vidros partidos.



NUNCA APANHE VIDROS PARTIDOS COM OS DEDOS

Resumo

Localizar, usar e manter corretamente os equipamentos do laboratório irá fazer uma diferença significativa na sua segurança e no ambiente de trabalho. Saber usar o equipamento corretamente irá protegê-lo do perigo.

9

GESTÃO DOS RESÍDUOS LABORATORIAIS

Resíduo é qualquer coisa que deve ser eliminada do laboratório. Para minimizar os riscos para a saúde do pessoal e da comunidade, os resíduos laboratoriais têm de ser eliminados adequadamente. Os procedimentos têm de estar em conformidade com os regulamentos locais e nacionais aplicáveis.

	PÁGINA
Tipos de resíduos	132
Dentro do laboratório	132
Fora do laboratório	134
Autoclave	134
Resumo	140



Não se pode permitir a acumulação de resíduos no laboratório. A gestão dos resíduos faz parte das atividades do dia-a-dia, pelo que o pessoal deve dedicar tempo à sua execução.

Cabe ao pessoal fazer a gestão correta dos resíduos.

Antes de os resíduos serem removidos do laboratório, o coordenador tem de observar que

- Os resíduos foram eficazmente desinfetados pelo procedimento correto, ou
- Foram embalados num contentor ou saco selado para incineração ou autoclavagem direta no local
- Não existem quaisquer riscos adicionais para quem tenha de manusear ou possa ter contacto direto com o material desinfetado

Tipos de resíduos

Resíduos de baixo risco

Resíduos que não tiveram contacto direto com material infeccioso como culturas inoculadas ou kits de teste utilizados.

Por exemplo

- Embalagens de consumíveis, reagentes ou kits de teste
- Materiais usados para enviar amostras para o laboratório (saco de plástico ou material absorvente desde que não tenha ocorrido nenhuma fuga)
- Qualquer material retirado de uma CSB que tenha sido desinfetado antes da remoção
- Resíduos que tenham sido já desinfetados ou esterilizados em autoclave
- Resíduos colocados em saco duplo, em que o saco exterior tenha sido desinfetado

Resíduos de alto risco

- Qualquer coisa que tenha estado em contacto direto com materiais infecciosos
- Um objeto removido de uma CSB que não tenha sido desinfetado



APÓS A AUTOCLAVAGEM, OS RESÍDUOS DE ALTO RISCO TORNAM-SE EM RESÍDUOS DE LABORATÓRIO DE BAIXO RISCO

Dentro do laboratório

O pessoal do laboratório é responsável pela gestão de resíduos de baixo e alto risco.

- O laboratório tem de dispor de um procedimento para embalar corretamente os resíduos de alto e baixo risco
- O pessoal tem de estar apto a executar e a respeitar os procedimentos de gestão de resíduos
- O laboratório tem de disponibilizar os materiais apropriados (sacos, caixas, contentores com tampas de bloqueio). O procedimento tem de ser revisto periodicamente pelo supervisor para garantir que permanece atualizado

- O pessoal tem de ser avaliado regularmente para confirmar que está a seguir o procedimento
- O pessoal da limpeza não pode manusear resíduos de alto risco
 - Sabem pouco ou nada sobre riscos de infeção
 - Não têm conhecimentos técnicos para gerir corretamente um derrame infeccioso



Os resíduos que não tenham sido esterilizados em autoclave ou descontaminados têm de ser colocados em dois sacos, selados e introduzidos num contentor vedado e bloqueável para que sejam removidos do laboratório. É adequado usar-se um saco de autoclave identificado com um símbolo de risco biológico

Fora do laboratório



Os caixotes do lixo devem estar fora do laboratório, mas perto da saída do mesmo, e dentro das instalações. Estes devem ser esvaziados periodicamente. Não permita a acumulação de resíduos fora dos caixotes. Estes têm de estar protegidos, de modo que só estejam acessíveis a pessoal autorizado.



Autoclave



OS RISCOS BIOLÓGICOS INCLUEM CALOR E VAPOR SOB PRESSÃO

O uso de vapor saturado a alta pressão é uma forma muito eficiente de matar organismos de TB. Numa autoclave, todo o ar da câmara é substituído por vapor sob pressão (geralmente a 115 kPa ou 15 psi) a 121 °C.

Idealmente, um laboratório deve ter autoclaves separados para cargas “sujas” (preparação de meios, esterilização de objetos de vidro) e “limpas” (resíduos infecciosos do laboratório). Se apenas houver uma autoclave disponível, defina dias diferentes para autoclavagens “sujas” e “limpas”.

Laboratórios de TB de risco moderado

Os resíduos de risco elevado têm de ser esterilizados em autoclave antes de saírem das instalações.

A autoclave deve estar dentro do laboratório de TB. Se forem embalados corretamente, os resíduos de risco elevado podem ser transferidos para uma autoclave fora do laboratório de TB, mas dentro das instalações.

Se os regulamentos locais o permitirem, os resíduos de baixo risco podem ser removidos do laboratório para serem incinerados ou enterrados.

Quando a autoclave estiver dentro das instalações, mas fora do laboratório, tem de existir proteção adequada contra o acesso não autorizado. Idealmente, os resíduos de risco elevado devem ser entregues diretamente ao pessoal para autoclavagem imediata.



OS LABORATÓRIOS DE TB DE RISCO MODERADO TÊM DE TER UMA AUTOCLAVE DISPONÍVEL DENTRO DAS INSTALAÇÕES — IDEALMENTE, DENTRO DO LABORATÓRIO DE TB

Laboratórios de TB de risco elevado

Os laboratórios de TB de risco elevado têm de ter uma autoclave no seu interior e todos os resíduos, incluindo os de baixo risco, têm de ser esterilizados antes de serem removidos do laboratório.



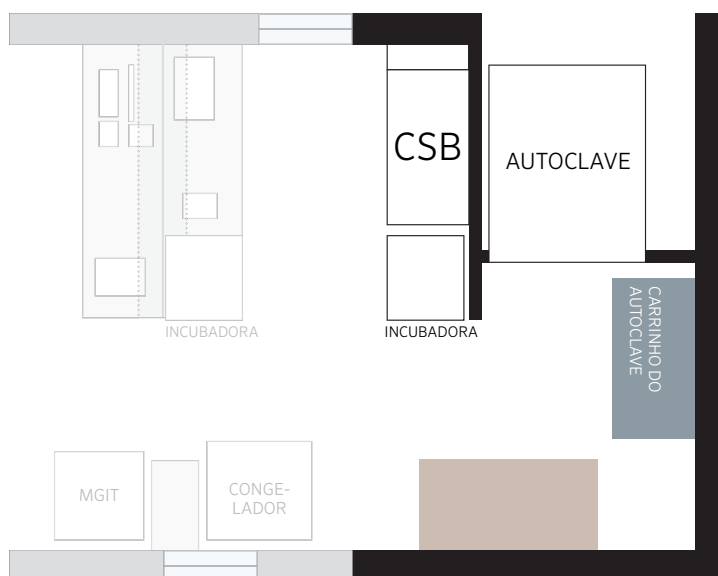
OS LABORATÓRIOS DE TB DE RISCO ELEVADO TÊM DE TER UMA AUTOCLAVE NO SEU INTERIOR

Funcionamento da autoclave

O laboratório necessita de uma área para

- Acondicionar temporariamente os resíduos antes de passarem pela autoclave
- Colocar os resíduos após a autoclavagem, para que arrefeçam antes de serem removidos

Os laboratórios providos de uma autoclave de porta dupla podem guardar resíduos esterilizados fora do laboratório, desde que assegurando o seu armazenamento seguro.



- Resíduos infecciosos
- Resíduos esterilizados

Os laboratórios com grandes cargas de trabalho têm de dispor de espaço suficiente para acondicionar grandes cargas de resíduos antes e após a autoclavagem, bem como para um carrinho.

Condições de esterilização para culturas de TB

As condições de funcionamento e o carregamento correto da autoclave determinam a eficácia da esterilização.

As condições de funcionamento variam de acordo com o tamanho e a carga da autoclave. Aplicam-se os seguintes valores de referência

- Resíduos de baixo risco: mínimo 121 °C a 115 kPa durante pelo menos 15 minutos
- Resíduos de alto risco: mínimo 121 °C a 115 kPa durante pelo menos 45 minutos



LEIA AS INSTRUÇÕES DO FABRICANTE PARA ESTABELECEER OS PARÂMETROS CORRETOS PARA A CARGA A ESTERILIZAR

Carregar a autoclave

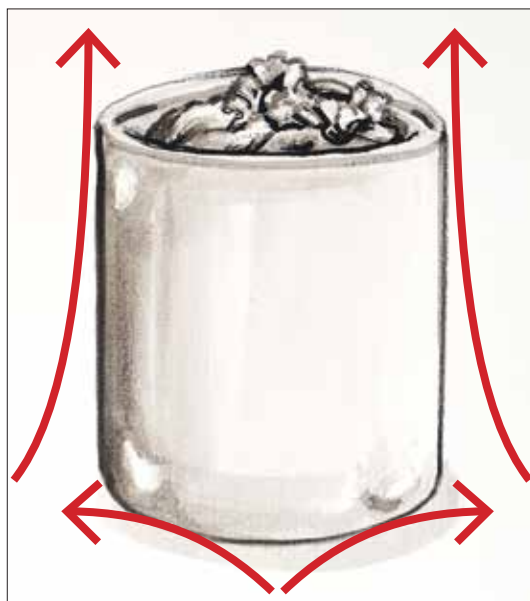
Para garantir uma esterilização eficaz, não sobrecarregue a autoclave

- Use apenas os baldes para autoclave fornecidos pelo fabricante
- Imediatamente antes de iniciar a esterilização
 - Abra cuidadosamente os sacos ou contentores fechados
 - Adicione cuidadosamente 50-100 ml de água para auxiliar a esterilização
 - Feche os sacos ou contentores



Carregamento correto

Um balde de malha metálica permite que o vapor entre em contacto com todos os resíduos



Carregamento incorreto

Um balde sólido limita o contacto do vapor com todos os resíduos



Para descarregar um autoclave, terá de usar estas proteções

- 1 Viseira de plástico transparente para cobrir a face, com tira ajustável para a cabeça
- 2 Avental resistente
- 3 Luvas com isolamento térmico, capazes de cobrir as mãos e os antebraços até ao cotovelo



AS LUVAS USADAS NAS ATIVIDADES DO LABORATÓRIO NÃO CONFEREM PROTEÇÃO CONTRA O CALOR

Viseira de plástico transparente para cobrir a face, com tira ajustável para a cabeça.

Um avental resistente para usar ao descarregar a autoclave

- Feito de material à prova de água e resistente ao calor
- Atado à volta do pescoço e da cintura
- Que cobre totalmente o peito, o abdómen e as pernas

Certifique-se de que a esterilização foi concluída antes de abrir a autoclave.

Abra parcialmente a tampa para permitir que a carga arrefeça.



**RISCO DE QUEIMADURAS — AO ABRIR A AUTOCLAVE,
TENHA CUIDADO COM O VAPOR QUE DELA SAI**

**SE FOREM DESLOCADOS, OS GRANDES VOLUMES DE LÍQUIDO PODEM
FERVER E TRANSBORDAR — DEIXE-OS ARREFECER ANTES DE OS MOVER**

Monitorizar o desempenho

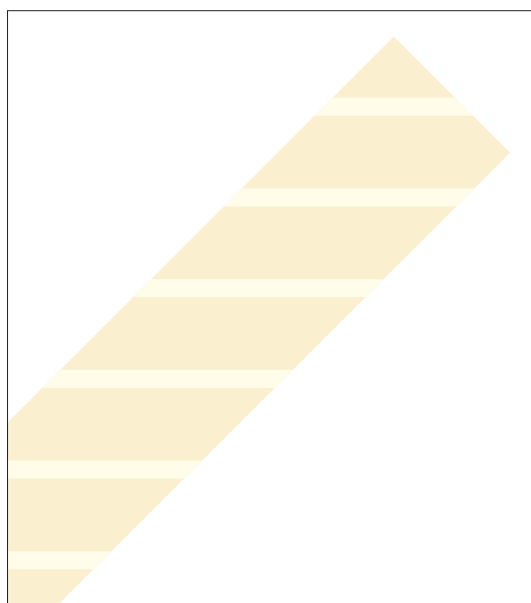
Utilizam-se sistemas visuais e biológicos para avaliar o desempenho de uma autoclave.

- Os sistemas visuais como fitas, cartões ou papéis confirmam que as condições de temperatura foram atingidas, porém, não atestam a morte microbiana
- Os indicadores biológicos atestam a morte microbiana

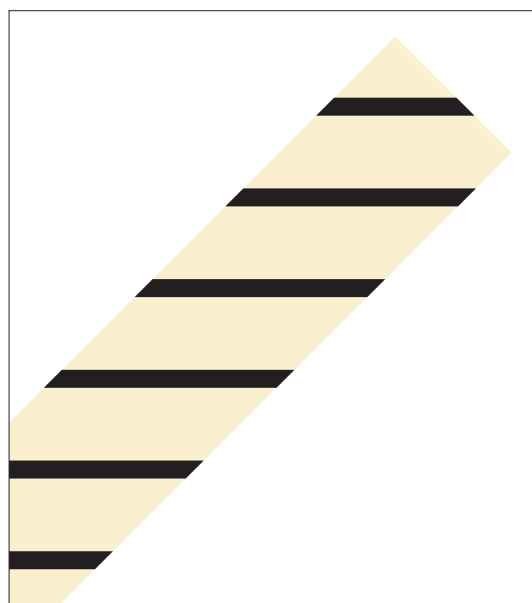
Sistemas visuais

Todas as cargas devem incluir uma confirmação visual que mostre que a temperatura desejada foi atingida.

Alguns sistemas visuais também informam acerca das condições do vapor.



Fita de autoclave não usada (NEG)



Fita de autoclave usada (POS)

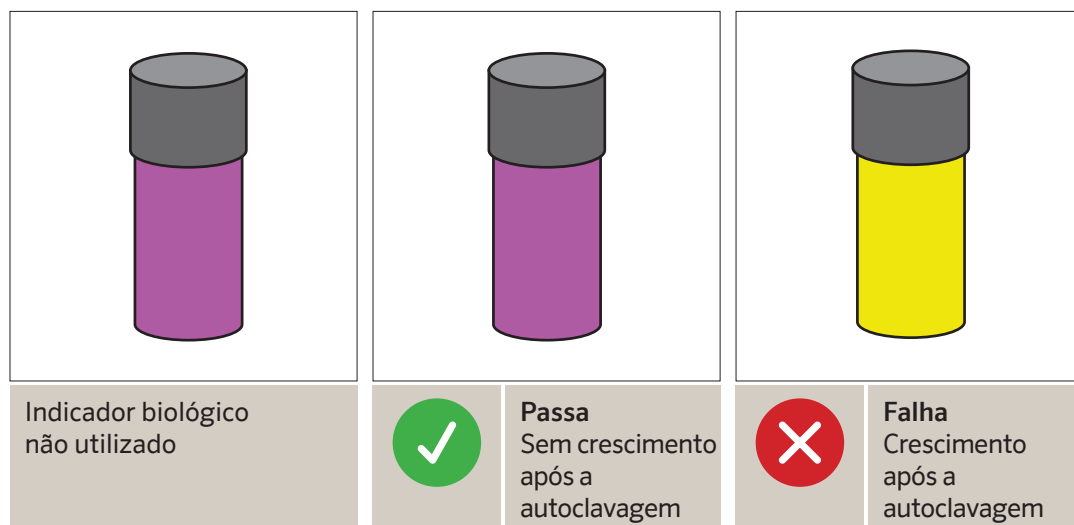


OS INDICADORES VISUAIS DEVEM SER USADOS EM TODAS AS ESTERILIZAÇÕES

Indicadores biológicos

O método dos esporos bacterianos é o método mais amplamente aceite para verificar o desempenho de autoclaves. Este testa se os esporos das espécies *Geobacillus stearothermophilus* ou *Bacillus* foram mortos.

Após a incubação, crescimento (insucesso) ou sem crescimento (sucesso).



Os indicadores de enzimas bacterianas funcionam de modo similar, sendo testados após a autoclavagem; depois de adicionado um substrato, uma mudança de cor indica que as condições de esterilização foram atingidas.

Todos os indicadores biológicos devem ficar bem imersos no interior da carga para desafiarem as condições de esterilização.



Se os testes visuais ou biológicos falharem, a carga permanece potencialmente infecciosa, devendo ser

- Novamente esterilizada em autoclave com a confirmação de um indicador de que o processo foi bem-sucedido
- Encaminhada para outro autoclave dentro das instalações
- Mantida em segurança até que a autoclave esteja reparada



OS INDICADORES BIOLÓGICOS DEVEM SER USADOS SEMANALMENTE

Termopares

A validação das condições de funcionamento da autoclave através de termopares fornece uma medida mais rigorosa do seu desempenho, devendo ser efetuada pelo menos uma vez por ano.

Os termopares medem a temperatura, fornecendo uma leitura contínua de dados; são colocados em múltiplos locais entre a carga para determinar a eficácia da esterilização.

Manutenção

Leia, apreenda e siga as instruções do fabricante acerca dos procedimentos de manutenção de uma autoclave.

Algumas atividades podem ser executadas pelo pessoal do laboratório

Diariamente

- Verifique se o painel de controlo está operacional, sem luzes de aviso
- As vedações das portas/juntas/o-rings estão nos devidos lugares e intactos
- Os níveis de água são suficientes
- O contentor de resíduos não está cheio

Semanalmente

- Limpe o exterior com um detergente neutro e seque-o
- Verifique o nível dos tinteiros da impressora e se esta tem papel

As verificações de manutenção devem ser efetuadas de 6 em 6 meses por um técnico qualificado que siga as instruções do fabricante.

Manter registos

Todas as verificações de manutenção e desempenho têm de ser registadas, assinadas e datadas.

Resumo

A eliminação eficaz dos resíduos é parte integrante das atividades diárias de um laboratório e ajuda a manter o pessoal do laboratório e a comunidade em segurança.

10

CONTROLO DE DERRAMES INFECCIOSOS

Os derrames infecciosos de culturas com baciloscopia positiva e/ou inoculados fortemente concentrados representam um risco elevado para o pessoal.

	PÁGINA
Controlo de derrames	142
Kit de derrame — o que deve conter	143
Limpeza de derrames	145
Derrames dentro de uma CSB	145
Derrames fora de uma CSB	147
Resumo	151



UM DERRAME FORA DE UMA CSB É UM INCIDENTE GRAVE QUE COLOCA O PESSOAL EM RISCO ELEVADO

OS DERRAMES ENVOLVEM GERALMENTE LÍQUIDOS E FORMAM AEROSSÓIS DE NÚCLEOS DE GOTÍCULAS INFECCIOSAS

Controlo de derrames

O coordenador do laboratório é responsável por assegurar que

- O pessoal é submetido a vigilância médica periódica
- Todo o pessoal do laboratório conhece os sintomas da TB
- O pessoal tem o treino necessário para controlar derrames em segurança
 - Formação de reciclagem pelo menos uma vez por ano
- Que estão disponíveis recursos de limpeza suficientes
 - Equipamento
 - EPI
 - Consumíveis e reagentes
- Existe um procedimento operacional padrão para o controlo de derrames infecciosos, o qual deve ser revisto anualmente
- Existem formulários para registo de incidentes de derrame
- É feita uma análise após o incidente para identificar a(s) causa(s) subjacente(s) e são efetuadas ações corretivas para prevenir a recorrência do incidente
- É feito o acompanhamento médico do pessoal envolvido no derrame

Cabe ao pessoal sénior a limpeza dos derrames e a preparação de um relatório dirigido ao coordenador do laboratório.

Kit de derrame — o que deve conter

É necessário manter pelo menos dois kits de derrame.

- Um dentro do laboratório
- Outro na eclusa ou no vestíbulo



Kit de derrame num contentor fechado

Deve colocar-se na tampa do contentor uma lista indicando todos os artigos, quantidades e datas de validade das soluções em estoque, e proceder-se à sua verificação trimestral.



OS SUPERVISORES SÃO RESPONSÁVEIS POR VERIFICAR OS KITS DE DERRAME TRIMESTRALMENTE

Conteúdo do kit de derrame

Procedimento operacional padrão

- Pelo menos uma cópia impressa, revista anualmente

Sinalização

- Símbolo de risco biológico e, em letras maiúsculas, “Não entrar”



Desinfetante

- Solução sintética fenólica ou hipoclorítica concentrada
- Mínimo de 500 ml
- A data de validade tem de estar escrita de forma clara na parte lateral do recipiente
- A solução de trabalho será feita no momento da limpeza



Respirador

- Uma seleção de diferentes tipos de respiradores N95/FFP2 acondicionados num saco com fecho hermético
- Os respiradores N95/FFP2 têm de ser adaptáveis a faces de diferentes tamanhos e formas
- O conjunto deve estar no topo do contentor para não ser esmagado

Proteção dos olhos

- Pelo menos 2 pares de óculos de segurança com cobertura total dos olhos

Luas

- 3 sacos de luvas de tamanho pequeno, médio e grande (10 por saco); escreva a data de validade em cada um

Batas de proteção

- Pelo menos duas batas de cada tamanho: pequeno, médio e grande
- Descartáveis, com mangas compridas, punhos elásticos e abertas nas costas
- Feitas de material resistente a líquidos

Coberturas de cabelo e sapatos

- 4 a 6 de cada
- Descartáveis, elásticas

Recipiente para objetos afiados (descartável)

- Pelo menos 500 ml, com fecho de clipe, à prova de furos e esterilizável em autoclave

Sacos para risco biológico

- Mínimo de 6 sacos grandes e 6 sacos pequenos de plástico robusto, esterilizáveis em autoclave

Materiais absorventes

- Rolo de algodão
- Rolo de papel absorvente
- Pano absorvente

Outros artigos

- Uma tesoura (descartável)
- Uma pinça ou fórceps (descartável)



Limpeza de derrames

Uma vez derramado, um líquido de MTB fortemente concentrado separa-se em três partes.

- A parte maior separa-se em poças de líquido
- Uma parte menor separa-se em salpicos
- Uma parte é aerossolizada
 - Os aerossóis grandes (diâmetro $>5 \mu\text{m}$) depositam-se rapidamente e não voltam a aerossolizar
 - Os aerossóis pequenos (diâmetro $<5 \mu\text{m}$) secam e permanecem suspensos durante algum tempo
 - Os aerossóis podem circular na CSB ou no laboratório

Derrames dentro de uma CSB

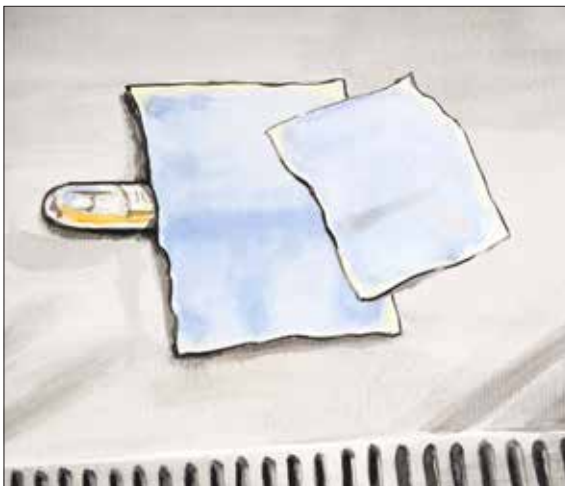
Os derrames dentro de uma CSB têm um risco menor, pois estão contidos; os aerossóis infecciosos que se formam são removidos pela CSB.



MANTENHA A CSB EM FUNCIONAMENTO — NÃO A DESLIGUE

NÃO PERTURBE A CORTINA DE AR FRONTAL

- 1 Espere 15 minutos antes de iniciar a limpeza da CSB para que os aerossóis sejam removidos
Use uma bata de proteção com mangas compridas e luvas sobrepostas aos punhos
- 2 Embeba o material absorvente em desinfetante e cubra o derrame
Se as paredes da CSB estiverem contaminadas, limpe-as com desinfetante



Cubra o derrame com material absorvente embebido em desinfetante

**DEIXE O DESINFETANTE ATUAR PELO MENOS 30 MINUTOS**

- 3 Use fórceps para apanhar resíduos afiados e colocá-los num recipiente para materiais afiados
- 4 Coloque num saco para risco biológico os objetos descartáveis que não tenham sido usados na CSB — **não os reutilize**
- 5 Limpe os equipamentos e materiais reutilizáveis com desinfetante (p. ex., vortex, micropipetas, copos de centrífuga, adaptadores, tampa, etc.)

**DEIXE O DESINFETANTE EM CONTACTO PELO MENOS 30 MINUTOS**

- 6 Remova os equipamentos da CSB
- 7 Limpe as paredes, a parte inferior e a superfície interna do painel de vidro com o desinfetante e deixe-o em contacto durante pelo menos 30 minutos
- 8 Remova a cobertura da grelha e limpe-a com desinfetante. Verifique se o coletor está contaminado; se houver contaminação, adicione desinfetante suficiente para cobrir a superfície inferior do coletor
- 9 Deixe atuar 30 minutos antes de limpar
- 10 Coloque todo o material de limpeza num saco para risco biológico
- 11 Remova as luvas dentro da CSB e coloque-as no saco para risco biológico
- 12 Ponha o saco para risco biológico dentro de um segundo saco e esterilize o conjunto em autoclave
- 13 Tomadas elétricas
Verifique os disjuntores e interruptores com falha de terra
Comunique as falhas ao coordenador do laboratório
- 14 **Não** use a CSB até que o coordenador do laboratório e o pessoal sénior tenham autorizado a sua utilização
Pode ser necessário fumigar a CSB

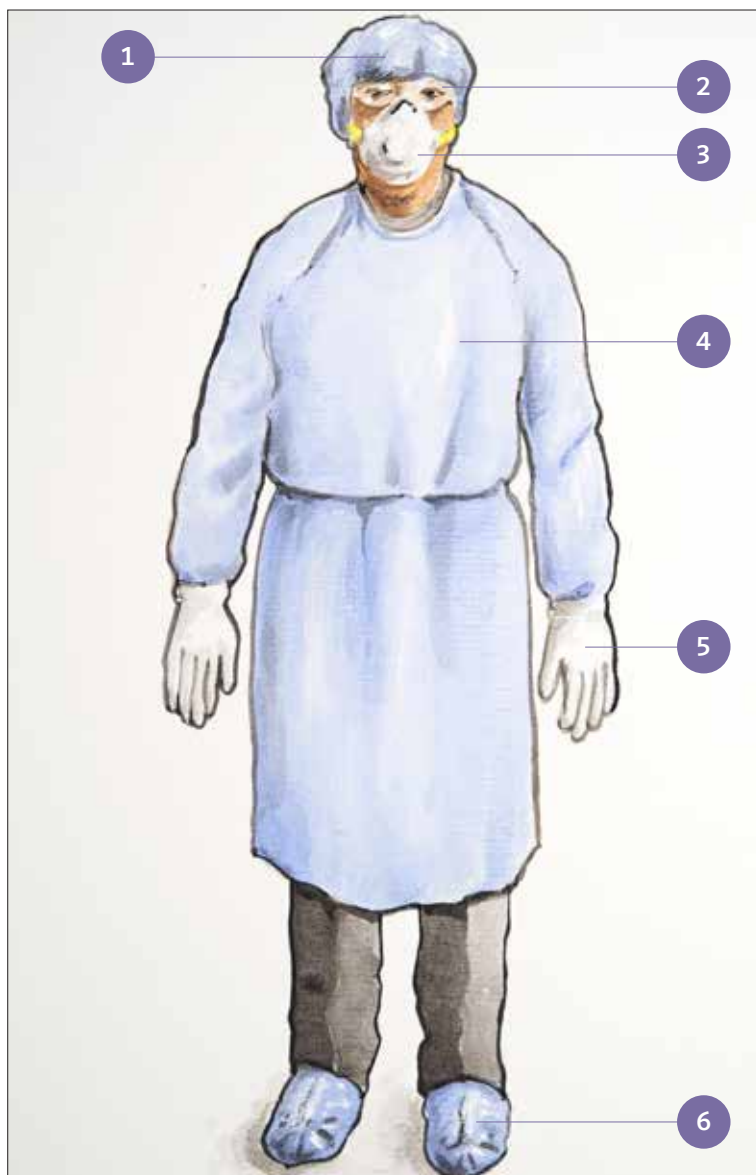
Derrames fora de uma CSB



- 1 **Evacue** imediatamente todas as pessoas do laboratório
 - Se estiver a usar um respirador, mantenha-o
 - Remova todos os restantes elementos de EPI e deixe-os no chão do laboratório
 - Quando estiver no exterior, descarte o respirador, se o tiver
 - Lave as mãos
- 2 Avise imediatamente o coordenador do laboratório da ocorrência de um derrame fora da CSB
- 3 Impeça a reentrada
Deixe um membro da equipa à porta do laboratório para impedir que alguém entre
- 4 Abra o kit de derrame e coloque o sinal **Não entrar** na porta exterior do laboratório
- 5 Anote a hora — espere uma hora antes de reentrar no laboratório para permitir que o sistema de ventilação remova os aerossóis
- 6 Durante o período de exclusão de uma hora
 - O pessoal sénior determina quem estará envolvido na limpeza e atribui funções
 - Discute a natureza do derrame
 - A localização do derrame
 - Estima o volume e a concentração de BAAR/ml
 - Revê o POP para a limpeza
 - Verifica o conteúdo do kit de derrame
 - Prepara o material absorvente e uma solução de trabalho com desinfetante
 - Verifica se são necessários outros materiais
- 7 São necessárias três pessoas
 - Uma para monitorizar a porta e observar a limpeza do lado de fora do laboratório
 - Duas para efetuar a limpeza
Uma delas procede à limpeza
A segunda, fornece-lhe os materiais necessários para a limpeza de acordo com as suas indicações



- 8 Após o período de exclusão de uma hora, e antes de entrar no laboratório, dois membros da equipa de limpeza envergam o EPI do kit de derrame

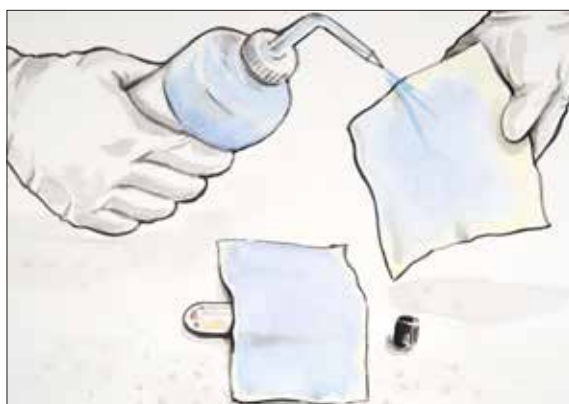


Terá de usar estas proteções

- 1 Cobertura para o cabelo
- 2 Proteção dos olhos
- 3 Respirador N95/FFP2
- 4 Bata de proteção com mangas compridas
- 5 Luvas descartáveis
- 6 Cobertura para os sapatos

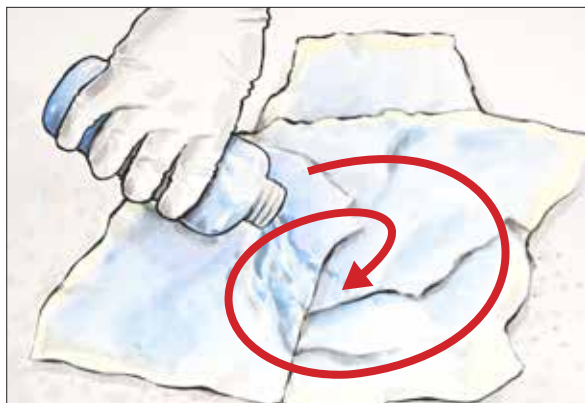
10 CONTROLO DE DERRAMES INFECCIOSOS

- 9 Entre no laboratório e analise a situação
- Confirme a localização e o tamanho do derrame
 - Faça um resumo verbal à pessoa que está à porta do laboratório e confirme que o plano de limpeza é adequado
 - Recolha todo o EPI deixado para trás durante a evacuação e coloque-o num saco para risco biológico
- 10 Cubra a área do derrame com material absorvente embebido em desinfetante



Cubra a área do derrame com desinfetante

- 11 Verta cuidadosamente mais desinfetante sobre a zona do derrame, começando na periferia e indo em direção ao centro
Evite salpicar o desinfetante



Verta o desinfetante sobre o material absorvente

- 12 Espere pelo menos 30 minutos para que o desinfetante faça efeito
- 13 Use uma pinça para recolher quaisquer fragmentos de vidro partido, outros resíduos afiados e pequenos objetos e coloque-os no recipiente para materiais afiados
- 14 Apanhe cuidadosamente os panos absorventes e ponha-os num saco para risco biológico
- 15 Limpe o líquido remanescente, começando na periferia e indo em direção ao centro
Coloque o material absorvente usado num saco para risco biológico
- 16 **Repita os passos 10 a 15**
- 17 Limpe a área com álcool a 70 % v/v
Coloque o pano usado num saco para risco biológico
Deixe secar
- 18 Recolha todos os sacos para risco biológico e recipientes para objetos afiados, coloque-os num segundo saco para risco biológico e esterilize o conjunto em autoclave
- 19 Remova todo o EPI e coloque-o num saco para risco biológico para autoclavagem
- 20 Lave as mãos e saia do laboratório



Após a limpeza

- É necessário fazer um balanço com os quadros superiores e o pessoal do laboratório envolvido no derrame
 - Confirmar que o laboratório está seguro
 - Descrever a causa do incidente
 - Descrever pormenorizadamente o procedimento adotado na limpeza
- Providenciar a avaliação e o acompanhamento médico de todo o pessoal presente no laboratório aquando do derrame
- Repor o kit de derrame
- Escrever um relatório do incidente para a direção
- Identificar as ações corretivas necessárias
- Fazer uma reunião formal com o pessoal para descrever o incidente e recomendar ações corretivas a serem implementadas
- Elaborar o relatório do incidente

Os procedimentos e o treino para controlo de derrames são um requisito fundamental de segurança num laboratório de TB. O coordenador tem de assegurar que os procedimentos estão em ordem, são revistos periodicamente e que o pessoal está treinado no uso do kit de derrame. Fazer um balanço eficaz e implementar ações corretivas reduz a probabilidade de derrames posteriores.

Resumo

Mesmo nos melhores laboratórios podem ocorrer derrames infecciosos. Os procedimentos e o treino para controlo de derrames são um requisito fundamental de segurança num laboratório de TB. O coordenador tem de assegurar que os procedimentos estão em ordem, são revistos periodicamente e que o pessoal está treinado no uso do kit de derrame. Fazer um balanço eficaz e implementar ações corretivas reduz a probabilidade de derrames posteriores.

ANEXOS

	PÁGINA
1 Escarradores	154
2 Colheita de escarro	156
3 Rastreamento de amostras	157
4 Desinfetantes e sua utilização	162
5 Lavagem das mãos	166
6 Referências bibliográficas	167

O escarrador ideal

A qualidade do escarrador contribui significativamente para a segurança no laboratório.



Especificações do escarrador



- Plástico de polietileno/polipropileno resistente à quebra
 - Os recipientes de polistireno fissuram/estilhaçam facilmente — não os use
- Bocal largo >35 mm de diâmetro
- Volume ≥ 50 ml
- Resistente à água com tampa à prova de fuga
- Múltiplas roscas
- Área fosca ou etiquetada para escrever com marcador permanente



OS ESCARRADORES SÃO DE UTILIZAÇÃO ÚNICA NÃO OS REUTILIZE



Escarrador limpo versus estéril

O rigor de alguns testes laboratoriais depende do uso de escarradores estéreis. Para outros testes, um escarrador limpo poderá ser suficiente.

Escarrador limpo

- Provavelmente isento de micróbios, porém, sem garantia de esterilização
- Adequado para baciloscopia e testes GeneXpert
- Muito mais económico que o escarrador estéril

Escarrador estéril

- Esterilizado por radiação gama ou cloreto de etileno
- Necessário para cultura de TB e/ou TSA
- Muito mais caro que o escarrador limpo

Acondicionamento

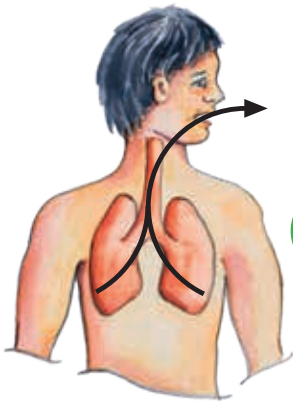
Os principais aspetos a considerar no acondicionamento incluem

- Restrição do acesso ao laboratório e ao armazém a pessoal autorizado
- Humidade controlada para minimizar o crescimento de fungos
- Limpeza, arrumação e ser antiparasitas

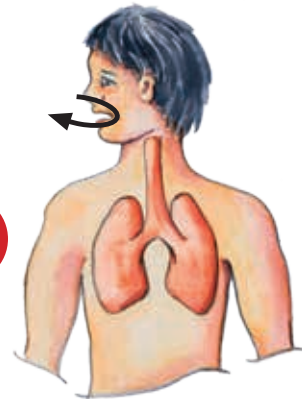
Aquisições



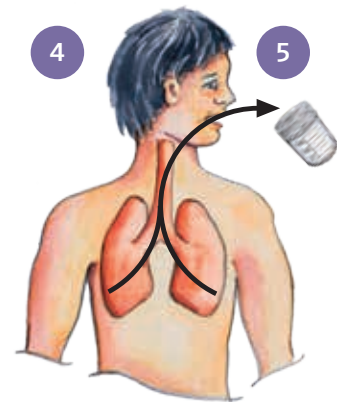
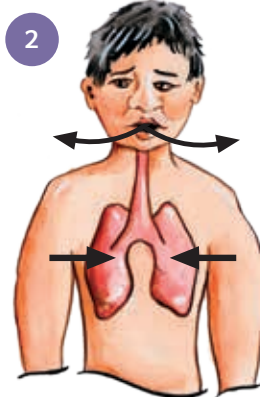
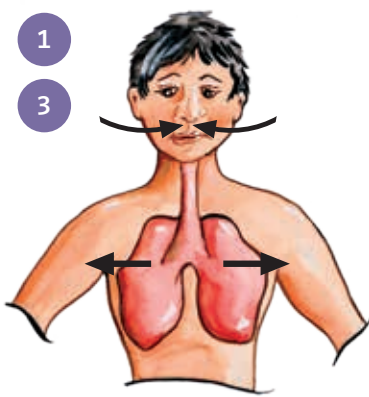
É fundamental que os departamentos de compras não adquiram escarradores de má qualidade apenas por estes serem mais económicos.



Dos pulmões



Não do nariz ou da boca



- 1 Inspire profundamente
- 2 Expire vigorosamente
- 3 Faça o mesmo
- 4 À terceira vez, tossa com força a partir do peito
- 5 Aproxime o escarrador aberto da boca para recolher o escarro

Poder-lhe-ão pedir que tente novamente para obter uma amostra melhor

Atarraxe a tampa firmemente



BOAS AMOSTRAS — DIAGNÓSTICO PRECISO

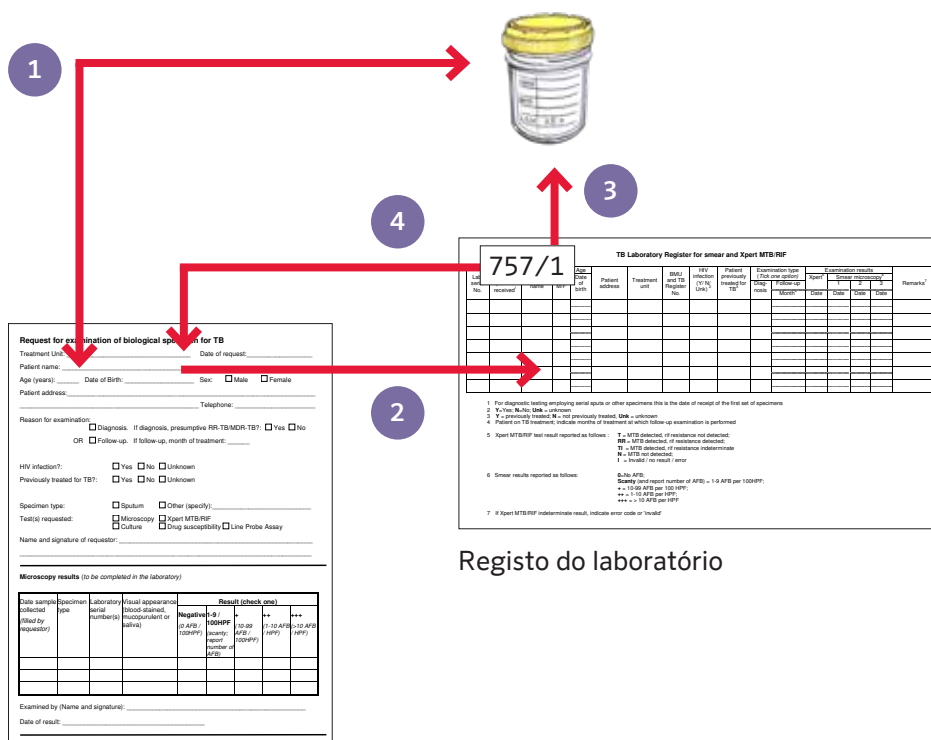
O rastreamento de amostras é o procedimento que assegura que a ligação entre o doente, o formulário de requisição de amostra e a amostra permanece intacta em todas as etapas laboratoriais. O rastreamento de amostras tem de ser feito constantemente, qualquer que seja o teste de laboratório ou a metodologia adotada. É algo que tem de integrar o sistema de gestão da qualidade de qualquer laboratório.

Etiquetagem



A etiquetagem é a principal forma de associar a amostra ao formulário de requisição, bem como qualquer lâmina, tubo ou cartucho ao formulário de requisição de amostra e, em última análise, ao doente.

Antes de etiquetar algo no laboratório, confirme que os dados do doente constantes do formulário de requisição de amostra são os mesmos que estão indicados no escarrador.



Registo do laboratório

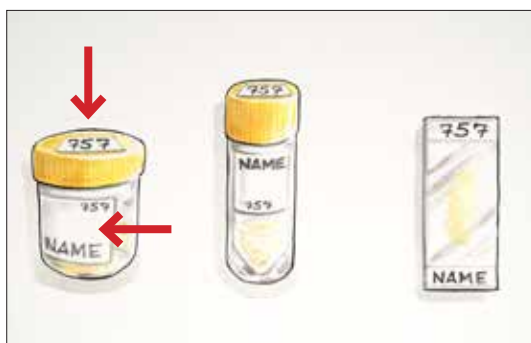
Formulário de Requisição de Ensaio Laboratorial

- 1 Verifique se os dados do doente indicados no escarrador correspondem aos do Formulário de Requisição de Ensaio Laboratorial
- 2 Transfira os dados do doente do Formulário de Requisição de Ensaio Laboratorial para o Registo do Laboratório
- 3 Escreva o Número de Registo do Laboratório (NRL) na parte lateral do escarrador
- 4 Escreva o NRL no Formulário de Requisição de Ensaio Laboratorial

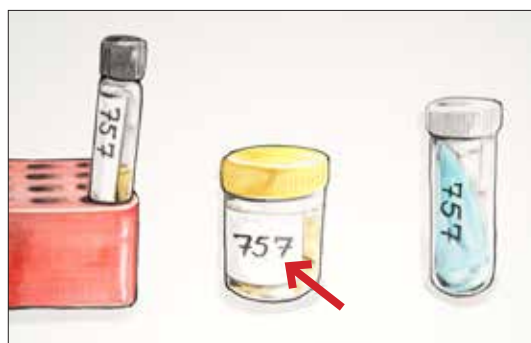
A etiquetagem deve ser

- Escrita de forma clara
- Com lápis, **enão** com um marcador permanente, em lâminas com extremidade fosca
 - A tinta do marcador permanente irá sair com o solvente
- Com marcador permanente em escarradores e recipientes de meios culturais
- Usando pelo menos um identificador único para cada doente
 - NRL
 - Uma alternativa é incluir também as primeiras quatro letras do apelido do doente

Escreva sempre na parte lateral do recipiente e nunca somente na tampa. Pode igualmente escrever-se na parte lateral e na tampa.



A melhor etiquetagem — recipiente e tampa



Boa etiquetagem, apenas no recipiente — não apenas na tampa



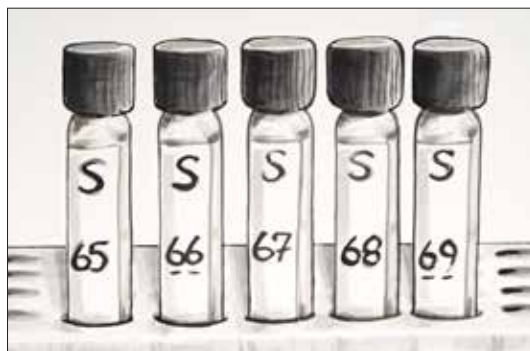
Etiquete todos os tubos



Não apenas o primeiro tubo do suporte



Nos recipientes reutilizáveis, certifique-se de que as etiquetas antigas foram removidas



Sublinhe um número para garantir que este é lido corretamente

66 99 901 106

Repare que os tubos estão por ordem crescente de NRL (da esquerda para direita)

No caso de números que podem ser lidos de duas formas (p. ex., 66 ou 99; 106 ou 901), trace uma linha por baixo do número para indicar a forma correta de o ler.

Trabalhar com amostras



Há várias coisas que se podem fazer para minimizar o risco de ocorrência de erros de transcrição durante o processo de diagnóstico.

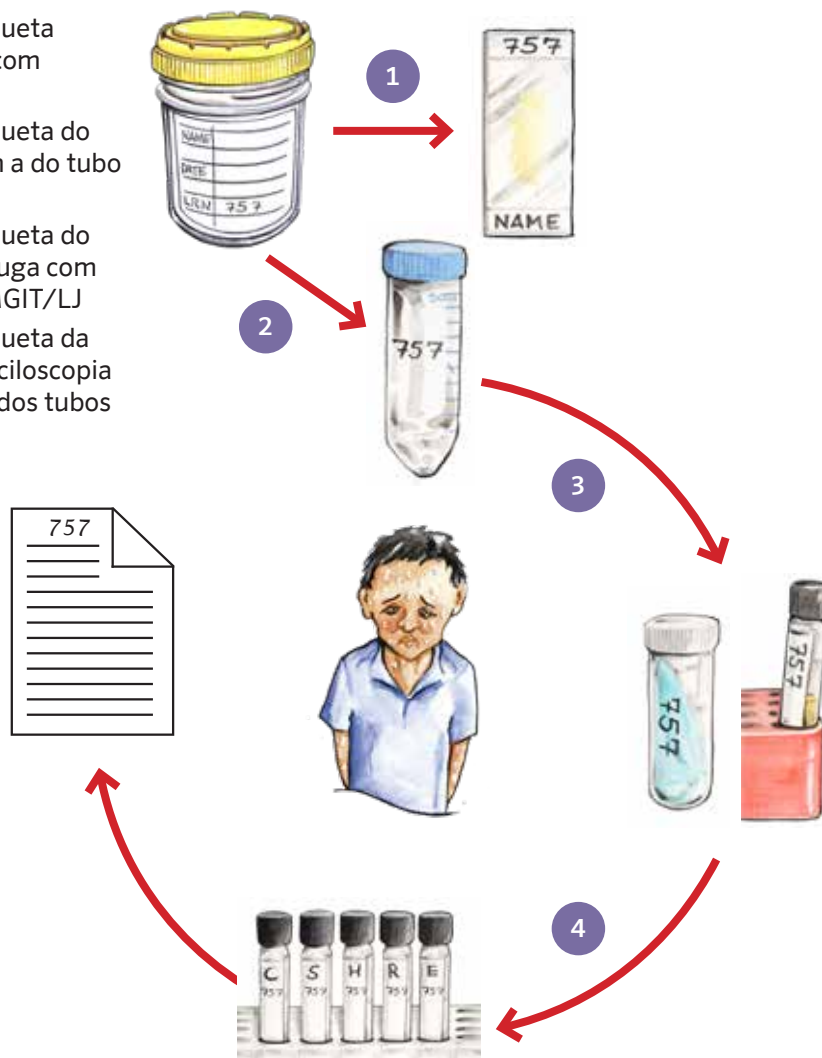
Sempre

- Coloque os escarradores, tubos de centrifuga e meios num suporte por ordem crescente de NRL, do menor à esquerda para o maior à direita
- Certifique-se de que o NRL fica bem visível; alguns suportes podem cobri-lo se a etiqueta não estiver devidamente posicionada no tubo
- Antes de transferir a amostra, ou parte dela, compare o nome e/ou número no escarrador com o indicado da lâmina, tubo de cultura ou kit de teste

- Se os tubos forem reutilizáveis, certifique-se de que a etiqueta anterior foi removida durante o processo de limpeza
- Se forem usadas etiquetas autocolantes, estas têm de permanecer no recipiente, lâmina ou tubo independentemente dos químicos/reagentes usados no tratamento da amostra
 - Cuidado, algumas etiquetas irão descolar

Todos os tubos de TSA têm de ser etiquetados com o NRL e o medicamento específico contra a TB

- 1 Compare a etiqueta do escarrador com a da lâmina
- 2 Compare a etiqueta do escarrador com a do tubo de centrifuga
- 3 Compare a etiqueta do tubo de centrifuga com as dos meios MGIT/LJ
- 4 Compare a etiqueta da cultura com baciloscopia positiva com a dos tubos de TSA



TODOS OS TUBOS TÊM DE SER ETIQUETADOS ANTES DE SEREM USADOS

Falsos positivos — consequências

- Doentes tratados sem necessidade
- Tratamento mais prolongado que o necessário
- Desperdício de medicamentos

Falsos negativos — consequências

- Os doentes com TB podem não ser tratados, o que resulta no agravamento ou na progressão da doença, ou mesmo na morte
- Um doente com baciloscopia positiva não tratado pode infetar outras 10 a 15 pessoas por ano

Resumo

Os erros laboratoriais devidos ao rastreamento indevido de amostras podem dar origem a resultados falsos positivos ou falsos negativos com consequências catastróficas para um indivíduo e respetivos familiares e amigos, bem como para a comunidade.

Os desinfetantes são químicos capazes de matar a maioria dos microrganismos numa superfície ou solução. A parede celular rica em ácidos gordos das espécies de *Mycobacterium*, incluindo a MTB, torna-as menos sensíveis a certos desinfetantes. A escolha do desinfetante depende do material a desinfetar, do tempo de exposição e das vantagens/desvantagens relativas de um desinfetante.

Álcool

Os álcoois danificam a membrana e provocam a precipitação ou a coagulação das proteínas. Contudo, os álcoois são ineficazes contra a MTB na presença de proteínas em amostras como o escarro.

No escarro, a coagulação das proteínas protege a MTB do contacto direto com o álcool. Por conseguinte, os álcoois não são adequados para a desinfeção de derrames de escarro.

Os álcoois não devem ser usados para inativar suspensões de MTB ou de outras espécies de *Mycobacterium*, uma vez que existem agentes mais eficazes como cloros e fenóis.

Uma solução de álcool a 70 % v/v (etanol desnaturado, álcool metílico), aproximadamente equivalente a uma solução de isopropanol a 70% v/v, pode ser usada em desinfeções de rotina de bancadas de laboratório e CSB. Nas CSB, esta não pode ser pulverizada nem aerossolizada devido ao risco de incêndio.

Não existe ação residual após a evaporação do álcool.



O ÁLCOOL NESTA CONCENTRAÇÃO É INFLAMÁVEL



NÃO USE DESINFETANTES À BASE DE CLORO EM EQUIPAMENTOS QUE POSSAM PRODUZIR FAÍSCAS — RISCO DE INCÊNDIO!



Fenol

Os fenóis alteram a permeabilidade das membranas celulares, levando à lise celular.

O fenol (ácido carbólico) é um desinfetante comprovado para laboratórios de micobacteriologia. As substâncias fenólicas “brutas” têm um odor intenso, são irritantes para a pele, olhos e membranas mucosas, sendo também altamente corrosivas. Pelo contrário, os fenóis sintéticos não causam estas irritações. A ingestão de qualquer tipo de substância fenólica é tóxica para os seres humanos.

As matérias orgânicas como as proteínas têm um efeito mínimo nos desinfetantes à base de fenóis, sendo menos afetadas por estes que pelos desinfetantes à base de cloro. Os fenóis sintéticos são principalmente usados em recipientes de resíduos dentro de uma CSB e como alternativa aos desinfetantes à base de álcool e cloro.

Prepare soluções de fenol a 5 % a cada 2 ou 3 dias. É importante assegurar o rigor na diluição dos fenóis, pois um pequeno erro pode fazer variar significativamente a sua atividade.



Cloro

Os cloros são agentes oxidantes muito ativos, responsáveis por inativar as atividades enzimáticas das proteínas. Estes podem também danificar o ADN bacteriano e parar a síntese de ADN.



Os desinfetantes à base de cloro estão amplamente disponíveis no mercado; o mais relevante é talvez a lixívia doméstica, com hipoclorito de sódio como principal agente. O hipoclorito de sódio só está disponível na forma de líquido, preparado através da mistura de cloro com cloreto de sódio. A solução é fortemente alcalina e corrói o metal, incluindo o aço inox. O cloro reage rapidamente com a matéria orgânica e, nestas condições, a concentração tem de ser suficiente para proporcionar uma concentração residual de cloro capaz de inativar eficazmente as micobactérias.

Têm de preparar-se diariamente concentrações de cloro a 0,5-1,0 %. Em recipientes para resíduos, adiciona-se uma concentração mais elevada de desinfetante de forma que, quando cheios, a diluição do cloro esteja correta. Quando usado em recipientes de resíduos ou na limpeza de derrames infecciosos, o material não pode ser esterilizado em autoclave, uma vez que o cloro gasoso produzido danifica rapidamente o equipamento.

Se o cloro for usado para desinfetar superfícies metálicas como as de uma CSB, é necessária uma limpeza por enxaguamento com água estéril ou álcool a 70 % v/v.

Aplicações recomendadas para os desinfetantes

Infraestrutura/ equipamentos do laboratório	Desinfetante principal	Seleção alternativa
Limpeza de rotina de bancadas	Álcool a 70 % v/v	Fenol sintético a 5 %
Limpeza de rotina de CSB	Álcool a 70 % v/v	Fenol sintético a 5 % ou cloro a 0,5-1 % e limpeza com água a seguir
Recipientes de resíduos na CSB	Fenol sintético a 5 %	Cloro a 0,5-1 %
Derrame dentro do copo de biossegurança da centrífuga	Desinfetante não recomendado Esterilize a 121 °C durante 15 minutos	Se for necessário usar um desinfetante, espere 15 minutos, abra-o na CSB e use fenol sintético a 5 %
Derrames dentro de uma CSB*	Fenol sintético a 5 %	Cloro a 0,5-1 % e limpeza com água a seguir
Derrames fora de uma CSB*	Fenol sintético a 5 %	Cloro a 0,5-1 % e limpeza com água a seguir
Equipamentos	Consulte as instruções do fabricante	Álcool a 70 % v/v, caso não se identifique nenhum risco de incêndio

* Consulte o procedimento de limpeza no capítulo 10

Uso de um desinfetante e tempos de contacto

Desinfetante	Concentração e tempo de contacto	Comentários
	Álcoois Álcool a 70 % v/v (álcool desnaturado ou álcool metílico) isopropanol a 70 % v/v Limpe a superfície e deixe secar	A concentração diminui com a evaporação Sem efeitos residuais nem resíduos Danifica borracha e plásticos Não use na forma pulverizada dentro de CSB e onde possa ocorrer formação de faísca
 	Fenóis sintéticos Concentração a 5 % 15 minutos para desinfecções de rotina 30 minutos para derrames fortemente concentrados	Use apenas fenóis sintéticos Elaborado a cada 2-3 dias Dilua as soluções concentradas cuidadosamente para garantir a atividade desinfetante
	Cloro Cloro disponível a 0,5-1 % 15 minutos para desinfecções de rotina 30 minutos para derrames fortemente concentrados	A concentração diminui com o tempo; verifique a data de validade Nova solução de trabalho feita todos os dias As soluções não podem ser tratadas em autoclave Altamente corrosivo em metais, incluindo o aço inox; se usado, limpe-o de seguida com água estéril ou álcool a 70 % v/v Dilua as soluções concentradas cuidadosamente para garantir a atividade desinfetante Intervalo ideal de pH 6-8

Desinfetantes e riscos para a saúde

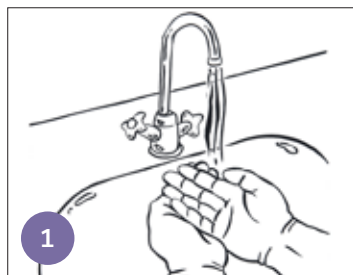
	Desinfetante	Riscos para a saúde	Comentários
	Álcoois	Irritantes para a pele, provocando gretas e rugosidades Inflamáveis, sobretudo na forma pulverizada	Use luvas e bata de proteção com mangas compridas Não use na forma pulverizada Não use onde haja risco de formação de faísca
	Fenóis sintéticos	Potencialmente cancerígenos Tóxicos se ingeridos	Use apenas em zonas bem ventiladas Não ingira
	Cloro	Irritação dos pulmões, tosse devido ao cloro gasoso Irritantes para a pele e os olhos	Proteção dos olhos contra salpicos, sobretudo ao manusear soluções concentradas
			Use apenas em zonas bem ventiladas Use luvas e bata de proteção com mangas compridas



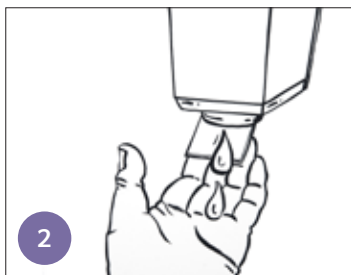
Lave as mãos quando estiverem visivelmente sujas e antes de sair do laboratório

Duração da lavagem das mãos (passos 2 a 7): 15-20 segundos

Duração total do procedimento: 40 a 60 segundos



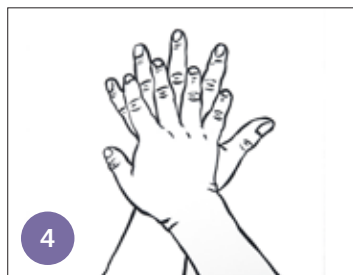
1 Molhe as mãos com água



2 Aplique sabão suficiente para cobrir todas as superfícies das mãos



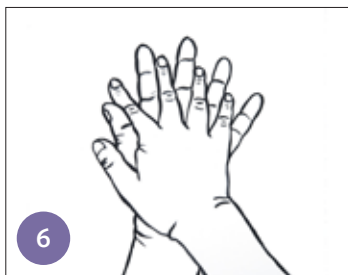
3 Esfregue as palmas das mãos uma na outra



4 Palma direita sobre o dorso esquerdo com dedos entrelaçados e vice-versa



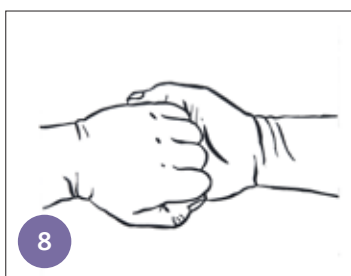
5 Palma contra palma com dedos entrelaçados



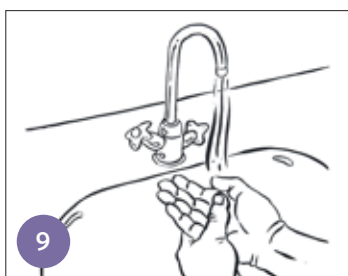
6 Parte de trás dos dedos na palma oposta com os dedos entrelaçados



7 Esfregue o polegar esquerdo em sentido rotativo entrelaçado na palma direita e vice-versa



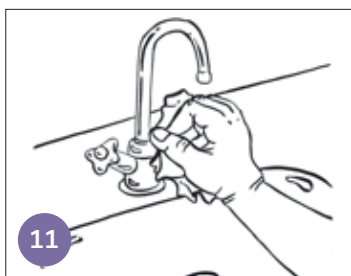
8 Esfregue rotativamente para trás e para a frente os dedos da mão direita na palma da mão esquerda e vice-versa



9 Enxague as mãos com água



10 Seque as mãos com um toalhete descartável



11 Utilize o toalhete para fechar a torneira



12 Agora, as suas mãos estão seguras

As fontes seguintes foram consultadas para a redação deste manual

Association of Public Health Laboratories Tuberculosis Steering Committee (2009). Core TB Laboratory Services for Public Health Laboratories. Washington, DC: Association of Public Health Laboratories.

https://www.aphl.org/programs/infectious_disease/tuberculosis/Documents

Australian/New Zealand Standard 2243.3: 2010 Safety in laboratories – Part 3: microbiological safety and containment. Standards Australia Limited and Standards New Zealand. ISBN 978 0 7337 6996 2

Australian Standard 2252.4: 2010 Controlled environments – Part 4: biological safety cabinets Classes I and II – Installation and use (BS 5726:2005, MOD).

Best M, Sattar SA, Springthorpe VS, Kennedy ME. Efficiencies of selected disinfectants against *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 1990; 28: 2234-2239.

Coriell LL, McGarrity GJ. Biohazard hood to prevent infection during microbiological procedures. Appl Microbiol 1968; 16: 1895-1900.

European Centre for Disease Prevention and Control (2016). Handbook on TB laboratory diagnostic methods for the European Union, Stockholm: ECDC.

<http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/publications/tuberculosis-laboratory-diagnosticmethods-eu.pdf>

European Committee for Standardization. Laboratory biorisk management standard. (ICS 07.100.01; CWA 15793:2011 D/E/F). Brussels: European Committee for Standardization. http://www.uab.cat/doc/CWA15793_2011

Foundation for Innovative New Diagnostics. Siddiqi SH, and Rüsç-Gerdes S. MGIT procedure manual. 2006. Geneva.

Global Laboratory Initiative. 2015. GLI guide to TB specimen referral systems and integrated networks. <http://www.stoptb.org/wg/gli/gat.asp>.

Global Laboratory Initiative. 2017. Guide for providing technical support to TB laboratories in low- and middle-income countries.

<http://www.stoptb.org/wg/gli/gat.asp>

Global Laboratory Initiative. 2017. GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening.

<http://www.stoptb.org/wg/gli/gat.asp>.

Global Laboratory Initiative. 2013. Laboratory diagnosis of tuberculosis by sputum microscopy. The handbook. Global edition. http://www.stoptb.org/wg/glii/assets/documents/TB%20MICROSCOPY%20HANDBOOK_FINAL.pdf

Kim SJ, Lee SH, Kim IS, Kim HJ, Kim SK, Rieder HL. Risk of occupational tuberculosis in National Tuberculosis Programme laboratories in Korea. Int J Tuberc Lung Dis 2007; 11: 138-42.

Kurbatova EV, Cavanaugh JS, Shah NS, Wright A, Kim H, Metchock B, Van Deun A, Barrera L, Boulahbal F, Richter E, Martín-Casabona N, Arias F, Zemanova I, Drobniewski F, Santos Silva A, Coulter C, Lumb R, Cegielski JP. Rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: susceptibility to isoniazid and other anti-tuberculosis drugs. Int J Tuberc Lung Dis 2012; 16: 355-357.

Loudon RG, Roberts RM. Droplet expulsion from the respiratory tract. *Am Rev Respir Dis* 1967; 95: 435-442.

Macher JM, First MW. Effects of airflow rates and operator activity on containment of bacterial aerosols in a Class II safety cabinet. *Appl Env Microbiol* 1984; 48: 481-485.

New Zealand Ministry of Health. Guidelines for tuberculosis control in New Zealand 2010. Available at: <http://www.health.govt.nz/publication/guidelines-tuberculosis-control-newzealand-2010>

Padmapriya BP, Sivasubramani SK, Blakemore R, Boehme C, Perkins MD, Fennelly K, Alland D. Containment of bioaerosol infection risk by the Xpert® MTB/RIF Assay and its applicability to point-of-care settings. *J Clin Microbiol* doi:10.1128/JCM.01053-10

Public Health England 2014. UK Standards for Microbiology Investigations: Investigation of specimens for Mycobacterium species. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/411244/B_4_Oi6.1_UR.pdf

Rake BW. Influence of crossdrafts on the performance of a biological safety cabinet. *Appl Env Microbiol* 1978; 36: 278-283.

Ratnam S, March SB. Effect of relative centrifugal force and centrifugation time on sedimentation of mycobacteria in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 582-585.

Reider HL, Van Deun A, Kam KM, Kim SJ, Chonde TM, Trebucq A, Urbanczik R. Priorities for tuberculosis bacteriology services in low-income countries. 2007. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union).

Riley RL, Mills CC, Nyka W, Weinstock N, Storey PB, Sulton LV, Riley MC, Wells WF. Aerial dissemination of pulmonary tuberculosis. A two-year study of contagion in a tuberculosis ward. *Am J Hyg*; 1959; 70: 185-196.

US Department of Health and Human Services Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, and the National Institutes of Health. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th edition, 2009. HHS Publication No. (CDC) 21-1112.

Van Soolingen D, Wisselink HJ, Lumb R, Anthony R, Van der Zanden A, Gilpin C. Practical biosafety in the tuberculosis laboratory: containment at the source is what truly counts. *Int J Tuberc Lung Dis*; 2014; 18: 885-889.

World Health Organization. Drug-resistant TB: global situation. <http://www.who.int/tb/areas-of-work/drug-resistant-tb/global-situation/en/>

World Health Organization. Manual de biossegurança nos laboratórios de tuberculose. WHO/HTM/TB/2012.11. Geneva, WHO, 2012. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77949/1/9789241504638_eng.pdf

World Health Organization. Global tuberculosis report 2018. WHO/CDS/TB/2018.20. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/, accessed 14 December 2018.

