QUALIDADE

BIOSSEGURANÇA E GESTÃO AMBIENTAL NO LABORATÓRIO

Uma Experiência Técnica

Graciliane Nobre da Cruz Ximenes

QUALIDADE

BIOSSEGURANÇA E GESTÃO AMBIENTAL NO LABORATÓRIO

Uma Experiência Técnica

QUALIDADE

BIOSSEGURANÇA E GESTÃO AMBIENTAL NO LABORATÓRIO

Uma Experiência Técnica

Graciliane Nobre da Cruz Ximenes

Editora UFPE

Recife, 2020

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS. Proibida a reprodução total ou parcial, por qualquer meio ou processo, especialmente por sistemas gráficos, microfílmicos, fotográficos, reprográficos, fonográficos e videográficos. Vedadas a memorização e/ou a recuperação total ou parcial em qualquer sistema de processamento de dados e a inclusão de qualquer parte da obra em qualquer programa juscibernético. Essas proibições aplicam-se também às características gráficas da obra e à sua editoração.

Catalogação na fonte:
Bibliotecária Kalina Ligia França da Silva, CRB4-1408

S6q Ximenes, Graciliane Nobre da Cruz.
Qualidade, biossegurança e gestão ambiental no laboratório : uma experiência técnica / Graciliane Nobre da Cruz Ximenes. – Recife : Ed. UFPE, 2019.
213 p. : il.

Inclui bibliografia.
ISBN 978-85-415-1106-3 (broch.)

1. Laboratórios de química – Medidas de segurança. 2. Laboratórios microbiológicos – Medidas de segurança. Laboratórios – Controle de qualidade. I. Titulo.

542.10289 CDD (23.ed.) UFPE (BC2019-028)

Editora UFPE

Rua Acadêmico Hélio Ramos, 20, Várzea
Recife, PE | CEP: 50.740-530
Fone: (81) 2126.8397 | Fax: (81) 2126.8395
www.ufpe.br/edufpe | livraria@edufpe.com.br

A Deus, a minha adoração;
A Universidade Federal de Pernambuco, o meu reconhecimento;
Aos meus pais, a minha gratidão;
Ao meu esposo e filhos, o meu amor eterno.

SUMÁRIO

Apresentação 15

1 CONSIDERAÇÕES SOBRE EQUIPE TÉCNICA E O LABORATÓRIO 19

Treinamento 20

2 SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE (SGQ) 25

Senso de utilização 29

Senso de ordenação e organização 29

Senso de limpeza 30

Senso de asseio, higiene e saúde 31

Senso de autodisciplina e ordem mantida 31

3 BOAS PRÁTICAS NO LABORATÓRIO 35

Instruções gerais 36

Instrumentos e equipamentos 38

Funil Buchner, cápsulas, cadinhos, almofariz e pistilo 38

Sistema de filtração 40
Pipetas graduadas e volumétricas 45
Instruções para uso de pipetas graduadas e volumétricas 48
Chapas ou mantas aquecedoras 50
Forno Mufla 52
Balança analítica 55
Localização da balança analítica 57
Cuidados operacionais com a balança analítica 58
Repetitividade e reprodutividade 59

4 NORMAS DE CONDUTA NO LABORATÓRIO 63

5 CONTROLE DE REAGENTES, MEIOS DE CULTURA, VIDRARIAS E EQUIPAMENTOS 67

6 BIOSSEGURANÇA NO LABORATÓRIO 73

Recomendações de biossegurança 75

Princípios básicos de biossegurança 76

Práticas seguras no laboratório 81

Símbolos de segurança em laboratórios 84

Uso obrigatório de luvas 86

Higienização das mãos 87

Higienização dos respiradores 88

Kit de primeiros socorros 90

7 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO 93

Equipamentos de proteção individual (EPI) 94
Jaleco 97
Luvas 97
Óculos de segurança 101

Máscara (respiradores) 101
Peças semifaciais filtrantes 102
Peças faciais inteiras 105

Equipamentos de emergência 107
Extintores de incêndio 107
Manta corta-fogo 109
Chuveiro e lava-olhos 110

Equipamentos de proteção coletiva (EPC) 110
Capelas 111
Cabines de segurança biológica (CSB) ou capelas de fluxo laminar 113
Como proceder na cabine de segurança biológica (CSB) 115
Classes das cabines de segurança biológica (CSB) 116
Instruções de uso da CSB 118
Descontaminação da cabine de segurança biológica 119

8 PROCEDIMENTOS EM SITUAÇÃO DE EMERGÊNCIA 123

Primeiros socorros 123

Providências em caso de derramamento de líquidos inflamáveis, produtos tóxicos ou corrosivos 124

9 RISCOS E CONTROLES DE INTOXICAÇÃO E CONTAMINAÇÕES NO LABORATÓRIO 127

Natureza dos riscos e seus agentes 127

Intoxicação química 130

Toxicidade de algumas substâncias químicas mais usuais 130

10 FALANDO SOBRE O LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA 137

Classificação de microrganismos patogênicos por grupo de risco 138

Vias de transmissão de patógenos 142
Transmissão aérea 143
Transmissão ocular 143
Transmissão cutânea ou parenteral 143
Transmissão oral 144

Instruções de segurança para uso da Autoclave 144

Procedimento técnico para esterilização 146

Procedimento técnico para descontaminação 148

Fatores que interferem na eficácia dos processos de higienização e sanitização 148
Químicos sanitizantes 149

Etapas da higienização 151
Tipos de detergentes e suas funções 153

Etapas para sanitização 154
Sanitização por meio químico 156
Referências a alguns agentes sanificantes usuais 156
Sanitização por meio físico 164

Instrução para lavagem de vidraria e materiais resultantes de ensaio microbiológico 165

11 PROCEDIMENTO DE LIMPEZA DO LABORATÓRIO 171

Paredes e teto 171

Piso, janelas e portas 172

Bancadas 172

12 GESTÃO AMBIENTAL 177

Resíduos de laboratório 182

Recolhimento e classificação 183

Descarte de resíduos sólidos 185

Descartes de gases ou vapores do laboratório 185

Descartes de líquidos 186

Descarte de líquidos contendo metais pesados 186

Descarte de líquidos sem metais pesados e sem fluoretos 187

Descarte de solventes orgânicos clorados e não clorados 187

Descarte de resíduos diretamente na pia 187

Compostos orgânicos 188

Compostos inorgânicos 188

13 ESTOCAGEM DE RESÍDUO FINAL 191

Estocagem de resíduos biológicos 193

Armazenamento de gases 194

Armazenamento de líquidos e sólidos 195

14 CONSIDERAÇÕES FINAIS 203

15 LITERATURA RECOMENDADA 207

APRESENTAÇÃO

A decisão de fazer este trabalho faz parte de um desejo antigo de partilhar um pouco de minha experiência na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), instituição formadora de minha história profissional. Este caminho foi trilhado numa direção singular, reflexo de ações muito determinantes, fruto de crescente paixão e afinidade pelo conhecimento do Sistema de Controle da Qualidade.

As boas escolhas estão atreladas a tudo aquilo que traduz confiança e qualidade; parâmetros como organização, rastreabilidade, confiabilidade, precisão, repetibilidade, segurança e exatidão, por exemplo, apresentam uma relação muito estreita com a implantação do Sistema de Gestão de Qualidade. Tudo isso tem impacto considerável no modelo de trabalho a ser adotado e, consequentemente, nos princípios a serem seguidos.

Considerando que um sistema dinâmico e contínuo permeia a trajetória da UFPE, gerando pessoas formadoras de opinião e multiplicadoras de conhecimento, registro nas páginas que se seguem a minha contribuição de modo a partilhá-la com outros profissionais, técnicos, docentes e discentes, que certamente continuarão passando por esta instituição, fazendo novas histórias e buscando incansavelmente novas descobertas e outros conhecimentos.

O objetivo desta obra é orientar trabalhos em laboratórios de ensaios, alinhando-os com princípios e técnicas que fortalecerão condutas e rotinas seguras. Esperamos, com isso, contribuir para um ambiente agradável e produtivo, com riscos e perigos reduzidos, a fim de colaborar com o desenvolvimento profissional, credibilidade e segurança, no seu mais amplo aspecto, do aluno e profissional do futuro.

1

CONSIDERAÇÕES SOBRE EQUIPE TÉCNICA E O LABORATÓRIO

O ponto de partida para implantação de um Sistema de Gestão de Boas Práticas de Laboratório (BPL) e da Garantia da Qualidade, advinda deste princípio é o fator motivacional da equipe de trabalho.

Qualquer que seja a forma de motivação, deve deixar nos profissionais, sejam estes técnicos, discentes, ou docentes os seguintes princípios:

1. Melhoria contínua gerada pelas ações de qualidade.
2. Igualdade entre todos que fazem o sistema.
3. Valorização do Trabalho em Equipe.
4. Conquista por meio de Motivação e Desafios.

Dentro desse olhar, é possível perceber que a implantação do Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ) necessita de ações contínuas, por ser um sistema dinâmico e que requer colaboração e coparticipação de todos.

Para o laboratório, o conjunto de ações interativas estimula, sobretudo, as relações interpessoais, trazendo melhorias em todos os aspectos. Quando todos se percebem atuantes, participantes e responsáveis pelos resultados do esforço conjunto, fica

caracterizada uma evidente satisfação de todos; sendo perceptível os excelentes benefícios oriundos dessa ação. Estes princípios adotados, agregam valor ao SGQ e são o caminho inicial, para o processo de implantação da *Acreditação* do laboratório.

Dentre as várias medidas a serem tomadas para o processo de implantação do SGQ, algumas delas são fundamentais e merecem ser mencionadas:

1. Adoção de metodologias analíticas oficiais;
2. Preferência por equipamentos com alto desempenho;
3. Calibração em rede de laboratórios acreditados pela Rede Brasileira de calibração (RBC);
4. Aquisição de insumos com elevada qualificação, certificados por órgãos oficiais;
5. Adoção periódica de sistemas que permitam a avaliação crítica de suas metodologias;
6. Capacitação de sua equipe técnica, a saber podendo-se considerar a participação em ensaios intra-laboratoriais e inter-laboriais, inclusive para critérios de validações de metodologias.

Treinamento

O planejamento do treinamento da equipe deve ser estabelecido pela Gerência Técnica (GT) em conjunto com a Gerência da Qualidade (GQ) do SGQ com muito critério, respeitando-se o grau de

ACREDITAÇÃO

É a comprovação da competência técnica, credibilidade e capacidade operacional do laboratório. Imprime uma linguagem universal e globalizada, mediante a adoção de critérios que conduzem a confiabilidade e rastreabilidade dos parâmetros envolvidos no decorrer de todo processo analítico e relacionado a este, portanto assegurando os resultados satisfatórios esperados.

escolaridade de cada um e suas atribuições dentro do ambiente de trabalho.

O treinamento e a capacitação devem iniciar sempre com a sensibilização de toda equipe, de modo gradual, contemplando ações participativas de produção de conhecimento, com base em análises sistemáticas de resultados, gerando instrumentos que contribuam para obtenção de êxito, a médio e longo prazo, ou de impacto, segundo os objetivos a que se propõem.

Os programas de treinamento devem variar de breves introduções informais até longas e planejadas explanações; devem ser dirigidos de modo a fornecerem um entendimento básico do trabalho desenvolvido no laboratório e dos princípios por ele adotados. Devem estabelecer metas a serem atingidas dentro de um tempo predefinido. Precisam abordar os princípios de BPL, biossegurança, relações interpessoais, assim como condutas de ética e respeito ao meio ambiente. A elaboração de planejamento de conduta para o tratamento dado aos resíduos e controles dos seus impactos ambientais é muito importante. Estes programas devem ser avaliados criticamente em reuniões rotineiras com os responsáveis técnicos (RT) e a GQ, buscando melhorias contínuas do sistema.

Os investimentos financeiros para estes fins são da competência da alta direção da instituição, podendo ser prevista à priori pelos gestores de cada laboratório em acordo com as coordenações dos cursos e chefias de departamento. Deve-se sugerir semestralmente uma semana de capacitação, ao iniciar o semestre letivo, momento este onde seria interessante a participação de todos os colaboradores que fossem desenvolver trabalho técnico no ambiente laboratorial, dentro daquele período, cabendo esta iniciativa aos docentes apoiados pela sua equipe técnica.

O transcorrer do treinamento se mostra muito oportuno para a apresentação e integração de todos àqueles que necessitam do Laboratório, para o desenvolvimento de suas atividades analíticas, junto ao corpo técnico deste.

A equipe técnica formadora da instituição deve ser motivada a participar de cursos, seminários e congressos, sendo desta maneira seus membros reciclados nas suas competências técnicas, além de alimentarem seu portfólio de contatos com outros laboratórios, profissionais da área e afins, além de fornecedores de equipamentos e insumos e novas tecnologias inovadoras, sendo o conjunto desses aspectos enriquecedores para instituição.

SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE (SGQ)

Um alicerce laboratorial com reconhecimento internacional é um diferencial significativo no que diz respeito à qualificação de processos, produtos e recursos humanos e à remoção de barreiras técnicas comerciais e científicas. Nesse contexto, a evidente necessidade de estabelecer parâmetros comparáveis e aceitos no mundo todo favorece a formação de acordos e parcerias de âmbito nacional e internacional.

Estabeleceu-se a aceitação de dados técnicos de laboratórios de ensaio e calibração para bens exportados e o desenvolvimento global de uma rede de laboratórios acreditados através de um acordo de reconhecimento mútuo celebrado com o Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial (INMETRO).

Os arranjos internacionais gerenciados pela *International Laboratory Accreditation Cooperation* (ILAC) nos campos de calibração, testes, testes médicos e de inspeção e *International Accreditation Forum* (IAF) nos campos de sistemas de gerenciamento, produtos, serviços, pessoal e outros programas similares de avaliação de conformidade. Ambas as organizações, ILAC e IAF, trabalham juntas e coordenam seus esforços para melhorar a acreditação e a avaliação da conformidade em todo o mundo.

A ILAC é a organização internacional para organismos de acreditação que operam de acordo com a ISO/IEC 17.011 e envolvida na acreditação de organismos de avaliação de conformidade, incluindo laboratórios de calibração (utilizando ISO/IEC 17.025:2005), laboratórios de testes (utilizando ISO/IEC 17.025:2005), laboratórios de testes médicos (usando ISO 15.189) e órgãos de inspeção (usando ISO/IEC 17.020). Teve início como uma conferência, que se realizou de 24 a 28 de outubro de 1977 em Copenhague, na Dinamarca, com o objetivo de desenvolver a cooperação internacional para facilitar o comércio, promovendo a aceitação de testes credenciados e resultados de calibração. Em 1996, tornou-se uma cooperação formal com um estatuto para estabelecer uma rede de acordos de reconhecimento mútuo entre os órgãos de acreditação.

O órgão no Brasil autorizado a dar tal acreditação é o INMETRO, através da Coordenação Geral de Acreditação - CGCRE. A ISO/IEC 17025 tem uma parte referente aos "Requisitos da Direção", muito similar à Norma ISO 9001, e outra que se refere aos "Requisitos Técnicos". Estes, trazem obrigatoriedades como uso de padrões e calibração de equipamentos que conferem à Norma ABNT NBR ISO/IEC 17.025 seu grande diferencial em relação a outras normas.

No Brasil, a publicação é feita pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), e a norma ganha o nome ABNT NBR ISO/IEC 17025. A mais recente edição da norma internacional é de 2005 e a ABNT publicou-a no Brasil em 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS

A Norma ABNT NBR ISO/ IEC 17.025 trata dos requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração, devendo, portanto, ser aplicada no Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ), para o processo de Acreditação do laboratório, atestando assim sua competência técnica internacionalmente.

Dessa forma, os laboratórios que desejam demonstrar sua competência devem implantar os requisitos da norma e se submeter à auditoria do acreditador. A Norma ABNT ISO/IEC 17.025 - Requisitos Gerais para Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração é uma norma para Sistema de Gestão em Laboratórios. Esta norma é publicada internacionalmente pela *International Organization of Standardization* (ISO) em conjunto com a *International Electrotechnical Commission* (IEC).

Os órgãos de credenciamento são estabelecidos em muitas economias com o objetivo principal de assegurar que os órgãos de avaliação da conformidade sejam submetidos à supervisão por um órgão competente. Os órgãos de acreditação, que foram avaliados pelos pares como competentes, assinam acordos regionais e internacionais para demonstrar suas competências. Esses órgãos de credenciamento avaliam e acreditam os órgãos de avaliação da conformidade para as normas relevantes. Os arranjos apoiam a prestação de serviços locais ou nacionais, tais como fornecimento de alimentos seguros e água potável, fornecimento de energia, prestação de cuidados de saúde e sociais ou manutenção de um ambiente não poluído. Além disso, os acordos aumentam a aceitação de produtos e serviços em todas as fronteiras nacionais, criando assim um quadro para apoiar o comércio internacional através da remoção de barreiras técnicas.

VOCÊ SABIA?

No âmbito de sua ampla missão institucional, o INMETRO tem como objetivo fortalecer as empresas nacionais, aumentando sua produtividade por meio da adoção de mecanismos destinados à melhoria da qualidade de produtos e serviços. Sua missão é prover confiança à sociedade brasileira nas medições e nos produtos, através da metrologia e da avaliação da conformidade, promovendo a harmonização das relações de consumo, a inovação e a competitividade do País.

Um laboratório acreditado pela norma ABNT ISO IEC 17025:2005 pode ser considerado competente e seu resultado, aceito como verdadeiro. Como todo sistema de gestão, os documentos devem ser escritos e gerenciados. É comum que se tenha um Manual da Qualidade (MQ), Manual de Boas Práticas e Biossegurança (MBPB), procedimentos de gestão, procedimentos técnicos e administrativos, Instruções de uso de equipamentos e formulários de controle e rastreabilidade e registros das atividades. Existem alguns documentos por parte do INMETRO que explicam passo a passo como é a relação do Organismo de Avaliação da Conformidade (OAC) com a acreditadora.

As instituições de ensino e de pesquisa, a exemplo das universidades, são agentes fundamentais na formação de recursos humanos com competência técnica, científica e social e na realização de pesquisas, base para as inovações, com evidente contribuição para o contexto tecnológico do país. De modo que é perfeitamente factível a implantação de um SGQ nos laboratórios de instituições de ensino e pesquisa e nos projetos de extensão prestadores de serviços. Evidentemente, amparados pela norma ABNT NBR ISO/IEC 17.025:2005, garantindo identidade e confiabilidade internacional em todos seus resultados.

Dentre as diversas ferramentas para implantação de um SGQ, a adoção do programa 5S pode ser considerada um passo inicial

ISO (*International Organization of Standardization*) é a sigla da Organização Internacional com sede em Genebra, na Suíça e que cuida da normatização de produtos e procedimentos em escala mundial. O propósito da ISO é desenvolver e promover normas e padrões mundiais nos mais diferentes segmentos que traduzam o consenso dos mais diferentes países do mundo de forma a facilitar o comércio internacional.

para uma adequação do ambiente laboratorial, assim como um meio de sugerir mudanças de comportamento e ruptura de alguns paradigmas.

O organograma a seguir está suportado em cinco conceitos simples que fundamentam este programa.

Organograma 01: Fundamentos do programa 5S.

Senso de utilização

Os objetos e equipamentos que não estão em funcionamento devem ser criteriosamente separados daqueles em uso; identificando cada um e mantendo-os dentro de uma logística que facilite o desenvolvimento do trabalho. Aqueles equipamentos, insumos, instrumento com menor utilização deverão ficar em áreas de menor acesso e os que estiverem fora de uso devem ser doados, vendidos, substituído por processo de permuta, ou destinados a um local de arquivo morto.

Senso de ordenação e organização

Deve-se definir um arranjo simples, que permita obter apenas o que se precisa, na hora certa. Esta ação permite menor tempo de busca do que é preciso para operar com eficiência (figuras 01 e

02 e 03). Otimiza-se, assim, o tempo e além disso, evita-se a aquisição de matérias primas e insumos desnecessários e prejuízos ocasionados pela expiração do prazo de validade dos produtos armazenados. Aumenta a produtividade dos colaboradores e equipamentos e permite uma maior racionalização do trabalho.

Senso de limpeza

Devem-se eliminar os resíduos, a sujeira e os materiais estranhos, devendo usar a limpeza como forma de inspeção de equipamentos, reagentes, vidrarias e materiais. Este procedimento facilita a credibilidade nos serviços sendo fundamental para a imagem interna e externa das unidades organizacionais do laboratório (figuras 02 e 03).

Figura 01: Mostra parte do almoxarifado de substâncias químicas e insumos de forma ordenada e criteriosa, de fácil localização do produto.

Senso de asseio, higiene e saúde

Devem-se manter os objetos e equipamentos organizados, arrumados e limpos, incluindo os aspectos pessoais e os relacionados à poluição (ver figuras 02 e 03). Este procedimento facilita a segurança e o melhor desempenho dos colaboradores e do laboratório, evita danos à saúde, além de elevar o nível de satisfação e motivação da equipe relativa ao trabalho e ao laboratório.

Senso de autodisciplina e ordem mantida

Este procedimento evita perdas devido à falta de rotinas e traz previsibilidade do resultado final de qualquer operação.

Figura 02: Mostra laboratório com disposição dos equipamentos ordenada, área de circulação adequada e piso e ambiente geral limpos e satisfatórios.

Figura 03: Mostra Sala de Microscopia Eletrônica de varredura em condições de organização, higiene e limpeza satisfatórios.

BOAS PRÁTICAS NO LABORATÓRIO

Conjunto de normas, procedimentos e atitudes de segurança, que visam minimizar os acidentes, aperfeiçoar a eficiência, credibilidade e a garantia da validade científica dos procedimentos adotados pelo laboratório.

O entendimento de normas reguladoras de Boas Práticas de Laboratório (BPL), associadas às normas de biossegurança, contribuem com a segurança no ambiente do laboratório, assim como motiva a autoconfiança do colaborador (analista) e aperfeiçoa o desempenho analítico, impactando na qualidade dos resultados. Fortalecem as ações que competem ao SGQ e a Gestão Ambiental.

Objetivos da implantação de BPL:

1. Estabelecer normas que propiciem melhores condições de trabalho, segurança e proteção para todos os usuários do laboratório.
2. Garantir a qualidade dos experimentos.
3. Promover a exatidão dos resultados de ensaios.
4. Realizar a repetitividade (precisão) e reprodutibilidade dos resultados de ensaios (ver item Repetitividade e Reprodutividade).

5. Definir responsabilidades e comprometimento com as atividades fins e com o ambiente de trabalho.
6. Reduzir os acidentes de trabalho.

Instruções gerais

- Treinar e capacitar todos que utilizarão o ambiente do laboratório para desenvolver as atividades pertinentes neste.
- Elaborar um Manual de Boas Práticas e Biossegurança com normas e diretrizes a serem implementadas.
- Criar Procedimento Operacional Padrão (POP) e Instruções de uso de equipamentos, acessível e de fácil entendimento para os usuários do laboratório.
- Seguir as orientações de uso dos equipamentos fundamentadas no Manual do Fabricante e descritas nas Instruções de Uso.
- Realizar verificações e calibrações, quando pertinentes, e manutenções preventivas e corretivas nos equipamentos, previstas e documentadas.
- Utilizar métodos de ensaio, incluindo os métodos para amostragem que sejam apropriados para o que se destina. Preferencialmente devem ser utilizados métodos que tenham sido publicados em normas internacionais, nacionais ou regionais.
- O laboratório deve assegurar a utilização da última edição válida de uma norma, a não ser que isto não seja apropriado, quando necessário a norma deve ser suplementada para assegurar uma aplicação consistente.
- Os métodos desenvolvidos pelo próprio laboratório precisam ser validados (confirmação por evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido sejam atendidos).
- Os laboratórios de ensaios devem adotar procedimentos para expressar a incerteza de medição de seus resultados.

- O laboratório deve ser aparelhado com todos os equipamentos, para amostragem, medição e ensaios requeridos, visando o correto desempenho do processamento e análise dos resultados.
- Os equipamentos e software devem ser capazes de alcançar a exatidão requerida e devem atender às especificações pertinentes aos ensaios em questão.
- Os equipamentos devem ser operados somente por técnico, quando treinado e capacitado e discente, quando autorizado pelo professor responsável.
- Cada item do equipamento e seu software que tenha significância para expressão do resultado deve ser univocamente identificado.
- Devem ser mantidos registros por tempo preestabelecido em Manual, de cada item do equipamento e seu software, que sejam significativos para os ensaios.
- O laboratório deve ter procedimentos para efetuar em segurança o manuseio, o transporte, armazenamento, uso e manutenção planejada dos equipamentos de medição, de modo a assegurar seu correto funcionamento e prevenir descalibração e deterioração.
- Utilizar vidrarias preferencialmente classe A com certificado de conformidade e calibração realizadas por laboratório acreditado da rede metrológica e rastreáveis ao Sistema Internacional de Unidades (SI).
- Utilizar substâncias químicas com certificado de qualidade emitidos por órgãos oficiais de acreditação ou rastreável ao (SI).
- Os laboratórios devem apresentar padrões de referência certificados por organismos rastreáveis ao (SI).
- Deve manter um programa e procedimento para calibração de seus padrões de referência.
- Trabalhar em rede com os laboratórios que sejam acreditados pelos órgãos oficiais de acreditação.

Instrumentos e equipamentos

Funil Buchner, cápsulas, cadinhos, almofariz e pistilo

Funil de Buchner: usado em filtrações a vácuo. Pode se apresentar em material de porcelana ou de vidro com placa porosa. Deve ser adaptado a um kitassato, cuja saída lateral se liga a uma trompa de vácuo (figura 04).

Figura 04: Funil Buchner de porcelana

Cápsula: pode ser usada para dissolver sólidos em líquidos e concentrar soluções por evaporação do solvente. A cápsula de porcelana pode ser aquecida diretamente na chama, também é usada para determinação de umidade em estufas para este fim (figura 05).

Cadinho: recipiente que pode ser também confeccionado em ferro, prata ou platina. Pode ou não ter tampa. Resiste a elevadas temperaturas,sendo utilizado para *calcinações* (figura 06).

Figura 05: Cápsula de porcelana

Figura 06: Cadinhos

CALCINAÇÃO

Tratamento térmico de sólidos, capaz de promover transformações físico-químicas como a eliminação de substâncias voláteis neles contidas (p. ex., dióxido de carbono de carbonatos, água de argilas, matéria orgânica de materiais diversos), a produção de óxidos (p. ex., a obtenção de cal, a partir de carbonato de sódio).

Almofariz e Pistilo: utilizado para triturar e pulverizar sólidos, triturar amostras sólidas (figura 07).

Figura 07: Almofariz e pistilo

Sistema de filtração

A filtração é um processo físico de separação de misturas heterogêneas do tipo sólido-líquido ou gás-sólido. Como o próprio nome indica, utiliza-se um filtro (um material poroso) para reter as partículas sólidas, separando-as do líquido ou do gás. Existem dois tipos de filtração: a filtração simples ou comum ou filtração a vácuo.

Filtração simples: é usado um papel de filtro dentro das especificações recomendadas pela metodologia, que possui formato de círculo, este é dobrado ao meio duas vezes, ficando dividido em quatro partes.

O papel pregueado (dobrado oito vezes) aumenta a área de superfície de filtração, acelerando o processo. Se a parte que interessa é o resíduo sólido, que fica retido no papel de filtro, é possível dobrá-lo ainda mais para deixá-lo ainda mais pregueado.

O papel de filtro é então colocado em um *funil simples* de vidro de haste longa (figura 08). Com o auxílio de um *bastão de vidro*, a mistura é transferida. Enquanto as partículas sólidas ficam retidas no filtro, o líquido passa pelos poros e é recolhido em outro recipiente, geralmente *Erlenmeyers* (figura 09), que fica posicionado logo abaixo da haste do funil. A figura 10 mostra um sistema de filtração simples.

Figura 08: Funil de vidro simples

Figura 09: Erlenmeyers

Figura 10: Sistema de filtração simples

Filtração a vácuo: Se aplica um vácuo (baixa pressão) dentro do recipiente *kitassato* que coletará a solução filtrada, o que faz com que haja uma sucção que acelera o processo.

A Figura 11 mostra a aparelhagem que é usada na filtração a vácuo, também chamada de filtração a pressão reduzida. Esse tipo de filtração utiliza o papel de filtro na forma original de círculo dentro do *funil de Buchner*. Esse funil é acoplado ao *kitassato* (figura 12) com uma borracha que impede a entrada de ar dentro dele. Uma mangueira acoplada a uma trompa de água puxa o ar de dentro do kitassato, diminuindo, assim, a pressão dentro dele. Desse modo, quando se passa a mistura por esse sistema, a diferença de pressão leva à sucção da parte líquida e deixa o sólido no papel de filtro praticamente seco.

Figura 11: Sistema de filtração a vácuo

Considerações importantes:

1. Usar proteção facial, para operar sistemas a vácuo (ver capítulo 7).
2. Não fazer vácuo subitamente em qualquer equipamento de vidro. Os produtos de vidro desenhados para aplicações de vácuo são os *dessecadores* (figura 13) e os frascos de filtração *kitassato*.
3. Usar vaso intermediário *kitassato*, quando estiver utilizando vácuo.

Figura 12: Kitassato

KITASSATO

Um aparato de laboratório químico de vidro espesso com orifício lateral, geralmente usado acoplado com um funil de porcelana – Funil de Buchner, em sistema de vácuo. Seu nome se deve a Shibasaburo Kitassato, bacteriologista japonês (1852-1931).

Figura 13: Dessecador

Pipetas graduadas e volumétricas

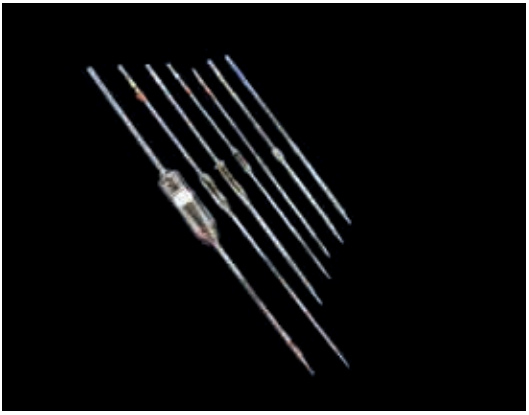
As pipetas são instrumentos volumétricos usados para a medição e transferência de substâncias líquidas de modo preciso, sob determinadas temperaturas. Podem ser de dois tipos: pipetas graduadas ou pipeta de medida, pipetas volumétricas, também chamadas de pipetas de transferência ou pipetas aferidas, ou de volume único. Podem ser definidas da seguinte maneira:

- *Pipetas graduadas:* são tubos cilíndricos com uma escala numerada de alto para baixo, ou inversamente, até a sua capacidade máxima. Podem ser usadas para transferir volumes variáveis de seu volume total, com exatidão menor que a pipeta volumétrica (figura 14).

- *Pipetas volumétricas:* são tubos de vidro expandidos cilindricamente na parte central, possuem a extremidade inferior estreita e têm a marca de calibração do seu volume gravada na sua parte superior. Podendo ser encontradas nos volumes de 1,00 a 200,00 mL (figura 15).

Figura 14: Pipetas graduadas

Figura 15: Pipetas volumétricas



Tipos de pipetas graduadas:

- Tipo 1: volume nominal na extremidade inferior, esgotamento parcial para todos os volumes;
- Tipo 2: volume nominal no topo, esgotamento total também para volumes parciais;
- Tipo 3: volume nominal na parte inferior, esgotamento total apenas para o volume nominal.

As normas ISO 1769 e ASTM E969-83 também mencionam a codificação em faixas e cores para cada tipo de pipeta, dependendo da sua faixa de escala e divisão. Isso quer dizer que cada pipeta tem cor e quantidade de faixas específicas para o seu tipo (FIOROTTO, 2014).

As pipetas podem ser classificadas, segundo seu modo de operação: a de esgotamento total (pipeta de sopro) e a de esgotamento parcial.

A *pipeta de sopro* apresenta uma marca similar à forma de um anel de cor branco fosco, acima da codificação de cor da pipeta, podendo também vir adicionado de uma impressão indicando que o instrumento é uma pipeta de sopro "*blow-out*", "*souffler*" ou equivalente. A leitura da pipeta de sopro é feita ajustando o menisco no ponto máximo desejado, e é desprezado o volume total. Porém, deve-se, além disso, assoprar a última gota que resta na ponta da pipeta.

A *pipeta de esgotamento parcial* apresenta uma marca similar a dois anéis brancos (fosco) acima da codificação de cor da pipeta, próximo da parte superior. Neste tipo de pipeta, o líquido residual que ainda permanece na ponta da pipeta, já foi levado em conta durante a calibração e, portanto, não deve ser descartado no recipiente.

Instruções para uso de pipetas graduadas e volumétricas

1. Encher a pipeta com um instrumento auxiliar tipo pera de borracha, até aproximadamente 5 mm acima da graduação desejada.
2. Remover qualquer líquido remanescente da ponta da pipeta com um lenço.
3. Ajustar o menisco.
4. Remover qualquer gota de líquido aderida à ponta.
5. Segurar a pipeta verticalmente. Verter o líquido com a ponta da pipeta em contato com a superfície interna inclinada do recipiente coletor.
6. Quando o menisco estabilizar na ponta, o tempo de espera de 5 segundos (somente tipo 2).
7. Ao utilizar pipetas graduadas do tipo 1 ou tipo 3 (ponto zero no topo), o menisco deve: a) Primeiramente ser ajustado no ponto zero e então deve correr até um pouco acima do volume parcial desejado. b) Após o tempo de espera de 5 segundos, o menisco deve ser ajustado uma segunda vez. Após o tempo de espera, arrastar a ponta da pipeta para cima sobre a parede interna do recipiente por aproximadamente 10 mm para remover o líquido residual.
8. Trabalhar com pipetas graduadas tipo 2 é muito mais rápido e simples. Com os tipos 1 e 3 existe o risco de que o ajuste pela segunda vez, sempre necessário, leve a um excesso de líquido liberado, e que a amostra tenha que ser preparada novamente.

Práticas seguras recomendam o uso de instrumentos que acoplados às pipetas gerem maior conforto ao operador, como as peras manuais, os dispensadores mecânicos, automáticos ou eletrônicos.

O modo mais comum de exposição, associado envolve a sucção. Para se reduzirem os riscos de infecção e contaminação, ou

queimaduras e envenenamento dos analistas (colaboradores), são necessárias técnicas seguras para o uso das pipetas de vidro graduadas e volumétricas.

Em laboratórios de ensaios físico-químicos, o procedimento para pipetar deve ser realizado com atenção, sendo proibidas técnicas de aspirar soluções. Deve-se observar criteriosamente a movimentação do menisco; este deverá ficar muito próximo do volume desejado, sobre este ou um pouco acima na escala da pipeta e controlado cuidadosamente com a pera de borracha ou dispensador.

Para ajustar o menisco, o instrumento volumétrico deve ser mantido na posição vertical e os olhos do observador devem estar na mesma altura do menisco. Nesta posição, a marca anelar é visualizada como uma linha. O menisco aparece escuro e com visualização mais fácil em frente a um fundo claro e com um pedaço de papel escuro mantido imediatamente abaixo da marca anelar de graduação.

Nos laboratórios de ensaios microbiológicos, existe o risco de inalação de aerossóis originados no manuseio de suspensões de líquidos, quando se adota o uso de pipetas com algodão hidrófobo introduzido no bocal da pipeta graduada, mesmo que o líquido não atinja a boca do operador.

Os riscos adicionais de exposição aos aerossóis são criados pelo gotejamento de líquido da pipeta na superfície de trabalho, pela agitação causada por sucção e sopros alternados. O borbulhamento e formação de espumas ocorrem em conexão com a ação de pipetar, ocasionando borrifos e aerossóis.

Para se reduzir os riscos de formação de aerossóis as seguintes técnicas devem ser observadas:

- Evitar a utilização da pipeta graduada/volumétrica, para mistura de líquidos por sucção e sopros alternados;
- Evitar o uso dos procedimentos microbiológicos com pipetas graduadas.

- Evitar expelir das pipetas materiais particulados ou provocar borbulhamento;
- Dar preferência ao uso de pipetas que não requerem a expulsão das últimas gotas (pipetas de esgotamento parcial);
- Adotar o uso de dispensadores mecânicos e/ou automáticos (figura 16).

Fig. 16: Dispensadores mecânicos ou peras de borracha

Chapas ou mantas aquecedoras

A *chapa aquecedora* é um equipamento no qual possui uma plataforma aquecida confeccionada em aço ou vitrocerâmica, dependendo do modelo e aplicação desejada, tendo como função aquecer amostras de forma uniforme com temperatura constante, podendo ser controlada de forma analógica ou digital. O uso da *manta aquecedora* (figura 17) é recomendado em manipulações com solventes e outros produtos inflamáveis. Não produz faísca em nenhuma parte do seu sistema eletrônico além de possuir isolante térmico e elétrico, oferecendo segurança ao usuário durante a operação. A temperatura e o volume podem variar de acordo com o tipo e modelo do equipamento por isso é

importante saber qual a necessidade do seu laboratório antes de adquirir o equipamento.

Figura 17: Manta Aquecedora

Considerações importantes:

1. Recomenda-se o uso de placa aquecedora com área maior que o recipiente a ser aquecido.
2. Usar recipientes de vidro com paredes grossas. Jarras, garrafões e frascos de filtração, não devem ser aquecidos em placas aquecedoras.
3. Verificar os cabos e conectores do equipamento para se assegurar de que não estão danificados.
4. Colocar avisos de atenção próximos aos equipamentos quentes, como chapas, fornos e banhos.
5. Alguns procedimentos que liberem vapores de gases tóxicos requerem que estes equipamentos estejam dentro de capelas de exaustão (figura 18).

Figura 18: Capela de exaustão

Forno Mufla

Alguns equipamentos de laboratório ocupam papel fundamental em determinadas especialidades laboratoriais. No caso do laboratório de química, o forno mufla é considerado um item indispensável (figura 19). Ele faz a calcinação de elementos que consiste, resumidamente, na remoção de substâncias voláteis.

A calcinação depende de altas temperaturas que são alcançadas pelo forno mufla. Estes equipamentos de laboratório guardam uma similaridade com as estufas e podem alcançar ou mesmo superar a temperatura de 1000°C, podem ter controle digital de temperatura, o que proporciona maior precisão nas metodologias adotadas.

As diferenciações dos tipos de *forno mufla* existem para atender as necessidades de cada especialidade laboratorial.

Apesar de chegar a temperaturas altíssimas, o forno mufla não aquece na parte externa, pois possui isolamento térmico. As substâncias que são inseridas neste aparelho, saem como cinzas

(resíduo mineral fixo), que são analisadas conforme a finalidade do procedimento.

Figura 19: Forno Mufla

Além da utilização em laboratório de química, o *forno mufla* é usado com muita frequência na indústria farmacêutica, alimentícia e sucroalcooleira.

Suas elevadas temperaturas requerem que o operador use luvas de proteção térmica (figura 20) com proteção também do antebraço (ver capítulo 6: uso obrigatório de luvas), assim como faça uso de instrumentos auxiliares tipo garras longas (figura 21) para retirar os cadinhos e cápsulas de porcelana usados para este fim.

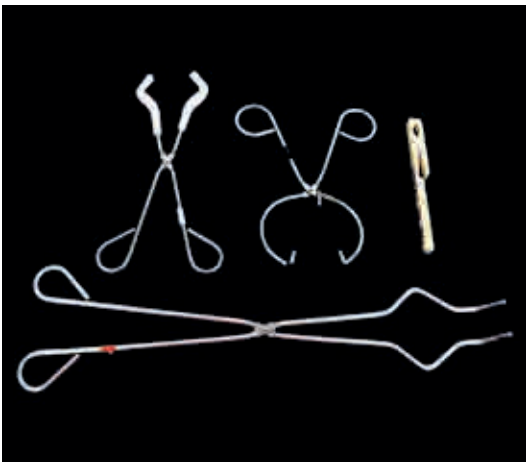
Considerações importantes:

1. Não evaporar líquidos e queimar óleos em mufla.
2. Empregar para calcinação, somente cadinhos ou cápsulas de materiais resistentes.
3. Abrir a porta da mufla de modo parcial e criterioso, quando estiver aquecida.

4. Evitar a retirada de materiais da mufla em alta temperatura, devido ao risco de acidentes, podendo também trincar o cadinho e perder a amostra.
5. Não remover ou introduzir cadinhos ou cápsulas sem utilizar: pinças adequadas;
6. Fazer uso de protetor facial; luvas de couro ou equivalente; jaleco e protetor de braço.

Figura 20: Luvas térmicas

Figura 21: Alguns tipos de garras e pegadores



Balança analítica

A *balança analítica* (figura 22) é um dos instrumentos de medida mais usados no laboratório e dela dependem basicamente quase todos os resultados analíticos.

Figura 22: Balança analítica

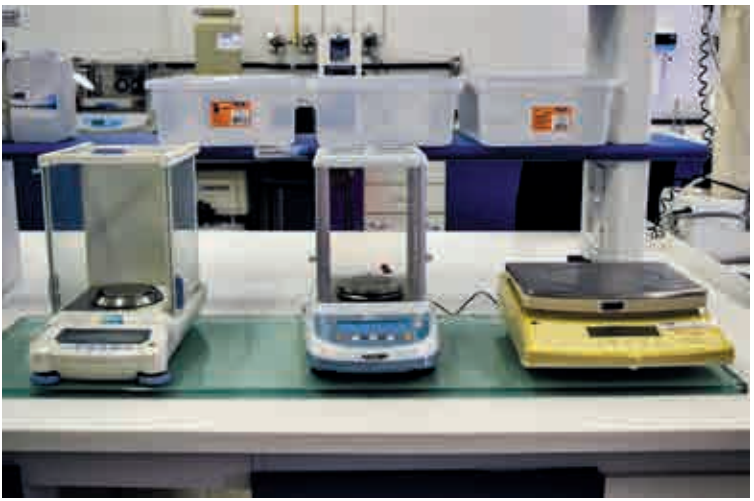
Algumas *balanças analíticas* podem cobrir faixas de precisão de leitura da ordem de 0,1 μg a 0,1 mg, já estão bastante aperfeiçoadas, a ponto de dispensarem o uso de salas especiais para a pesagem. Mesmo assim, o simples emprego de circuitos eletrônicos não elimina as interações do sistema com o ambiente. Destes, os efeitos físicos são os mais importantes, pois não podem ser suprimidos.

Neste sentido, precisa haver uma atenção especial para bancada onde está acomodado o equipamento, para que não haja

vibrações, imperfeições, oscilações; assim como o ambiente deve ter refrigeração e controle de umidade (figura 23). É recomendável que sejam adotados como ponto crítico de controle, ou como medida preventiva, verificações diárias de alguns dos pontos calibrados da balança, usando para isso, pesos padrões de referência, calibrados e certificados pela Rede Brasileira de calibração (RBC), ou *National Institute of Standards and Technology* (NIST). Desta forma, qualquer evidência não conforme, deve ser adotada como medida corretiva a nova calibração do equipamento.

Os dados coletados das pesagens de amostras são de grande importância para avaliação dos resultados analíticos, assim como a exatidão das pesagens de substâncias na preparação de soluções da ordem de ppm (parte por milhão) e ppb (parte por bilhão), por exemplo, de modo que, ao final desse capítulo faremos breve abordagem sobre os termos repetitividade e reprodutibilidade, precisão, exatidão, e coeficiente de variação.

Figura 23: Apoio de vidro para as balanças analíticas e a semi-analítica



Localização da balança analítica

A precisão e a confiabilidade das pesagens estão diretamente relacionadas com a localização da balança analítica. Os principais itens a serem considerados para o seu correto posicionamento são:

Condições da Bancada:

- Ficar firmemente apoiada no solo ou fixada na parede, de modo a transmitir o mínimo de vibrações possível.
- Ser rígida, não podendo ceder ou vergar durante a operação de pesagem, sendo recomendável a escolha de uma bancada de pedra.
- Localização nas posições mais rígidas da construção, geralmente nos cantos da sala.
- Deve ser constituída de material antimagnético (isento de metais ou aço) e protegida das cargas eletrostáticas (plásticos ou vidros).

Condições Ambientais:

- Manter a temperatura da sala constante.
- Fazer o controle da umidade entre 45% e 60% (deve ser monitorada sempre que possível com uso de termo higrômetro).
- Usar o equipamento distante de irradiadores de calor.
- Usar tomadas aterradas e com apenas uma entrada.
- Recomenda-se fazer uso de estabilizadores de corrente.
- O equipamento precisa estar em local onde não ocorra incidência direta de luz solar e correntes de ar.
- As balanças de precisão não devem ficar posicionadas em bancadas onde ventiladores, ar condicionado, computadores estejam próximos;

- O movimento de deslocamento de ar gerado por abertura de portas e janelas comprometem severamente a estabilidade da balança.

Cuidados operacionais com a balança analítica

Cuidados Básicos:

- Verificar o nivelamento da balança.
- Manter a balança conectada à tomada e ligada para manutenção do equilíbrio térmico dos circuitos eletrônicos.
- Deixar a balança no modo *"stand-by"*, evitando a necessidade de novo tempo de aquecimento *"warm-up"*.

Recipientes de pesagem:

- Usar o menor frasco de pesagem possível.
- Não usar frascos plásticos, quando a umidade estiver abaixo de 30-40%.
- A temperatura do frasco de pesagem e seu conteúdo devem estar à mesma temperatura que a do ambiente da câmara de pesagem.
- Evitar tocar os frascos diretamente com os dedos ao colocá-los ou retirá-los da câmara de pesagem. Usar pinças.

Prato de pesagem:

- Colocar o frasco de pesagem sempre no centro do prato de pesagem.
- Remover o frasco de pesagem do prato de pesagem tão logo termine a operação de pesagem.

Leitura:

- Verificar se o mostrador indica exatamente zero ao iniciar a operação.
- Tarar a balança, se for preciso.
- Ler o resultado da operação tão logo o detector automático de estabilidade desapareça do mostrador.

Calibração:

- Calibrar a balança regularmente, principalmente se ela estiver sendo operada pela primeira vez, se tiver sido mudada de local, após qualquer nivelamento e após grandes variações de temperatura ou de pressão atmosférica.

Manutenção:

- Manter sempre a câmara de pesagem e o prato de pesagem limpos.
- Usar somente frascos de pesagem limpos e secos.

Repetitividade e reprodutividade

O estudo de repetitividade e reprodutividade (R&R) é uma ferramenta da Engenharia de Qualidade, usada na análise de sistemas. Nos estudos de R&R, o instrumento de medição é usado para medir repetidas vezes as amostras de um produto. O método de análise mais usado em estudos de R&R é a análise de variância (ANOVA: *Analysis of Variance*). A ANOVA permite decompor a variabilidade do sistema e avaliar a interação entre suas componentes.

A *repetitividade* se refere à variabilidade característica do instrumento de medição e decorre da sua capacidade de fornecer leituras repetidas muito próximas, sob as mesmas condições.

A *reprodutibilidade* se refere à capacidade de um Sistema de Medição apresentar os mesmos resultados, a partir da alteração nas condições de medição, tais como mudanças de avaliadores, diferentes turnos de trabalho, ou alterações de processo.

A *Precisão* se refere a proximidade dos resultados entre os diferentes valores individuais numa série de medições.

A *Exatidão* (E) indica até que ponto os valores medidos aproximam-se do valor nominal, ou seja, relaciona-se com o desvio sistemático. A Exatidão é definida como a diferença entre valor médio (V_m) e o valor nominal (V_n), em relação ao valor nominal (em %).

$$E\ (\%) = \frac{V_m - V_n}{V_n} \times 100$$

O *Coeficiente de variação* (CV) indica até que ponto os valores medidos em várias medições aproximam-se uns do outros, chamado de desvio padrão ou aleatório (s). O coeficiente de variação está definido como desvio padrão em %, em relação ao valor médio (V_m).

$$CV\ (\%) = \frac{s \times 100}{V_m}$$

4

NORMAS DE CONDUTA NO LABORATÓRIO

1. Evitar o consumo de alimentos e bebidas no laboratório. Recomenda-se a separação destes dos materiais tóxicos, de risco, ou potencialmente contaminados. Isto minimiza os riscos de ingestão acidental desses materiais. Alimentos e bebidas devem ser consumidos apenas nas áreas designadas para alimentação.
2. Por razões de segurança, evitar trabalhar sozinho no laboratório. É fundamental trabalhar próximo a alguém que possa lhe ouvir, em caso de acidente. Alunos ou colaboradores administrativos não devem permanecer sozinhos no laboratório.
3. Manter o Procedimento Técnico, ou POP próximo à bancada de trabalho e realizar todos os ensaios de acordo com as instruções estabelecidas.
4. Preencher todos os campos pertinentes nos formulários exigidos para cada ensaio, facilitando a rastreabilidade de todos os itens envolvidos.
5. Antes de iniciar quaisquer procedimentos com produtos tóxicos e /ou inflamáveis, ler as recomendações contidas nos rótulos, e/ou obter maiores informações técnicas do produto (Consultar a FISPQ: Ficha de Informação e Segurança do Produto Químico).

6. Rotular toda solução preparada no laboratório, identificando com nome, concentração, data de preparação, validade e o responsável pela preparação.
7. Evitar o uso de vidraria danificada, rachada, trincada que comprometa a segurança do analista e do ensaio.
8. As vidrarias danificadas deverão ser descartadas em caixas específicas, detalhadamente identificadas, evitando o risco de acidentes.
9. Manter extintores de incêndio no laboratório com um programa de manutenções e calibrações devidamente seguido.
10. Oferecer cursos no laboratório periódicos de orientação e segurança contra incêndios com especialistas na área (Corpo de Bombeiros).
11. Dispensar a pipeta de vidro em recipientes contendo solução sanitizante (em procedimentos microbiológicos).
12. Elaborar procedimentos operacionais e treinar os colaboradores para lavagem de materiais e utensílios de laboratório.
13. Inocular o material recolhido com pipeta o mais próximo possível da base da placa de Petri ou no interior do tubo coletor, sem tocar nas paredes internas deste, evitando a formação de aerossóis.

FISPQ

A Ficha de Informação e Segurança dos Produtos Químicos fornece informações sobre vários aspectos dos produtos químicos, quanto à proteção, à segurança, à saúde e ao meio ambiente. Transmite o conhecimento sobre os produtos químicos, recomendações sobre medidas de proteção e ações em situações de emergências.

CONTROLE DE REAGENTES, MEIOS DE CULTURA, VIDRARIA E EQUIPAMENTOS

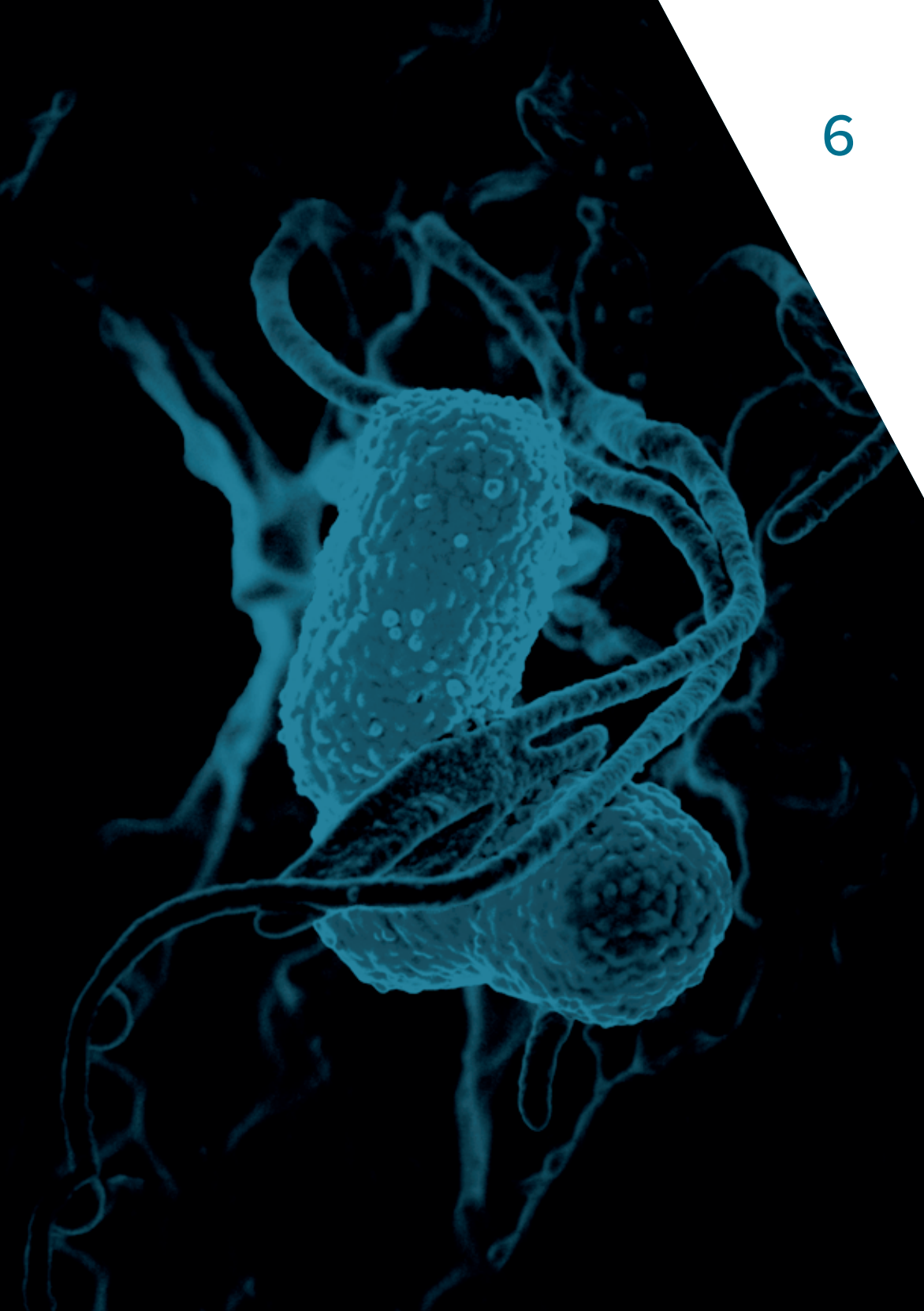
Os parâmetros de organização e controle precisam ser definidos em Procedimentos Operacionais Padrão (POP) e estes devem estar atrelados a ferramentas de registros que gerem rastreabilidade de todas ações e procedimentos realizados.

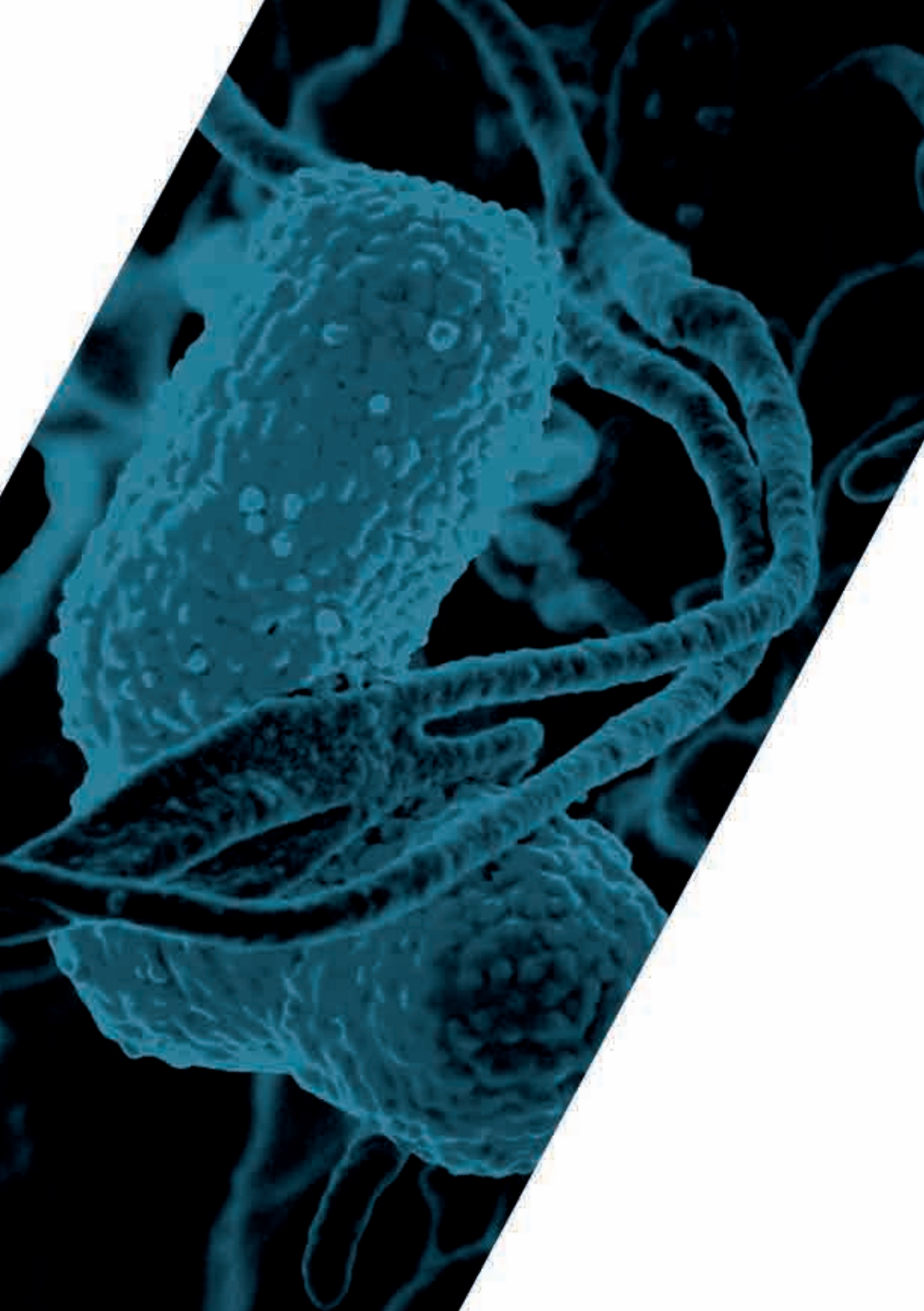
Em seguida, devem ser relacionados os controles considerados primordiais para implantação das atividades no laboratório.

1. As substâncias químicas utilizadas como padrão de referência, devem ser compradas certificadas por órgãos oficialmente reconhecidos por laboratório acreditado pela rede metrológica e rastreáveis ao Sistema Internacional de Unidades (SI).
2. Alguns produtos químicos e meios de cultura desidratados, em uso rotineiro no laboratório, precisam ser mantidos em locais de rápido alcance, organizados em prateleiras dentro do laboratório. Dependendo das recomendações do fabricante, poderão também ser mantidos sob refrigeração.
3. Os demais produtos químicos deverão ser estocados em almoxarifado seguindo alguns critérios de segurança e de compatibilidade, os quais deverão ser rigorosamente obedecidos (ver capítulo 14).

4. As soluções e reagentes devem ser preparadas seguindo o POP para preparação de soluções, reagentes e meios de cultura.
5. Cada recipiente deverá conter rótulo frontal com o nome, concentração da solução, data de preparação, validade e assinatura do colaborador responsável pela preparação.
6. As soluções serão acondicionadas em recipientes de vidro ou polietileno. Devendo estar disponíveis em prateleiras no laboratório, classificadas segundo seu caráter ácido, básico ou salino.
7. O controle do fator de correção estequiométrico das soluções de equivalência deve está previsto também em um procedimento direcionado para este fim.
8. As soluções tampão precisam ser mantidas sob refrigeração, assim como outros insumos como enzimas e substâncias padrões de referência.
9. Os meios de cultura devem ser preparados e guardados em frascos com tampa de rosca, estéreis; mantidos em condições assépticas.
10. Os meios de cultura líquidos devem sem mantidos em ambiente refrigerado, controlado, podendo ser acondicionados no ambiente do laboratório climatizado. Tendo sua vida de prateleira média de até 10 dias, nestas condições.
11. Os meios de cultura sólidos (Agar) devem ser mantidos sob refrigeração, preferencialmente com temperatura de 8°C ± 1°C, com vida de prateleira média de até 20 dias, nestas condições.
12. As vidrarias e instrumentais devem estar íntegros, limpos e secos, devendo ser desprezado qualquer material danificado.
13. As vidrarias volumétricas devem seguir programa de calibração por laboratórios que façam parte da rede metrológica oficial, e ter disponível certificado de calibração com rastreabilidade ao Sistema Internacional de Unidades (SI).
14. Os equipamentos precisam ter instrução de uso disponíveis, fundamentadas no manual do fabricante, as quais devem ser cuidadosamente seguidas.

15. As higienizações dos equipamentos também deverão seguir programa pré-estabelecido.
16. Os refrigeradores e freezer deverão ser sinalizados como exclusivos para guarda de produtos químicos, ou guarda de amostras, etc.
17. As temperaturas das geladeiras, freezer, banho-maria e estufas devem ter controles acompanhados e registrados em formulários específicos para cada equipamento.
18. Os termômetros são de uso exclusivo para cada equipamento com pontos de calibração definidos nos POP do equipamento. Devem seguir, também, um programa de calibração com certificação padrão oficial.
19. As balanças deverão ser verificadas diariamente, utilizando pesos padrões de referência, os quais seguem rigorosamente um programa de calibração.
20. O pHmetro e condutivímetro deverão ser verificados diariamente com soluções padrão de verificação, estas devem ter certificação de qualidade com rastreabilidade ao SI. Os pipetadores mecânicos e/ou automáticos também deverão ser verificados periodicamente, seguindo um POP, assim como devem também obedecer a um programa de higienização e manutenção preventiva.
21. Deve ser evitado o deslocamento de qualquer equipamento que tenha sido calibrado, não comprometendo assim a sua calibração.





BIOSSEGURANÇA NO LABORATÓRIO

Biossegurança é a ciência voltada para a prevenção, controle, minimização e eliminação de riscos na prática de diferentes tecnologias, seja em instituições de saúde ou aplicadas ao meio ambiente. Deve proteger a saúde humana, animal e o meio ambiente. Nesse sentido, podemos definir *Biossegurança* como sendo "a condição de segurança alcançada por um conjunto de ações destinadas a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam comprometer a saúde humana, animal, vegetal e o ambiente" (ANVISA, 2014).

As preocupações emergentes com a Biossegurança e sua inclusão na visão gerencial da qualidade faz parte de uma tendência mundial, sustentada por uma mudança de paradigma cultural, pelo que se vem promovendo novos padrões de comportamento diante das questões de preservação do meio ambiente, da própria vida e das relações internas à comunidade.

No Brasil a legislação de Biossegurança foi criada em 1995, e apesar da grande incidência das doenças ocupacionais em profissionais de saúde, engloba apenas a tecnologia de engenharia genética, estabelecendo os requisitos para o manejo dos organismos geneticamente modificados (OGM). A principal norma vigente neste aspecto é a Lei nº 8.974/95 – *Lei de Biossegurança* -, alterada

pela Medida Provisória nº 2.1919/2001 e seu Decreto Regulamentador (Decreto nº 1.752/1995). Tais normas criaram a Comissão Nacional Técnica de Biossegurança - CTNBio, que editou vinte instruções normativas (1996-2002) que regulam a matéria. Além disso, tem interface com a questão, a Legislação Ambiental.

As doenças ocupacionais, patologia recorrente da função que o colaborador cumpre, enfermidades adquiridas pela exposição sem a proteção adequada a agentes nocivos como radioativos, físicos, biológicos e químicos. Estas são cada vez mais frequentes e estão no topo do ranking de enfermidades que afastam os profissionais dos postos de trabalho, as mais comuns são aquelas relacionadas aos sistemas respiratório, auditivo e as de pele, como: câncer de pele, asma ocupacional, dermatite de contato, perda auditiva induzida por ruído, entre outras.

A melhor prevenção a essas doenças ocupacionais é a proteção adequada. As empresas têm o dever de fornecer a todos os seus colaboradores Equipamento de Proteção Individual (EPI) de acordo com o nível de risco em cada tipo de serviço e orientá-los sobre a forma correta de uso. É imprescindível também, a fiscalização recorrente para que os equipamentos não sejam dispensados com o tempo.

A preocupação com a segurança no laboratório tem por objetivo minimizar o risco de acidente. De acordo com a NR-23 (BRASIL, 2007), que trata de proteção contra incêndios, os locais de trabalho deverão dispor de saídas em número suficiente e com seus

VOCÊ SABIA?

A CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança) é composta por representantes de todos os ministérios envolvidos com o tema – Ciência e Tecnologia, Agricultura e Abastecimento, Meio Ambiente, Saúde, Educação, Trabalho e Relações Exteriores), da comunidade científica, do setor empresarial que atua com biotecnologia, de representantes dos interesses dos consumidores e de órgãos legalmente constituídos de proteção a saúde do consumidor.

acessos facilitados para que possam ser usados em casos emergenciais sem impedimentos.

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

Considere-se ainda, dentro de um aspecto mais profundo e abrangente, as questões de segurança do laboratório, o risco relativo a bioseguridade. Advinda da importante ameaça que os agentes biológicos ou toxinas, fora de controle, representam para o homem, os animais e o meio ambiente no seu mais amplo aspecto.

Em respostas a essas preocupações, faz-se necessário o rigoroso controle de acesso de pessoas aos ambientes laboratoriais, do manejo de todos os agentes biológicos, dos procedimentos de transporte, manipulação e descarte destes.

Fica evidente, pois, que o manejo e a avaliação de riscos são fundamentais para a definição de critérios e ações e visam a minimiza-los. Tendo em vista que comprometem a saúde do homem, dos animais, da natureza e a qualidade dos trabalhos desenvolvidos.

Recomendações de biossegurança

1. É de fundamental importância conhecer os procedimentos de segurança, os quais irão permitir o desempenho das atividades no ambiente do laboratório com um mínimo de riscos.
2. Planejar o trabalho, experimento ou ensaio previamente, de modo a poder executá-lo com máxima segurança.
3. Conhecer as principais características de cada substância envolvida no procedimento.

4. Fazer treinamento e capacitação prévios, para manipular com as substâncias químicas, operacionalizar com os equipamentos e instrumentos envolvidos no processo.
5. O trabalho seguro e bem sucedido é aquele em que os riscos são conhecidos e controlados.
6. O trabalho em laboratório exige concentração, para resultar em excelência. Não conversar desnecessariamente, e evitar condutas que desviem o foco da atenção no desempenho do trabalho.
7. Não deve haver incertezas em nenhuma conduta.
8. Manter a calma e cautela em situações de emergência.
9. Promover a redução da jornada de trabalho nos ambientes insalubres, com deslocamento do pessoal para outros ambientes de menor risco, diminuindo assim o tempo de exposição de cada trabalhador.
10. Fechar os equipamentos que produzem ruído ou liberam produtos agressivos, isolando-os do ambiente de trabalho. Ex.: Isolamento de trituradores, moinhos e tanques de substância voláteis para que não atinjam os demais trabalhadores. Redução de ruídos, poeira e névoas.
11. Utilizar ventilação local e exaustora – responsável por retirar do local de trabalho, nos pontos de geração, poeiras nocivas e/ou gases tóxicos, dando adequado destino aos mesmos.
12. Aterrar as instalações elétricas: a rede elétrica necessita além de isolamento adequado, requer também sistema de descarga na terra.
13. Utilizar para-raios nas edificações, na prevenção de acidentes por descargas atmosféricas.

Princípios básicos de biossegurança

1. Realizar todos os Ensaios de acordo com as Normas estabelecidas nos procedimentos pertinentes.
2. Observar o correto e total preenchimento dos Formulários exigidos para cada Ensaio.

3. Obedecer às Instruções de Uso dos Equipamentos fundamentadas no Manual do Fabricante.
4. Seguir os procedimentos básicos relativos ao uso de vidrarias e preparação e utilização de soluções.
5. Trabalhar com segurança e atenção, minimizando a necessidade de recorrer a procedimentos emergenciais.
6. Conhecer a localização e manuseio de extintores de incêndios, mangueiras corta fogo (figura 24), chuveiros de emergência (figura 25), farmácia, chave de energia, torneira central de gás e outros equipamentos de segurança.

Figura 24: Mangueira corta fogo

Figura 25: Chuveiro de emergência e lavador de olhos

7. Utilizar a capela de exaustão nos ensaios que gerem gases tóxicos irritantes ou voláteis.
8. Trabalhar longe de chama e/ou resistências elétricas, quando estiver manuseando inflamável.
9. Transportar os dessecadores com segurança, usando carrinhos para transporte de material de laboratório.
10. Manter o ambiente do laboratório climatizado, preservando as características das soluções, equipamentos e vidrarias volumétricas calibradas.
11. Nas áreas de balança analítica, microscopia eletrônica, espectrofotometria, cromatografia, entre outros equipamentos de

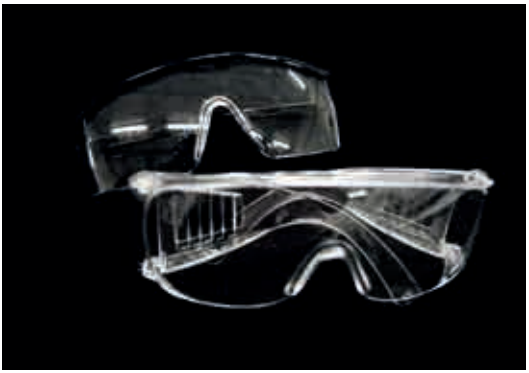
elevada sensibilidade é recomendável manter controle de temperatura e umidade do ambiente laboratorial fazendo uso de termo higrômetros, os quais deverão seguir programa de calibração.

12. Usar batas (jalecos) longas com mangas compridas, quando estiver trabalhando.
13. Proteger as mãos com luvas (figura 26) e o rosto com máscaras (figura 27) e/ou óculos de segurança (figura 28), assim como os pés devem estar protegidos.

Figura 26: Luvas para procedimentos diversos

Figura 27: Respirador descartável para material particulado, poeira, névoas e fumos

Figura 28: Óculos de segurança



14. Não fumar e evitar o uso de celulares e aparelhos eletrônicos no Laboratório ou em qualquer outro lugar que ofereça perigo, ou ameace a segurança ou saúde dos colaboradores e instalações.
15. Em procedimentos com bico de Bunsen (figura 29), trabalhar preferencialmente, à frente da chama (figura 30).
16. Evitar o uso de alças de platina, preferindo as alças plásticas estéreis descartáveis, não formadoras de aerossóis.
17. Não aquecer reagentes em sistema fechado.
18. Lubrificar tubos de vidro, termômetros, etc. antes de inseri-los em rolha.
19. Fechar com cuidado e atenção as torneiras de gás.
20. Os equipamentos de medição deverão ser calibrados e submetidos a verificações rotineiras.
21. Interromper imediatamente o trabalho, em casos de acidentes com líquidos inflamáveis, produtos tóxicos ou corrosivos. Socorrer a vítima, colocar aviso de perigo e providenciar a limpeza imediatamente do local.
22. Não improvisar; as improvisações facilmente resultam em acidentes. Deve-se usar sempre materiais e equipamentos adequados.
23. Não fazer misturas cujos resultados sejam desconhecidos.

Figura 29: Bico de Bunsen

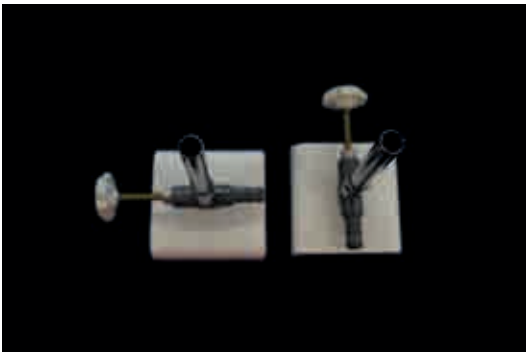


Figura 30: Técnica para aquecimento em chama de Bico de Bunsen

24. Não armazenar qualquer substância ou produto químico em embalagem diferente do original.
25. Rotular previamente toda vidraria no momento da realização de qualquer ensaio.

Práticas Seguras no Laboratório

Qualidade é uma característica essencial e inseparável em qualquer planejamento para implantação de procedimento analítico.

O Sistema de Gestão da Qualidade deve ser entendido como sinônimo de *Organização*.

O melhor caminho para obtenção de resultados confiáveis é através da implementação de um SGQ, pois esta confiabilidade emerge da implantação de procedimentos adequados, de condições ambientais adequadas, de equipamentos de medição com rastreabilidade, de pessoal técnico qualificado e de auditorias periódicas.

Algumas recomendações devem ser seguidas:

1. Manter o controle de acesso ao laboratório.
2. Acompanhar o visitante e fazer registro controle de seu acesso ao laboratório, constando de nome e assinatura deste.
3. Não permitir a presença de crianças no laboratório.
4. Manter a bancada livre de cadernos, livros, celular, ou qualquer objeto que não faça parte da execução da tarefa.
5. Manter o laboratório limpo, organizado e com avisos de identificação e alerta.
6. Permanecer no laboratório somente o tempo necessário para desenvolver as atividades propostas.
7. Evitar guardar (manter) alimento ou água nas geladeiras, armários e bancadas do laboratório.
8. Evitar fazer uso das vidrarias e utensílios do laboratório para uso pessoal.
9. Evitar levar as mãos à boca ou aos olhos quando manuseando qualquer tipo de amostra ou substância no laboratório.
10. Lavar as mãos com detergente bactericida, secar e passar álcool a 70% (m/m) antes de iniciar e quando terminar os ensaios.
11. Evitar o uso de lentes de contato no laboratório, estas podem ser atacadas por compostos voláteis, causando grandes lesões.
12. Evitar guardar objetos pessoais nas dependências do laboratório.

13. Manter o jaleco sempre fechado e retirá-lo ao sair do laboratório.
14. Usar sapato fechado, com solado antiderrapante, sem salto, de couro, ou similar.
15. Evitar o uso de adornos como anéis e brincos e de maquiagem no laboratório.
16. Manter os cabelos presos, usando, preferencialmente, touca descartável, no ambiente do laboratório.
17. Trabalhar longe de chama e resistências elétricas, quando estiver manuseando inflamável.
18. Evitar armazenar inflamáveis e voláteis nas capelas de fluxo.
19. Manter as portas do laboratório sempre fechadas.
20. Evitar transportar excesso de volumes, preferencialmente utilizar bandejas ou cestas para transporte de materiais.
21. Fechar todas as gavetas e portas que abrir.
22. Lembrar-se de retirar as luvas de procedimento no momento de atender ao telefone e/ou abrir portas.
23. Evitar exposição às radiações ultravioleta, infravermelho, ou luminosidade intensa sem proteção adequada (óculos com lentes filtrantes).
24. Afixar em local de conhecimento de todos da equipe os telefones de bombeiro, SAMU.
25. Utilizar banho de gelo, para preparar soluções exotérmicas.
26. Aquecer tubos de ensaios com segurança usando prendedores de madeira e posicionados ligeiramente inclinado para o sentido contrário ao colaborador, evitando o risco de qualquer projeção acidental.
27. Rotular imediatamente identificando todo e qualquer reagente ou solução, e amostras coletadas;
28. Retirar da bancada e guardar os materiais, amostras e reagentes empregados no trabalho, logo após terminá-lo;
29. Usar suporte de bancada para apoiar as pipetas nos procedimentos físico-químicos.

Símbolos de segurança em laboratórios

Dentro de um programa institucional de biossegurança, a sinalização é uma das primeiras ações a ser desenvolvida pelos profissionais responsáveis pelo laboratório. O emblema universal indicando risco biológico deve estar afixado na porta de acesso do laboratório de microbiologia, restringindo o seu acesso, sobretudo de pessoas que não tenham atividades ali desenvolvidas.

Um laboratório químico é um ambiente potencialmente perigoso. Devem seguir as normas de sinalização por cores, as quais servem para indicação de equipamentos de segurança, delimitação de áreas de risco e canalizações empregadas para líquidos e gases. Sempre que for empregada a indicação por cores, esta deve vir acompanhada de legenda esclarecedora.

Existe uma simbologia que alerta para os riscos e perigos das substâncias químicas, as quais precisam de critérios para serem manuseadas e armazenadas com segurança. Também existem símbolos de alerta no laboratório com intuito de chamar a atenção de todos e orientar com medidas que evitem a ocorrência de acidentes de trabalho. O quadro 1, mostra alguns símbolos de importância e sua classificação.

Quadro 1: Simbologia que alerta para os riscos e perigos no laboratório.

Símbolo	Classificação	Importância
	Inflamável (F) *Extremamente inflamável (F+)*	Substâncias que se incendeiam repentinamente e se queimam rapidamente. Precaução: Manter longe de chamas, faíscas e fontes de calor.
	Substâncias Radioativas	Evitar contato. Podem causar queimaduras, graves efeitos carcinogênicos, alterações genéticas. Deve ser manuseado somente por pessoas autorizadas.

Símbolo	Classificação	Importância
	Líquido corrosivo (C)	Substâncias capazes de causar danos à pele e demais tecidos vivos. Algumas causam danos aos equipamentos do laboratório. Precaução: Evitar contato direto ou com o vestuário, e inalação dos vapores.
	Risco biológico	Este símbolo é usado em laboratórios que trabalham com microrganismos e outros materiais de natureza biológica.
	Explosivos (E)	São substâncias que pela ação de choque, percussão e fricção, produzem centelhas ou calor suficiente para iniciar um processo destrutivo através de violenta liberação de energia. Precaução: Evitar atrito, choque, fricção, formação de faísca e ação do calor.
	Substância Tóxica (T) *Muito tóxica (T+)*	Substâncias que, por inalação ou absorção pela pele, provocam danos à saúde ou mesmo a morte. Precaução: Evitar qualquer contato com o corpo humano e observar cuidados especiais com produtos cancerígenos, teratogênicos ou mutagênicos.
	Substâncias Irritantes (Xi) *Nocivo (Xn)*	Substâncias que, além de causar danos à pele, causam danos aos olhos e mucosas. Precaução: Evitar contato direto, incluindo inalação dos vapores.

Fonte: https://pt.scribd.com/document/52452450/Manual-de-Seguranca-Do-LGqA

Existem também as *simbologias de segurança* (figura 31), de igual importância para todos que utilizam o ambiente laboratorial.

Figura 31: Simbologia de segurança

Uso obrigatório de luvas

Por medida de segurança, o uso de luvas passa a ser obrigatório, quando for manipular com produtos corrosivos, como ácidos, por exemplo. Esse equipamento de segurança é quase sempre imprescindível para execução dos procedimentos dentro do laboratório, havendo diferentes tipos de luvas para funções específicas.

Tal recurso deve ser usado restritamente na ocasião da realização operacional do trabalho, devendo ser retirada se este for interrompido ou cessado.

Higienização das mãos

Existe a recomendação de segurança para o analista e demais colaboradores, que indiretamente podem ter sua segurança comprometida por um ato inseguro. Por exemplo, um analista que deixou de lavar as mãos durante o preparo de soluções e atendeu a um telefonema, ou abriu a maçaneta de uma porta com luvas, durante a manipulação com bactérias patogênicas.

Portanto, há necessidade da lavagem das mãos antes, durante e após o experimento (figura 32). Não sendo recomendado tocar nos olhos, boca e nariz enquanto estiver manuseando produtos químicos.

Figura 32: Simbologia de segurança

Água e sabonete comum são simples e comprovadamente eficazes como método para evitar vários tipos de infecções. Lavar as mãos por pelo menos 20 segundos, friccionando bem todas as regiões: dorso, palmas, dedos e entre os dedos. Isso é suficiente

para a higienização completa, o que significa não transmitir e diminuir a chance de contaminação com microrganismos.

Etapas para uma higienização técnica

1. Molhe as mãos com água.
2. Retire sabonete suficiente para lavar toda a superfície das mãos.
3. Esfregue as palmas das mãos uma na outra.
4. Esfregue as costas da mão esquerda com a palma direita, com os dedos entrelaçdos e vice-versa.
5. Esfregue palma com palma, com os dedos entrelaçados.
6. Lave as costas dos dedos, fechando-os sobre as palmas das mãos.
7. Esfregue os polegares com movimentos circulares, usando a palma da mão oposta.
8. Esfregue as palmas das mãos com a ponta dos dedos fazendo movimentos circulares.
9. Passe as mãos por água corrente.
10. Seque bem as mãos com uma toalha de papel descartável.
11. Use a toalha de papel para fechar a torneira.
12. As suas mãos estão agora seguras.

Higienização dos respiradores

Estes equipamentos de proteção individual serão tratados no capítulo 7, em que abordaremos a importância e adequação de alguns tipos de máscaras (figura 33).

Lavagem: pode ser executada de diversas formas. Se os respiradores forem limpos à mão, as peças devem ser lavadas com uma escova macia em água morna com temperatura máxima 43ºC com um detergente neutro como sabão de coco ou outros. Nesta fase, removem-se resíduos como suor, poeiras e outros. Após essa

operação, as peças são enxaguadas com água abundante para retirar todo excesso do detergente.

Figura 33: Máscara semifacial com dois filtros

Desinfecção: A desinfecção pode ser executada utilizando-se imersão das peças por dois minutos numa das soluções seguintes:

1. Preparar solução de hipoclorito de sódio, com 50 ppm (50 mg/L) de cloro ativo. Transferir para recipiente adequado para imergir as peças a serem sanitizadas.
2. Preparar solução de Lugol (É composto por Iodo metaloide I2, Inorgânico, ou Iodo metálico ou ressublimado ou molecular ou elementar, adicionado de Iodeto de Potássio - KI, Inorgânico e água destilada), na concentração de aproximadamente 50 ppm (50 mg/L) de iodo. Transferir para recipiente adequado para imergir as peças a serem sanitizadas.

Secagem: Pode-se deixar secar ao ar, os respiradores ou suas partes num ambiente sobre superfície limpa. Outro método a ser empregado é secar numa estufa elétrica com ventilador para circulação do ar. Importante é ajustar a temperatura para um máximo de 43º C.

Montagem Após Lavagem/Desinfecção: As peças faciais limpas e sanitizadas devem então ser montadas e inspecionadas, substituindo-se as partes danificadas pelo uso. Se forem guardadas, devem ser embaladas individualmente em sacos plásticos e guardadas ao abrigo da luz solar, sujeiras ou outros agentes agressivos.

Kit de primeiros socorros

Deve ficar em local de fácil acesso para os colaboradores. Sendo recomendável fazer verificações periódicas, quanto à presença de todos os itens necessários. Assim como, com relação à higiene dos instrumentos e validade dos medicamentos e soluções.

Deve-se fazer aviso de segurança para o local de disponibilização do Kit de primeiros Socorros.

A caixa de primeiros socorros deve conter:

- Termômetro clínico;
- Tesoura;
- Pinça;
- Algodão hidrófilo;
- Gaze esterilizada;
- Atadura de crepe (faixa de crepe);
- Caixa de curativo adesivo;
- Esparadrapo;
- Solução de iodo;
- Água oxigenada (10 volumes);
- Água boricada;
- Pomada de Picrato de Butensim;
- Soro fisiológico estéril;
- Bolsa de água,
- Luvas látex;
- Leite de magnésia

EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO

O trabalho no laboratório exige o uso de vestimentas seguras, em atendimento às Normas Gerais de Segurança. Os Equipamentos de Proteção Individual (EPI) são regulamentados pela Port. 32/4 – NR-6 (BRASIL, 2006); somente poderão ser utilizados EPI com a indicação do C.A. (Certificado de Aprovação) expedido pelo órgão nacional competente em matéria de segurança e saúde do trabalho do Ministério do Trabalho e Emprego (MTE).

Os EPI são utilizados para minimizar os riscos ocupacionais e evitar possíveis acidentes nos laboratórios de ensaio. Além de sapatos fechados, calças compridas e camisas de material não sintético, outros itens se fazem necessários, essencialmente o jaleco (avental), luvas, óculos de segurança e máscaras protetoras.

1. Cabe ao empregador:

a) adquirir o EPI adequado ao risco da atividade;
b) tornar obrigatório o seu uso;
c) fornecer ao trabalhador somente o EPI aprovado pelo órgão nacional competente;
d) orientar e treinar o trabalhador quanto a seu uso, guarda e conservação;

e) substituí-lo imediatamente quando extraviado ou danificado;
f) responsabilizar-se por sua manutenção e higienização periódica;
g) comunicar ao MTE qualquer irregularidade observada.

2. Cabe ao empregado:

a) usar o equipamento, utilizando-o apenas para a finalidade a que se destina;
b) responsabilizar-se por sua guarda e conservação;
c) comunicar qualquer alteração que o torne impróprio para uso;
d) cumprir as determinações do empregador sobre seu uso adequado.

3. Cabe ao Ministério do Trabalho e Emprego:

a) fiscalizar e orientar quanto ao uso adequado e à qualidade do EPI;
b) recolher amostras de EPI;
c) aplicar, na sua esfera de competência, as penalidades cabíveis pelo descumprimento das normas relativas a EPI.

Equipamentos de proteção individual (EPI)

Estes têm a finalidade de prover a segurança e proteção do trabalhador, durante a exposição a agentes perigosos a sua saúde.

TOME NOTA

O Equipamento de Proteção Individual deve ser usado por todo pessoal que estiver presente no laboratório e não apenas pelos que estiverem trabalhando. Isso se deve ao fato que os riscos de acidentes estão presentes neste ambiente.

Estes agentes podem ser de natureza física, química ou biológica. A exemplo da exposição às partículas nocivas (fumos, poeiras, neblinas, entre outros), a ambientes contaminados por vapores, gases perigosos ou microrganismos (compostos orgânicos, gases inertes, gases ácidos), a atmosferas cujas concentrações de oxigénio se encontram abaixo ou acima dos níveis normais ou à combinação de qualquer uma das anteriores situações.

A exposição prolongada a agentes químicos, através das vias respiratórias podem originar doenças profissionais graves. Por outro lado, as intoxicações agudas por via respiratória, resultado da inalação de gases ou substâncias voláteis com efeitos tóxicos, como por exemplo, monóxido de carbono, solventes orgânicos ou alguns inseticidas, poderão causar efeitos imediatos de intoxicação aguda, e em alguns casos os efeitos sentidos poderão ser irreversíveis.

O equipamento de proteção individual, de fabricação nacional ou importado, só poderá ser posto à venda ou utilizado com a indicação do Certificado de Aprovação – CA, expedido pelo órgão nacional competente em matéria de segurança e saúde no trabalho do Ministério do Trabalho e Emprego.

Todo EPI deverá apresentar, em caracteres indeléveis e bem visíveis, o nome comercial da empresa fabricante, o lote de fabricação e o número do CA, ou, no caso de EPI importado, o nome do importador, o lote de fabricação e o número do CA.

De acordo com a identificação de perigos e avaliação dos riscos das tarefas ou dos postos de trabalho, pela equipe responsável pela segurança do trabalho, e após implementadas medidas organizacionais e/ou de proteção coletiva, quando possível, a seleção,

CA

Certificado de Aprovação. É o documento que comprova as especificações técnicas do EPI.

disponibilização e utilização correta do Aparelhos de Proteção Respiratória (APR) poderá ser uma solução de proteção complementar, e deverá ter em conta não só os perigos e riscos associados à contaminação da atmosfera, mas também outros fatores, como por exemplo a necessidade de compatibilizar o equipamento com outros EPI, as exigências das tarefas (duração, condições de execução, entre outras) e fatores pessoais do colaborador (condição de saúde, existência de deformações ou pelos faciais, entre outros).

Como tal, a seleção do APR adequado depende de cada situação em particular e deve ser feita somente por pessoa com formação profissional adequada e que possua conhecimentos sobre os riscos existentes no ambiente, bem como as capacidades e limitações na utilização de APR.

Equipamentos devem ser destinados a protegerem os usuários do laboratório em operações com risco de exposição, em que se pode ter emanações de substâncias químicas, risco de explosões, quebras de aparelhos de vidro, cortes em vidrarias, lâminas, ou instrumental perfurocortante, etc.

Também deve-se considerar como equipamentos protetores os capacetes, as botas de borracha e sapatos de couro antiderrapantes, os protetores auriculares, usados nos ambientes onde há maquinas funcionando, ocasionando ruídos em limites prejudiciais ao sistema auditivo do homem, roupas especiais, coletes suspensórios, etc.

A Norma Regulamentadora referente ao EPI é a NR 6: EPI – Equipamento de Proteção Individual (redação dada pela portaria SIT-MTE n. 25, de 15.10.2001, atualizada pela portaria SIT – MTE n. 194, de 22.12.2006). Está fundamentada juridicamente no Art. 7º, XXII, da CF-1988; Artigos 166 e 167 da CLT; Súmulas TST nº. 80 e 289; e Instrução Normativa SSST-MTb n.1 de 11.04.1994.

Os EPI devem ser de boa qualidade e proporcionar o mínimo desconforto possível, não comprometendo a liberdade de movimento do usuário. Sendo de relevante importância a conscientização do seu uso, em benefício próprio e dos demais.

Jaleco

O jaleco é item essencial no laboratório. Não se admite desenvolver qualquer atividade laboratorial sem a proteção do jaleco. Sua função é proteger o analista de eventuais derramamentos, respingos de substância de qualquer natureza. Neste caso, deve-se retirá-lo imediatamente.

Recomenda-se que o jaleco seja confeccionado de material resistente e não inflamável em geral algodão. Tecidos sintéticos devem ser evitados, em sua maioria. Tecidos mistos de poliéster-algodão são inflamáveis. Evidentemente que esses parâmetros devem ser avaliados, identificando os riscos específicos e o grau de proteção necessários, antes de sua aquisição.

O jaleco deve apresentar mangas longas, comprimento na altura dos joelhos, preferencialmente sem bolso e ser fechado nas costas conferindo maior proteção ao analista. Precisa estar sempre limpo e de uso exclusivo no ambiente do laboratório.

Luvas

As luvas têm a finalidade de proteger as mãos e manter a integridade da pele. Elas devem ser utilizadas especialmente no manuseio de material corrosivo, tóxico e irritante; fornecem proteção contra riscos biológicos, contra queimaduras químicas, calor, ou frio excessivos, mordidas, cortes e outros riscos físicos. Além disso, fornecem um elevado grau de proteção contra dermatites, visto que exposições repetidas, mesmo em baixas concentrações, de diferentes compostos químicos podem provocar reações adversas na pele.

Dentre os acidentes mais comuns em laboratórios, estão incluídos aqueles envolvendo operações manuais. Estes acidentes são facilmente evitados pelo uso de luvas de proteção. Sendo a correta seleção do material componente desse EPI de máxima importância para conferir máxima proteção.

Existem vários tipos de luvas de proteção, uma para cada finalidade, mas todas devem apresentar as seguintes características:

- Baixa permeabilidade;
- Alta resistência;
- Boa flexibilidade que permita manter o tato e segurar com firmeza.

Os principais usos encontrados para as luvas no laboratório estão relacionados a manipulação com itens a seguir:

- Solventes e reagentes químicos;
- Materiais de vidrarias;
- Recipientes com temperaturas extremas;
- Fornos, autoclaves e muflas;

As *Luvas de borracha* podem ser de borracha natural ou misturadas com material sintético e apresentam boa resistência aos solventes normalmente usados nos laboratórios (figura 34).

Figura 34: Luvas de Borracha

As *Luvas de polivinila* (PVC) são luvas de material sintético (figura 35) que apresentam baixa resistência aos solventes derivados do petróleo, mas que podem ser utilizadas nas operações envolvendo o manuseio de álcool, álcalis e ácidos, assim como as luvas de látex.

Figura 35: Luvas Acrílicas

As *Luvas cirúrgicas* são de uso muito frequentemente em laboratório de microbiologia (figura 36). Dentre as aplicações destas luvas, destacam-se a prevenção contra contato com materiais biológicos. Já existem no mercado as luvas em algodão que se adequa para aquelas pessoas que apresentam alergias aos componentes sintéticos (vinil, látex) dos modelos usuais.

As *luvas de proteção térmica* – recomenda-se couro, ou Kevlar® (figura 37: Luvas de Grafatex) constituída de material atóxico resistente à temperatura de até 800°C, ideal para proteção da mão e antebraço. Devem ser usadas nas seguintes operações:

- Operando com autoclaves;
- Operações com risco de corte ou ferimentos;
- Fornos e muflas;

- Chapas e mantas aquecedoras;
- Banho maria e micro-ondas;
- Estufas e incubadoras;
- Durante a manipulação de materiais com temperatura elevada como recipientes que saíram da autoclave ou da estufa de esterilização.

Figura 36: Luvas Cirúrgicas ou de procedimentos

Figura 37: Luvas de proteção térmica Grafatex

Óculos de segurança

A utilização desses é recomendada durante a execução de procedimentos que gerem impactos, risco de penetração de materiais estranhos, ou de respingos em manipulações com substâncias químicas, no preparo de soluções, na manipulação com culturas microbianas ou seus metabólitos ou ainda de materiais biológicos; Existe ainda a proteção contra emissão de fagulhas de vidro, vapores tóxicos, radiações e ocorrência de refluxos.

O material de confecção destes equipamentos é bastante variado, entretanto os óculos de policarbonato (ver figura 28) são os que apresentam melhor proteção contra impactos, radiações ultravioletas e apresentam boa resistência aos ácidos e bases.

Máscaras (respiradores)

A máscara ou respirador é o equipamento de proteção respiratória. São dois os tipos de máscaras de proteção respiratória: semifacial e facial. As *máscaras semifaciais* (figura 38) são utilizadas quando a atmosfera do laboratório apresenta características prejudiciais à saúde, seja pela presença de vapores tóxicos e/ou irritantes, aerossóis e mesmo particulados. Estes últimos são muitos comuns nos procedimentos de preparação de meios de cultura.

As máscaras podem ser equipadas com filtro mecânico, filtro químico ou filtro combinado de acordo com o material contaminante da atmosfera e de acordo com a proteção que se deseja obter. Como elemento filtrante para os filtros químicos utiliza-se o carvão ativo e para os filtros mecânicos utiliza-se um material poroso.

Sistemas que envolvem partículas contaminantes, formadas por partículas discretas, tanto sólidas quanto líquidas suspensas no ar. Os aerossóis podem ser classificados de acordo com seu estado físico e propriedades, ou podem ser classificados de acordo com seus efeitos fisiológicos nos seres humanos,

classificam-se como dispersóides mecânicos, ou condensados; os primeiros são originados de partículas de matéria sólida ou líquida, que são formadas e dispersas no ar por meios mecânicos, tais como processos de desintegração de moagem, trituração, perfuração, explosão e produção de sprays.

Os dispersóides condensados consistem de partículas de matéria sólida ou líquida, que são formadas e dispersas no ar por reações físico-químicas tais como: combustão, vaporização, condensação, sublimação, calcinação ou destilação. Geralmente, as partículas são formadas por condensação do estado gasoso da substância.

Figura 38: Máscara semifacial em silicone

Peças semifaciais filtrantes

Também conhecidas como *Máscaras Descartáveis*, são equipamentos de proteção respiratória previstos para retenção de aerodispersóides, constituídas, total ou parcialmente, de material filtrante (figura 27).

Devem cobrir, no mínimo, o nariz e a boca e proporcionar vedação adequada sobre a face, estando a pele úmida ou seca e o usuário executando movimentos com a cabeça ou conversando.

O material geralmente utilizado para a confecção de uma máscara descartável é uma combinação de duas ou mais camadas de manta de polipropileno. As máscaras descartáveis podem ou não conter válvula de exalação.

Restrições ao uso das peças faciais filtrantes:

1. O ar ambiente não pode conter gases ou vapores.
2. O teor de oxigênio na atmosfera deve ser de, pelo menos 16% em volume.
3. A concentração dos aerodispersóides deve se encontrar abaixo dos limites indicados pelos fabricantes *Tolerable Limit value* (TLV).

A vida útil de uma peça semifacial filtrante de todas as classes de eficiência de filtragem está limitada por considerações como: higiene, dano ou resistência aumentada à respiração. Portanto, essas peças devem ser substituídas quando apresentarem danos, sujeiras ou causarem resistência respiratória perceptível, causando desconforto ao usuário.

Nestes respiradores, não se executa nenhum tipo de manutenção tais como: lavagem, higienização ou troca de peças, por serem todos descartáveis.

As peças semifaciais filtrantes descartáveis têm a seguinte nomenclatura, segundo o grau de penetração das concentrações de aerossóis Norma Europeia EN149: 2001:

AEROSSOL

O termo aerossol é frequentemente aplicado a um sistema que consiste de partículas suspensas no ar. Um aerossol é um sistema disperso no qual o ar é a fase contínua ou o meio dispersante, e o material particulado, na forma de sólido ou líquido discreto, suspenso no ar, constituindo a fase dispersa.

FFP1: em polipropileno proteção contra aerossóis sólidos e líquidos não tóxicos em concentrações acima de 4xTLV ou 4xAPF tais como carbonato de cálcio, cimento, celulose, algodão, óleos vegetais e madeira, recomendada para indústria têxtil, indústria de metal e ferro, minas e obras subterrâneas, etc.;

FFP2: em polipropileno, proteção contra aerossóis sólidos e líquidos não tóxicos, em concentrações acima de 12xTLV ou 10xAPF, tais como cimento, celulose, algodão, metais, fibra de vidro, plástico, alumínio, óleos minerais e vegetais, bactérias, fungos e microbactérias, recomendada para indústria têxtil, indústria de metal e ferro, minas e obras subterrâneas, hospitais, laboratórios, indústria farmacêutica, etc.;

FFP3: em polipropileno proteção contra substâncias não tóxicas nocivas, sólidas e líquidas em concentrações superiores a 50xTLV ou 20xAPF tais como cimento, celulose, algodão, metais, fibra de vidro, plástico, alumínio, óleos minerais e vegetais, bactérias, fungos e microbactérias, recomendada para indústria têxtil, de metal e ferro, minas e obras subterrâneas, hospitais, laboratórios, indústria farmacêutica, etc.

As máscaras semifaciais também podem se apresentar com filtros integrados, em atendimento a Norma Europeia EN 405:2002, sendo seus elementos filtrantes do tipo A1P3 e A2P3. Os primeiros, oferecem proteção a vapores orgânicos (ponto de ebulição superior a 65ºC) até 10 x TLV ou 1000ppm e partículas até 10 x TLV.

Os Filtros A2P3 oferecem Proteção a vapores orgânicos (ponto de ebulição superior a 65ºC) até 10 x TLV ou 5000ppm e partículas até 50 x TLV.

Ocorrem outros tipos de máscaras semifaciais para proteções distintas, as quais não irei me aprofundar nas especificações detalhadas; sejam elas confeccionadas de silicone com duplo filtro e

classes I e II, ou com visão panorâmica e viseira de policarbonato endurecido, resistente a impactos e rasgos.

Peças faciais inteiras

É a peça facial que cobre a boca, o nariz e os olhos. Sua construção inclui um visor que pode ser acrílico, policarbonato ou vidro tríplex. Pode ou não possuir uma mascarilha interna cuja finalidade é reduzir o espaço morto dentro da peça e conduzir o ar expirado diretamente para a válvula de exalação, impedindo embaçamento do visor pela parte interna.

Este equipamento pode também possuir uma membrana acústica que permite falar e ser ouvido, no caso de transmissão de ordens. Os filtros deste tipo de respirador são do tipo rosca, mecânicos, químicos ou combinados.

O tipo de filtro e sua utilização são indicados nos cartuchos das máscaras por um sistema de letras (europeu) e cores (americano). Devem ser substituídos sempre que apresentarem um aumento na resistência à respiração e sempre no período de validade especificada pelo fabricante.

Filtros mecânicos: São filtros destinados à retenção física de partículas de aerodispersóides em suspensão no ar, de uso rosqueados ou encaixados diretamente nas peças faciais, sejam elas semifaciais ou faciais inteiras (ver figura 33). Classificam-se, segundo sua penetração inicial máxima, em P1, P2 ou P3. As letras S ou SL agregam-se de acordo com sua capacidade de proteção contra partículas sólidas ou sólidas e líquidas, respectivamente. Os filtros da classe P1 são indicados somente para partículas sólidas. Os de classe P2 e P3 são subdivididos de acordo com sua capacidade de remover partículas sólidas e líquidas,

Filtros Químicos: A retenção de gases ou vapores contidos no ar, num filtro químico, exige que este seja produzido com um meio

de retenção apropriado. O carvão é o meio de remoção dos gases e vapores que se utiliza na fabricação dos filtros químicos.

As propriedades adsorventes do carvão são conhecidas desde a Antiguidade. Utilizado durante muito tempo unicamente para filtrar água, ele foi introduzido no processo de purificação do açúcar a partir do Século XIII.

Neste período descobriu-se que o carvão possui a capacidade de eliminar os odores dos gases e de descolorir líquidos. Também nessa época se implantou o processo de ativação do carvão que multiplica por dez sua capacidade de adsorção - um fenômeno físico ou químico no qual as moléculas presentes num líquido ou num gás se fixam na superfície de um corpo sólido.

O momento em que o usuário deve substituir seu filtro químico é aquele em que ele passa a perceber o odor do contaminante. Na grande maioria dos casos, o Limite de Percepção pelo Olfato de um gás está abaixo mesmo do seu Limite de Tolerância. Onde isto não se der, é vedado o uso de filtros químicos.

Filtros Combinados: Os filtros combinados são construídos, como os químicos e mecânicos. Possuem no ingresso do ar o filtro mecânico e após este, o filtro químico. Sua identificação se dá pela inclusão de uma tarja branca no rótulo, o que indica ser filtro combinado. Ele pode agregar um filtro mecânico das classes P2 e P3 e também são rosqueados ou encaixados diretamente nas peças faciais, semifaciais ou inteiras.

Quando são utilizados de forma rotineira, os respiradores devem ser recolhidos diariamente para limpeza e inspeção. Quando são utilizados ocasionalmente, o período de troca poderá ser semanal ou mensal.

Os respiradores devem ser identificados de forma a assegurar ao usuário que ele receba sempre o mesmo equipamento. Esta prática aumenta a aceitação do uso do produto. Os marcadores de identificação não devem penetrar na peça facial nem bloquear o filtro, as partes do cartucho ou as válvulas de exalação.

Recomenda-se o uso de protetores faciais em conjunto com os óculos de segurança nas seguintes operações:

- Reações exotérmicas;
- Reações de digestão;
- Reações onde exista a possibilidade de respingos, ou borrifos de reagentes;
- Operações de calcinação em fornos de mufla.

Estes EPI deverão estar disponíveis aos colaboradores nas seguintes condições:

- Em número suficiente para todos os operadores;
- Em local de fácil acesso;
- Em perfeito estado de conservação.

Equipamentos de emergência

São equipamentos de uso no laboratório que permitem executar operações e condições de segurança satisfatórias tanto para o operador, quanto para os demais colaboradores, devendo estar em local de fácil acesso e todos devem ser treinados para sua utilização.

Extintores de incêndio

Os extintores de incêndio constituem item de segurança obrigatório no laboratório, podendo usar espuma, dióxido de carbono, pó seco químico ou água pressurizada.

Devem ser compatíveis com os materiais e equipamentos que estão sendo utilizados segundo quatro classes:

- *Classe A*: combustíveis comuns (madeira, papel, tecido, plástico, etc.)

- *Classe B*: líquidos combustíveis e inflamáveis;
- *Classe C*: equipamentos elétricos;
- *Classe D*: metais combustíveis.

Para definição da quantidade e tipos de extintores é sugerido que se consulte o Corpo de Bombeiros, bem como os fabricantes de extintores de incêndio.

Deve ser observado que os equipamentos de emergência requerem equipe treinada e capacitada para usá-lo, caso contrário o acidente poderá tomar proporções ainda mais graves.

Incêndio é um processo no qual se desenvolve uma reação de combustão que para se iniciar e se propagar precisa de três componentes, a saber: energia ou calor, combustível e comburente.

O comburente natural do ambiente é o oxigênio do ar. O combustível pode ser materiais sólidos tais como tecidos, plásticos, madeira, etc., ou produtos químicos inflamáveis tais como derivados de petróleo, solventes e reagentes químicos de uso nos laboratórios.

Principais fontes causadoras de incêndio no laboratório:

- Equipamentos elétricos mal conservados, mal operados ou conectados em rede elétrica errada.
- Sobrecarga da rede elétrica por conectar vários aparelhos sendo que a fiação não suporte.
- Operação indevida com líquidos inflamáveis dos cilindros de gás ou nas tubulações.
- Estocagem de líquidos inflamáveis e voláteis em refrigeradores cujo sistema elétrico de partida produza faíscas.

Muito importante durante a ocorrência de um acidente é manter a calma e equilíbrio emocional, para tomar ações imediatas e prudentes. Devendo ter disponível os telefones do corpo de bombeiros para acionar de imediato.

Caso seja possível, dentro dessas orientações, tomar medidas preventivas, o Quadro 2 mostra algumas situações de acidentes com sua indicação de uso para extintores de incêndio. Estes devem seguir, evidentemente, um programa de manutenção preventiva, para que esteja sempre em condições de uso.

Quadro 2: Recomendações para o uso do extintor, segundo a classe do incêndio.

Recomendação para extintor de incêndio	Classes de incêndio
Espuma	Utilizados em incêndios das classes A e B.
CO_2	Utilizados em incêndios das classes B e C, embora seja recomendado nos fogos de classe A em seu início.
Pó seco químico	Utilizados em incêndios das classes A B e C.
Água pressurizada	Utilizados em incêndios das classes A. Não devem ser usados em materiais carregados eletricamente. Se usados sobre líquido inflamável pode ocasionar espalhamento do fogo.

Fonte: BOAS, H.V. *et al*. Guia de Boas Práticas e Segurança em Laboratório. 1ª Edição. Grupo Pão de Açúcar. São Paulo, 2010.

Manta corta-fogo

São recomendadas para laboratórios que trabalham com grandes quantidades de líquidos inflamáveis e empregadas em caso de incêndio que se estendam para as roupas do operador.

Todos os colaboradores do laboratório devem receber treinamento para o uso deste equipamento. A extinção do fogo se dá por abafamento. Deverão ser obedecidas as seguintes exigências:

- Localização de fácil acesso;
- Verificação mensal das condições de preservação;

- As mantas devem ser confeccionadas em tecido resistente e não combustível.

Chuveiro e lava-olhos

Estes dispositivos estão em áreas de acesso coletivo (corredor - ver figura 25). Devem ser usados para banhos em caso de acidentes com produtos químicos ou material biológico sobre o profissional. Este chuveiro é acionado por alavancas de mãos, cotovelos ou joelhos e deve ser colocado em local de fácil acesso, próximo às áreas laboratoriais.

Deve seguir um plano de manutenção periódica. São imprescindíveis em laboratórios em que se manipulam substâncias químicas.

O lava-olhos é utilizado quando ocorrerem respingos ou salpicos acidentais de materiais biológicos ou químicos na mucosa ocular. Alguns modelos vêm acoplados ao chuveiro de emergência (ver figura 25).

Pode-se utilizar também o frasco lava-olhos. A água contida no frasco deve ser trocada pelo menos uma vez por semana e o registro da troca anotado. A equipe do laboratório deve ser treinada para o uso deste equipamento, uma vez que jatos fortes de água podem prejudicar ainda mais o olho atingido.

Equipamentos de proteção coletiva (EPC)

Equipamento de Proteção Coletiva (EPC) é todo equipamento utilizado para atender a vários trabalhadores ao mesmo tempo, destinado à proteção do trabalhador a riscos suscetíveis de ameaçar a segurança e a saúde no trabalho. Por exemplo: o enclausuramento acústico de fontes de ruído, a ventilação dos locais de trabalho, a proteção de partes móveis de máquinas e equipamentos, a sinalização de segurança, a cabine de segurança biológica,

capelas químicas, cabine para manipulação de radioisótopos, tela de proteção contra quedas de materiais, bandeja de proteção contra queda de pessoas, etc.

É importante saber que o EPC se caracteriza em beneficiar um grupo de colaboradores indistintamente. Podem intervir nos métodos e processos analíticos e ações dentro do laboratório.

Nesse caso, podemos citar a música ambiente, que ajuda a reduzir o nível de estresse do analista. Um exemplo de intervenção nos métodos e processos de trabalho se refere à diminuição da velocidade de operação de uma máquina, com o objetivo de reduzir o número de acidentes.

Capelas

Estes dispositivos têm por finalidade permitir a execução de experimentos que geram gases ou vapores tóxicos sem comprometer o ar do laboratório. Estas devem ser construídas com material quimicamente resistente, possuir exaustão com no mínimo dois pontos de captação de gases e vapores e com potência para promover exaustão dos gases leves e/ou gases pesados (enxofre) e/ou vapores de solventes.

As capelas, de modo geral, devem dispor de sistema de iluminação adequado (mínimo 400 lux) (figura 39), gás, vácuo, ar comprimido, instalações elétricas e hidráulicas à prova de explosão; todos estes comandos devem ser do lado externo (figura 40), para que seja desnecessário abrir a janela para ligar ou desligar os mesmos.

A altura das chaminés das capelas deve estar entre 2-3m acima do telhado para que os gases emitidos sejam diluídos no ar. Deve ainda apresentar janela de segurança com vidro temperado, do tipo corrediço ou guilhotina. A velocidade facial do ar deve ser mantida próxima a 0,5 m/s; em caso de risco de contaminação nas imediações, recomenda-se a instalação de um lavador de gases.

Figura 39: Cabine de segurança biológica mostrando o sistema de iluminação na cabine.

Figura 40: Cabine de segurança biológica mostrando os comandos elétricos na parte externa da cabine

As capelas de exaustão devem ser instaladas em locais distantes das portas e saídas de emergência, assim como de locais onde haja trânsito intenso de pessoas, pois podem fazer com que os

contaminantes sejam arrastados de dentro da capela pelo deslocamento de ar, além de dificultar a evacuação da área.

É recomendável que a exaustão da capela seja realizada periodicamente (mínimo uma vez/ano) por meio de anemômetro, pela medição da velocidade facial (m/s). Um teste qualitativo pode ser feito por meio da visualização da trajetória da névoa branca originada da reação entre vapores de ácido clorídrico concentrado e hidróxido de amônio concentrado, colocados separadamente em dois Béqueres, um próximo ao outro.

As capelas devem ser providas de abafadores de ruídos, os quais devem ser controlados a um nível máximo de 85 decibéis para uma exposição diária máxima de 8h, em atendimento a NR-15 (BRASIL, 2007).

Cabines de segurança biológica (CSB) ou capelas de fluxo laminar

As CSB constituem o principal meio de contenção para este fim e são usadas como barreiras primárias para evitar a fuga de aerossóis para o ambiente laboratorial. Definidas segundo o resultado da avaliação dos riscos (ver capítulo 10), podendo apresentar-se aberta ou fechada, com diferentes movimentações do seu fluxo de ar, segundo os elementos filtrantes associados aos sistemas de exaustão, devendo atender aos seguintes objetivos:

- Proteger o colaborador.
- Proteger o produto, o colaborador e o meio ambiente.
- Proteger o colaborador e o meio ambiente.

As capelas de fluxo laminar ou cabine de segurança biológica devem ser usadas nos processamentos de amostra e em repicagens de material potencialmente contaminado. São usadas como barreiras primárias, as quais evitam fuga de aerossóis para o ambiente. Especial importância é dada ao duto de exaustão da CSB (figura 41), para que o esgotamento de ar seja feito por

chaminés que se encontrem no exterior do edifício, com lançamento direto na atmosfera, em que até 100% do ar é expulso por exaustão pelo *filtro HEPA* (*High Efficience Particulate Air*).

Figura 41: Cabine de segurança biológica mostrando o duto de exaustão com saída externa

As atividades realizadas em laboratório requerem do profissional uma série de cuidados, justificada pelo risco à saúde, em função do manuseio de material biológico contaminado, bem como da utilização de vidraria, equipamentos e produtos químicos. Portanto, a escolha correta da CSB é um requisito importante para minimizar ou até mesmo eliminar estes riscos

Como proceder na cabine de segurança biológica (CSB):

1. Calcular o volume da cabine (largura x altura x profundidade = Pé cúbico).
2. Multiplicar o volume (Pé cúbico) por 0,25 para determinar em gramas o peso requerido do para-formaldeído.
3. Elevar a umidade relativa da cabine até pelo menos 60% (utilizar Becker com água sobre uma placa aquecedora).
4. Colocar o Para-formaldeído pesado (gramas necessárias) em aquecedor elétrico com timer.
5. Selar a cabine com plástico verificando todas as entradas e saídas, caso a CSB tenha dutos, selar os dutos de saída.
6. Ligar o equipamento de aquecimento.
7. Após 25% da despolimerização do Para-formaldeído ligar a cabine por 5 a 10 segundos para dissipar o gás Formaldeído através da cabine e filtro HEPA.
8. Repetir a operação n.7 com 50, 75 e 100 % da despolimerização do para-formaldeído.
9. Deixar os vapores do gás Formaldeído agirem na cabine por 1 hora.
10. No caso de fungos sistêmicos deixar agir por 2 horas ou mais.
11. Para neutralizar o gás Formaldeído usar a mesma quantidade de bicarbonato de amônio (NH_4HCO_3), ligar o equipamento de aquecimento e o ventilador da cabine até o NH_4HCO_3 ser dissipado.

AVALIAÇÃO DE RISCO

As avaliações dos riscos devem ser revistas sempre que necessário, tendo em consideração novos dados que tenham impacto importante para o estudo. Este auxilia na adequação das instalações, equipamentos e práticas, as quais reduzirão para um nível mínimo, a exposição dos colaboradores e do meio ambiente aos agentes perigosos.

12. Deixar a cabine ligada pelo menos 1 hora antes de abrir os selos deixando o ar circular.
13. O Formaldeído é explosivo quando misturado com o ar entre 7 a 73%(v/v).

Classes das cabines de segurança biológica (CSB):

- Classe I
- Classe II (subdividida em A, B1, B2 e B3)
- Classe III

Sendo que as cabines de classe I e II são consideradas de proteção parcial, e as de classe III de proteção total.

Cabines de Segurança Biológica Classe I: Estas CSB representam uma modificação da capela usada em laboratório químico. É a forma mais simples de cabine, podendo ser construída com o painel frontal aberto ou fechado com luvas adaptadas. Estas não oferecem proteção para o experimento, apenas para o colaborador e o ambiente, sendo recomendada para trabalho com agente de risco biológico baixo ou moderado.
Cabines de Segurança Biológica classe II: Conhecida como Cabine Biológica de Fluxo Laminar de ar. O princípio fundamental é a proteção do colaborador, meio ambiente e experimento

Nas áreas laboratoriais de contenção NB2 devem ser utilizadas cabines de segurança biológica (Classe I ou II), associadas ao uso de EPI.

VOCÊ SABIA?

Em 1962 os filtros HEPA foram aplicados às cabines de segurança biológica. Isto permitiu que o ar filtrado pudesse ser exaurido diretamente para fora do laboratório ou recirculado, conduzindo ao estabelecimento das três classes de cabines existentes atualmente.

Devem ser realizados no interior destas todos os procedimentos com elevado potencial de criação de aerossóis, como: centrifugação, trituração, homogeneização, agitação vigorosa, ruptura por sonicação, abertura de recipientes contendo material onde a pressão interna se apresente maior que a pressão ambiental e em cultura de tecidos infectados ou de ovos embrionados; manipulação com grandes volumes de materiais biológicos patogênicos. Estes devem ser abertos, exclusivamente, no interior da cabine de segurança biológica.

Classe IIA: Microrganismos de risco biológico I e II podem ser manipulados em pequenas quantidades. Ocorre 70% de recirculação no interior da cabine; 30% de exaustão através de filtro HEPA. Sendo que o ar que sai do filtro HEPA de exaustão pode retornar para o laboratório.

Classe IIB: Recomenda-se seu uso em operações de risco moderado com materiais químicos e voláteis e para agentes biológicos tratados com mínimas quantidades de produtos químicos, microrganismos de risco biológico tipos I, II, III podem ser manipulados. Nos equipamentos classe IIB1 ocorre 30% de recirculação no interior da cabine; 70% de exaustão através do filtro HEPA, para o exterior. Nos equipamentos classe IIB2, ocorre 100% de exaustão através de filtro HEPA; as cabines classe IIB3, há recirculação de 70% no interior da cabine e 30% de exaustão através do filtro HEPA.

Cabines de Segurança Biológica classe III: Absolutamente hermética, com ventilação própria; construída em aço inoxidável e vidros blindados. O trabalho é realizado através de luvas de borracha presas à cabine; A temperatura é controlada no seu interior; O ar penetra no interior da cabine através do Filtro HEPA e circula com trocas de pelo menos 10x/hora. Recomendada para manipulação com microrganismos de risco biológico IV, material de pesquisa de DNA de alto risco.

Instruções de uso da CSB:

1. Fechar as portas do laboratório.
2. Descontaminar a superfície interior com gaze estéril embebida em álcool etílico ou isopropílico a 70%(m/m).
3. Reduzir ao mínimo a circulação de pessoas no laboratório durante o uso da cabine.
4. Procurar não movimentar portas durante o funcionamento do equipamento, sendo recomendável colocar avisos durante o uso deste.
5. Ligar a cabine e a luz UV (ultravioleta) 20 minutos antes de seu uso após a sanitização com agentes químicos.
6. As lâmpadas UV nas cabines devem ser limpas semanalmente, no mínimo, para retirar o pó e sujidades, que podem diminuir a eficácia bactericida da radiação.
7. Fazer o controle da lâmpada UV através do registro do tempo de utilização da lâmpada em formulário próprio para não a utilizar quando esta já não mais tiver eficácia. A vida útil (poder bactericida) deve ser verificada consultando-se as especificações técnicas do produto junto ao fabricante;
8. A luz UV é desligada quando a cabine estiver sendo ocupada, no intuito de proteger olhos e a pele e evitar danos à saúde.
9. Lavar as mãos e antebraços com água e sabão e secar com toalha ou papel toalha descartável, antes e após a realização dos procedimentos na CSB.
10. Usar álcool etílico ou isopropílico a 70%(m/m) nas mãos e antebraços.
11. Usar os equipamentos de proteção individual adequados, tais como: jaleco de manga longa, luvas, máscara e touca.
12. Colocar os equipamentos, meios, vidraria, instrumentos, amostras, etc., seguindo um plano de atividade da área de trabalho.
13. Higienizar todo material que for entrar na CSB.

14. Organizar os materiais de modo que os itens limpos e contaminados não se misturem.
15. Evitar o movimento rápido com as mãos do interior da cabine para fora dela.
16. Colocar os recipientes para descarte de material no fundo da área de trabalho ou lateralmente (câmaras laterais também são usadas).
17. Preferir incinerador elétrico ou micro queimador automático (o uso de chama do bico de Bunsen pode acarretar danos ao filtro HEPA e interromper o fluxo laminar de ar, causando turbulência).
18. Usar pipetadores mecânicos e automáticos.
19. Conduzir as manipulações no centro da área de trabalho.
20. Interromper as atividades dentro da cabine enquanto centrífugas, misturadores ou outros equipamentos estiverem sendo operados.
21. Limpar a cabine, ao término do trabalho, com gaze estéril embebida em álcool etílico ou isopropílico a 70%(m/m).
22. Descontaminar a cabine (a descontaminação poderá ser feita com formalina fervente), aquecimento de para-formaldeído (10,5g/m^3) ou mistura de formalina ou para-formaldeído e água com permanganato de potássio (35 ml de formalina e 7,5 g de permanganato de potássio ou 4g de para-formaldeído e 8g de permanganato).
23. Deixar a cabine ligada 10 a 15 minutos antes de desligá-la.

Descontaminação da cabine de segurança biológica

A descontaminação deve ser realizada quando o filtro absoluto HEPA é trocado, quando há derramamento de agentes de risco biológico no interior da cabine ou descontaminação periódica mensal e/ou quinzenal, principalmente, quando houver muitas manipulações com diferentes gêneros de microrganismo de risco

biológico classe 2 e 3. O método mais difundido de descontaminação é a despolimerização do para-formaldeído pelo calor que gera o gás Formaldeído.

PROCEDIMENTOS EM SITUAÇÃO DE EMERGÊNCIA

Devem ser previstos treinamentos de todos que utilizam o laboratório, por equipe técnica especializada em segurança do trabalho, assim como o corpo de bombeiros também pode auxiliar nesse processo. Algumas medidas emergenciais precisam ser tomadas, com muita prudência, até que aconteça a ação do corpo de bombeiros, dependendo da gravidade da ocorrência.

Primeiros socorros

- Usar chuveiro de emergência e/ou lavadores de olhos (ver figura 25) em caso de contato com ácidos ou bases. Seguir corretamente as instruções de uso do chuveiro e lavador de olhos;
- Em caso de contaminação por material biológico, lavar as áreas afetadas com água em abundância e sabonete, enxaguar com água corrente, enxugar com toalha de papel e por fim umedecer a área com álcool etílico a 70%(m/m);
- Em caso de ferimentos com instrumentos perfurocortantes, lavar a área ferida com sabonete bactericida, preferencialmente, enxaguar com água abundante, enxugar com toalha de papel e por fim umedecer a área com álcool etílico a 70% (m/m) e cobrir a área com gaze estéril;

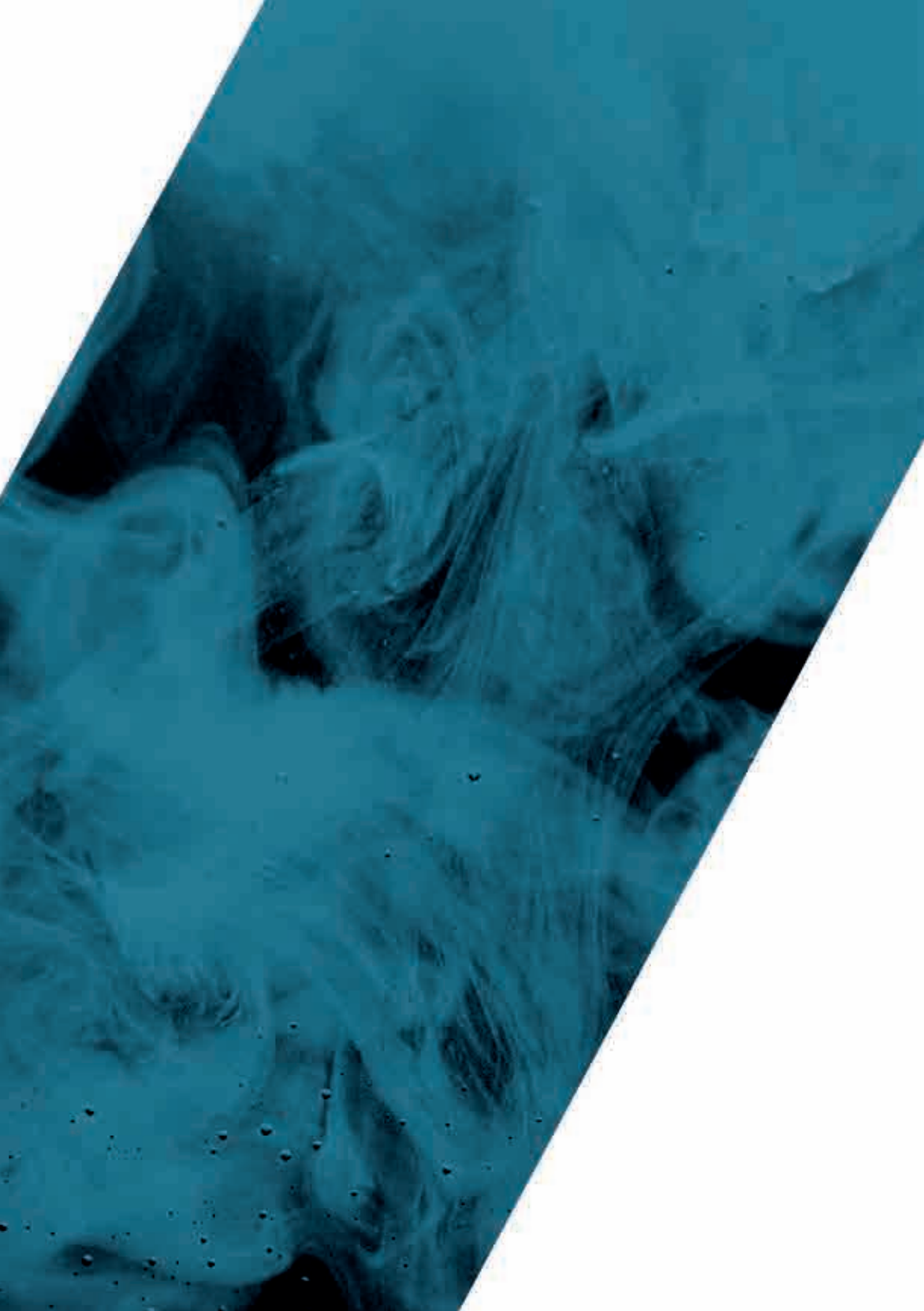
- Em caso de queimaduras, lavar a área com sabonete bactericida, deixando a região em água corrente até aliviar a sensação de ardor.

Providências em caso de derramamento de líquidos inflamáveis, produtos tóxicos ou corrosivos

Embora os derramamentos involuntários de produtos químicos não sejam frequentes no laboratório, algumas precauções se fazem necessárias, sobretudo quando se trabalha com substâncias de alta toxicidade.

Em caso de um derramamento recomenda-se:

- Isolar a área e avisar a todos que estão no laboratório;
- Comunicar ao responsável pela segurança;
- Proteger-se com máscara de segurança, óculos de proteção, etc.
- Interromper todo e qualquer procedimento com chamas no laboratório;
- Desligar aparelhos, aquecedores elétricos, estufas, muflas, etc.
- Permitir exaustão e/ou ventilação no ambiente;
- Adicionar no local uma substância adsorvente do tipo terra diatomácea, no caso de álcalis, ou hidróxido de cálcio ($Ca(OH)_2$), no caso de ácidos e carvão ativo ou turfas para solventes orgânicos;
- Remover a massa resultante em sacos plásticos, ou em recipientes metálicos convenientes, caso a substância seja reativa com o material plástico.
- Providenciar a limpeza do local e deixar ventilar, até não se encontrar vapores residuais no ar.



RISCOS E CONTROLE DE INTOXICAÇÃO E CONTAMINAÇÕES NO LABORATÓRIO

A exposição a produtos químicos é o maior fator de risco de doenças em analistas, seja na indústria química, seja nos laboratórios de ensaio.

Podemos dizer que grande parte dos produtos químicos produzidos pelo homem são tóxicos ou danosos ao organismo humano, dependendo de sua concentração no ambiente e/ou do tempo de exposição a estes. Os períodos longos de exposição podem ocasionar intoxicações crônicas.

Os riscos no ambiente laboral podem ser classificados em cinco tipos, de acordo com a Portaria nº 3.214, (BRASIL, 1995).

Natureza dos riscos e seus agentes

Riscos de acidentes: Qualquer fator que coloque o trabalhador em situação vulnerável e possa afetar sua integridade e seu bem-estar físico e psíquico. São exemplos de risco de acidente: as máquinas e equipamentos sem proteção, probabilidade de incêndio e explosão, arranjo físico inadequado, armazenamento inadequado, etc.

Riscos ergonômicos: Qualquer fator que possa interferir nas características psicofisiológicas do trabalhador, causando desconforto ou afetando sua saúde. São exemplos de risco ergonômico: o levantamento de peso demasiado, ritmo excessivo de trabalho, monotonia, repetitividade, postura inadequada de trabalho, etc.

Riscos físicos: São riscos ambientais que se apresentam em forma de energia como os ruídos, temperaturas extremas, vibrações, radiações ionizantes, radiações não ionizantes, frio, calor, pressões anormais e umidade.

Riscos químicos: São aqueles relacionados à forma de manipulação e exposição dos colaboradores às substâncias, compostos ou produtos que possam penetrar no organismo pela via respiratória, nas formas de poeiras, fumos gases, neblinas, névoas ou vapores, ou que, pela natureza da atividade, possam ter contato ou ser absorvido pelo organismo através da pele ou por ingestão.

Riscos biológicos: O risco biológico está relacionado com a exposição ou manipulação com os agentes biológicos, quais sejam: os microrganismos, geneticamente modificados ou não; as culturas de células; os parasitas; as toxinas e os príons. Esses agentes são capazes de provocar danos à saúde humana, podendo causar infecções, efeitos tóxicos, efeitos alergênicos, doenças autoimunes e a formação de neoplasias e malformações.

Os Riscos Biológicos podem ser subdivididos da seguinte maneira:

a. *Microrganismos*, formas de vida de dimensões microscópicas, visíveis individualmente apenas ao microscópio - entre aqueles que causam danos à saúde humana, incluem-se bactérias, fungos, alguns parasitas (protozoários) e vírus;

b. *Microrganismos geneticamente modificados*, que tiveram seu material genético alterado por meio de técnicas de biologia molecular;
c. *Culturas de células de organismos multicelulares*, o crescimento *in vitro* de células derivadas de tecidos ou órgãos de organismos multicelulares em meio nutriente e em condições de esterilidade - podem causar danos à saúde humana quando contiverem agentes biológicos patogênicos;
d. *Parasitas*, organismos que sobrevivem e se desenvolvem às expensas de um hospedeiro, unicelulares ou multicelulares – as parasitoses são causadas por protozoários, helmintos (vermes) e artrópodes (piolhos e pulgas);
e. *Toxinas*, substâncias secretadas (exotoxinas) ou liberadas (endotoxinas) por alguns microrganismos e que causam danos à saúde humana, podendo até provocar a morte - como exemplo de exotoxina, temos a secretada pelo *Clostridium tetani*, responsável pelo tétano e, de endotoxinas, as liberadas por *Meningococcus* ou *Salmonella*;
f. *Príons*, estruturas proteicas alteradas relacionadas como agentes etiológicos das diversas formas de encefalite espongiforme. As Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EET) são doenças neurodegenerativas que acometem gravemente toda a estrutura do sistema nervoso central. Estas encefalopatias são causadas pelo acúmulo de uma proteína anormal, que se origina a partir de uma alteração de uma proteína normal do hospedeiro. Ocorrem em muitas espécies e, após a instalação do quadro clínico, é invariavelmente, fatal. Atualmente não é passível de tratamento específico e é de difícil diagnóstico. Muitas vezes, só é possível identificar um indivíduo com esta doença quando os sinais degenerativos finais começam a manifestar-se com maior evidência.

Não foram incluídos aqui como agentes biológicos os organismos multicelulares, à exceção de parasitas e fungos. Diversos animais

e plantas produzem ainda substâncias alergênicas, irritativas e tóxicas com as quais os trabalhadores entram em contato, como pelos e pólen, ou por picadas e mordeduras.

Intoxicação química

A manipulação com as substâncias químicas deve ser realizada rigorosamente no interior das capelas de segurança, considerando que os vapores tóxicos podem interagir de forma sinérgica com outros produtos químicos, ou medicamentos que estejam sendo consumidos pelo colaborador, de modo que as consequências são imprevisíveis. Além disso, poderão ter ação narcótica, cancerígena, mutagênica, teratogênica, etc.

Deve-se considerar ainda a condição de saúde do analista, de sua resistência imunológica intrínseca a cada indivíduo, a depender de fatores hereditários, da alimentação, de condições emocionais, de tratamentos com imunodepressores, de condições de stress e de estafa.

Toxicidade de algumas substâncias químicas mais usuais

A intensidade da ação corrosiva de um ácido sobre a pele, mucosa, olhos, tecidos do trato respiratório e digestivo depende da natureza do ácido, da sua concentração e do tempo de contato. Além disso, eles apresentam alta reatividade com metais, razão pela qual deve-se evitar o uso de adornos no ambiente laboratorial.

Os compostos orgânicos, assim como grande número de substâncias do grupo dos álcoois e álcalis agem prejudicialmente no sistema respiratório, ocular e cutâneo. Apesar das medidas preventivas com uso sistemático dos EPI e EPC, os colaboradores não estão isentos de seus perigos na sua totalidade.

Chamamos atenção para algumas substâncias químicas usualmente manuseadas na rotina dos laboratórios físico-químicos, tais como:

Ácido clorídrico (HCl)

- Os vapores do ácido muriático (nome comercial dado ao ácido clorídrico) são irritantes das vias respiratórias.

Ácido sulfúrico (H_2SO_4)

- Os vapores do ácido sulfúrico provocam irritação das mucosas, corrosão dos dentes, dificuldade para respirar, bronquite, edema na laringe e pulmões e perda dos sentidos.
- Quando em contato com a pele, soluções diluídas causam dermatites irritativas e soluções concentradas causam alterações e destruição dos tecidos.

Ácido nítrico (HNO_3)

- Os vapores do ácido nítrico são irritantes das vias respiratórias com ação sobre os pulmões até causar edema pulmonar.
- Quando em contato com a pele, pode causar queimaduras graves; sob aquecimento pode gerar gases tóxicos e inflamáveis.

Ácido perclórico ($HClO_4$)

- Causam queimaduras em contato com a pele, olhos e mucosas;
- Pode formar cloratos em contato com produtos orgânicos inclusive madeira (das capelas), materiais combustíveis e oxidantes (ex. HNO_3) formando compostos explosivos ao choque;
- Devem ser manuseados em capelas especiais (revestidas de aço inox.);
- Muito explosivo quando anidro;
- Em condições de uso a concentração não deve exceder a 72%.

Ácido fluorídrico (HF)

- Corrosivo para vidro e metais;
- Libera vapores tóxicos com o aquecimento;
- Extremamente corrosivo para a pele, olhos e mucosas;

- Provoca irritação severa dos olhos e pálpebras e pode resultar em lesões prolongadas ou permanentes e perda total da visão;
- Causa queimaduras graves que podem ser indolores ou invisíveis nas primeiras horas;
- Pode causar efeito crônico de fluorose com perda de peso, anemia, leucopenia e descoloração dos dentes;

Em casos de acidentes, tomar as seguintes providências:

- Se em contato com a roupa, retirá-la imediatamente;
- Se em contato com a pele, lavar com muita água durante 15 minutos, colocar pomada com sais de cálcio e procurar um médico.

Ácido fosfórico (H_3PO_4)

- Corrosivo para a pele, olhos e mucosas;
- Libera vapores tóxicos com o aquecimento.

Ácido acético (CH_3COOH)

- Provoca irritação, queimaduras, lacrimejamento e conjuntivites quando concentrado;
- Ataca a dentição;
- Pode ocasionar irritação das mucosas quando inalado;
- Risco elevado de edema pulmonar, sob exposição elevada;
- Possibilidade de formar misturas explosivas com ar.

Álcool metílico ou metanol (CH_3COOH)

- Ação direta no nervo ótico;
- A exposição crônica especialmente oral, pode causar cegueira.

Benzeno(C_6H_6)

A intoxicação crônica pode causar:

- Lesões na medula óssea, órgão reprodutor do sangue:
- Anemia (diminuição dos glóbulos vermelhos);
- Leucopenia (diminuição dos glóbulos brancos);
- Alterações no tempo de coagulação (plaquetas ou trombócitos);
- O efeito tardio pode provocar anemia aplástica/leucemia

N-Hexano (C_6H_{14})

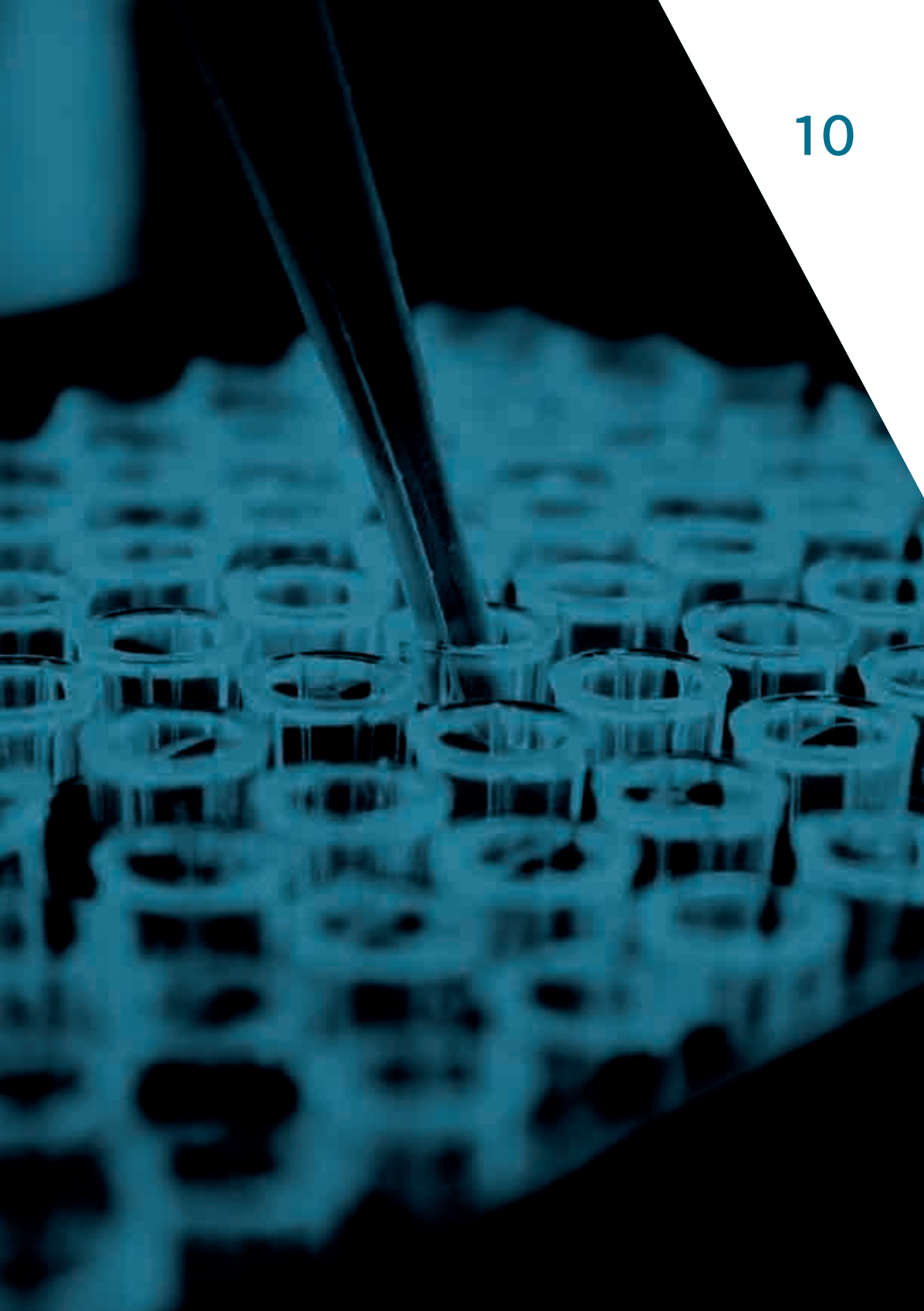
- A intoxicação aguda produz o aparecimento de sinais nervosos que começam com euforia levando à vertigem, paralisia das extremidades e perda da consciência;
- A intoxicação crônica provoca alterações cutâneas e neuropatia.

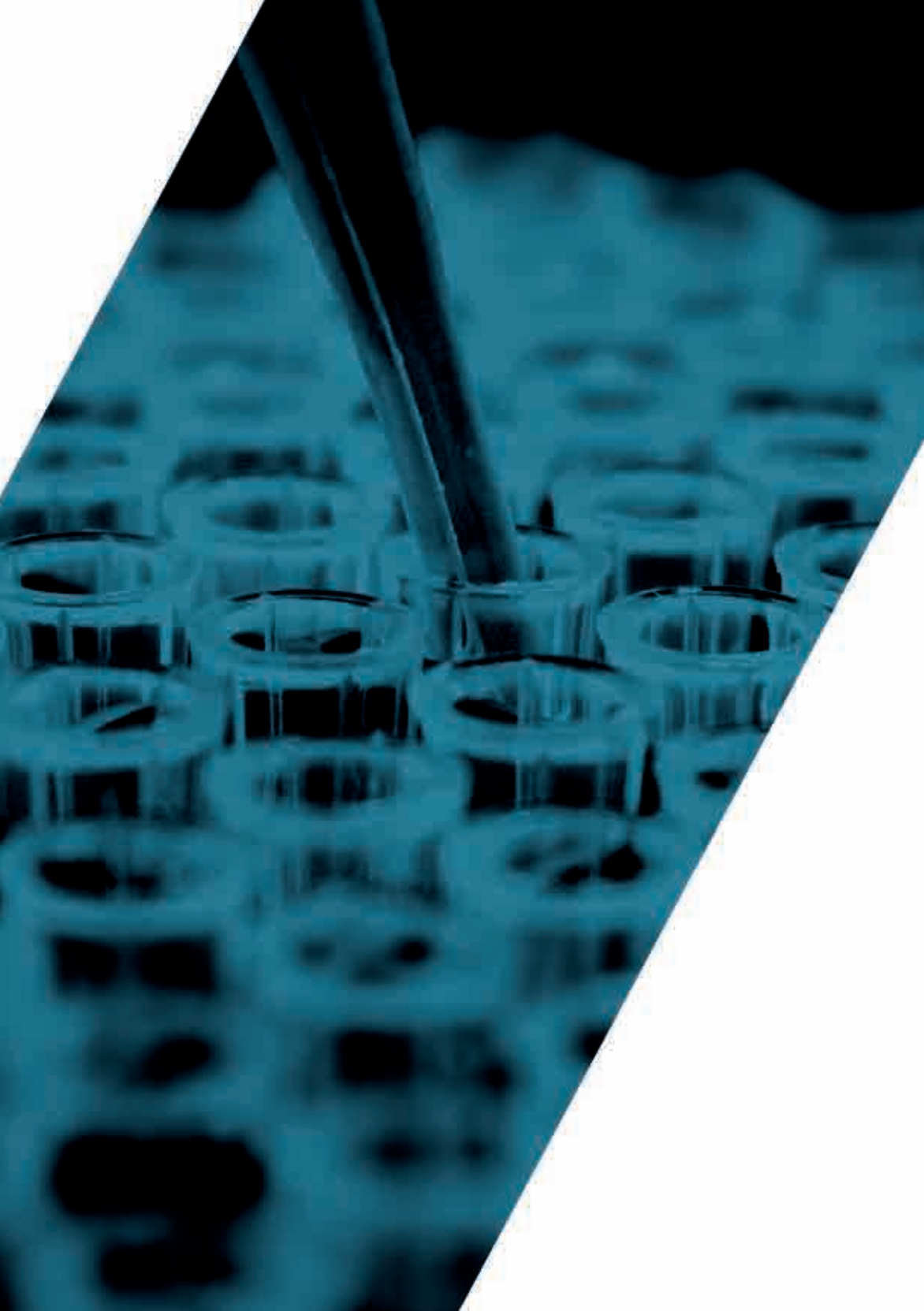
Hidróxido de sódio ($NaOH$)

- A inalação provoca danos no trato respiratório podendo chegar à pneumonite grave;
- Provoca corrosão em todos os tecidos;
- Em contato com olhos, causa opacidade na córnea, edema pronunciado e ulcerações que podem levar à cegueira.

Hidróxido de amônio (NH_4OH)

- A inalação provoca irritação das vias respiratórias;
- A exposição intensa provoca broncopneumonia e morte;
- Em contato com a pele, provoca irritação e queimadura;
- Nos olhos provoca opacidade da córnea e do cristalino.





FALANDO SOBRE O LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece há muito tempo que a segurança, e particularmente a segurança biológica, são questões importantes internacionalmente.

A primeira edição do Manual de Segurança Biológica em Laboratório foi publicada em 1983. Sendo que, dez anos depois foi realizada sua primeira revisão e em 1997, ocorreu a terceira edição do Manual da OMS - "*Safety in Health Care Laboratories*". Nesse sentido, observa-se notoriamente maior abrangência de seu conteúdo, no que se refere ao aspecto ético – da bioseguridade. Foram introduzidos conceitos de proteção biológica – proteção dos recursos biológicos contra roubo, perda ou desvio que possam levar à utilização inapropriada desses agentes como ameaça à saúde pública.

Em observância às normas de Segurança do Laboratório de Microbiologia, segundo a OMS (2004), este deve ser classificado segundo seu nível de biossegurança (NB), em função da classificação dos microrganismos patogênicos, por grupo de risco.

As instalações laboratoriais designam-se por:

- NB-1: laboratório de base – Nível 1 de segurança biológica;
- NB-2: laboratório de base – Nível 2 de segurança biológica,

- NB-3: laboratório de confinamento – Nível 3 de segurança biológica,
- NB-4: laboratório de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica.

Estas designações baseiam-se num conjunto de características de concepção, estruturas de confinamento, equipamentos, práticas e normas operacionais necessárias para trabalhar com agentes de diversos grupos de risco. Portanto, deve ser observada com muito rigor a adoção das BPL, sobretudo, o controle do acesso ao laboratório, deve ser uma medida implantada, assim como o controle do número de pessoas precisa ser restrito.

Os procedimentos de manipulação devem ser em salas exclusivas, preferencialmente seguindo um fluxo contínuo na trajetória com as amostras em análise, evitando contaminações cruzadas e seus colaboradores precisam estar em boas condições de saúde física e emocional, o que impacta diretamente no comprometimento da imunidade.

O laboratório precisa ser classificado dentro das normas de biossegurança, segundo seu grupo de risco.

Classificação de microrganismos patogênicos por grupo de risco

O reconhecimento dos riscos ambientais é uma etapa fundamental do processo que servirá de base para decisões quanto às ações de prevenção, eliminação ou controle desses riscos. Reconhecer o risco significa identificar, no ambiente de trabalho, fatores ou situações com potencial de danos à saúde do trabalhador ou, se existe a possibilidade deste dano. Para se obter o conhecimento dos riscos potenciais que ocorrem nas diferentes situações de trabalho é necessária a observação criteriosa e *in loco* das condições de exposição dos trabalhadores.

A Res. nº1- Cap. X art.64 (BRASIL, 1988), classifica os microrganismos em grupos de risco de 1 a 4 por ordem crescente de risco: *Grupo de risco I*: Possui baixo risco individual e coletivo. Compreendem microrganismos que ainda não foram descritos como agentes causais de doenças para o homem e que não constituem risco para o meio ambiente. Exemplo: *Saccharomyces*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, etc.

Grupo de risco II: Apresenta risco individual moderado e risco coletivo limitado. Microrganismos que podem causar doenças no homem, com pouca probabilidade de alto risco para os colaboradores do laboratório. Exemplo: *Clostridium tetani*, *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Candida albicans*, etc.

Grupo de risco III: Apresenta risco individual elevado e risco coletivo baixo, podendo causar enfermidades graves aos colaboradores do laboratório. Exemplo: *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella typhi*, *Yersinia pestis*, *Mycobacterium tuberculosis*, HIV, etc.

Grupo de risco IV: Agrupa os agentes que causam doenças graves para o homem e representam risco elevado para os colaboradores e para a coletividade; compreendem agentes patogênicos altamente infecciosos, que se propagam facilmente, podendo causar morte. Exemplo: Vírus Ebola, etc.

Segundo a Res. nº 1- Cap. X art. 60 (BRASIL, 1988), as instituições nas quais se realizem pesquisas com microrganismos patogênicos ou material biológico que possa contê-los, deverão dispor das seguintes condições:

- Instalações e equipamentos de laboratório de acordo com as normas técnicas emitidas pelo Ministério da Saúde, de modo

a garantir a contenção física adequada à manipulação segura dos microrganismos;
- Manual de procedimentos para os laboratórios de microbiologia e colocá-lo à disposição do pessoal técnico e administrativo dos referidos laboratórios;
- Equipe técnica treinada e capacitada para a manipulação, transporte, utilização, descontaminação e eliminação de material biológico contaminado;
- Programa de supervisão da segurança nos laboratórios de microbiologia;
- Informação atualizada sobre a segurança dos equipamentos, a disponibilidade de sistemas de contenção, normas e regulamentos, riscos envolvidos e outros aspectos relacionados.

Art. 65: Os microrganismos classificados nos grupos de risco I e II poderão ser manipulados em laboratórios de nível II de Biossegurança.

Art. 66: Os microrganismos classificados no grupo de risco III deverão ser manipulados em laboratórios de segurança microbiológica nível III.

Art. 67: Os microrganismos classificados no grupo de risco IV deverão ser manipulados em laboratórios de máxima segurança microbiológica, sob autorização e controle das autoridades sanitárias correspondentes.

Art. 68: Durante o desenvolvimento das pesquisas com material biológico será considerado como responsabilidade do coordenador da pesquisa os seguintes requisitos:

1. Determinar os riscos reais e potenciais das pesquisas propostas e dar conhecimento aos pesquisadores associados e demais pessoas participantes do projeto;

2. Determinar o nível apropriado de contenção física, selecionar as práticas microbiológicas adequadas e planejar procedimentos para atender a possíveis acidentes no decorrer da pesquisa e instruir o pessoal participante sobre estes aspectos;
3. Zelar para que o pessoal participante cumpra com os requisitos de profilaxia médica, vacinações ou provas sorológicas;
4. Supervisionar para que o tratamento de materiais infecciosos se faça de forma apropriada, de acordo com as normas técnicas da legislação vigente.

Art. 69: Os Comitês de Segurança Biológica das instituições de atenção à saúde deverão realizar visitas periódicas para avaliar o cumprimento das medidas e recomendar modificações das práticas de laboratório, incluindo a suspensão temporária ou definitiva das pesquisas que representem um risco não controlado de infecção ou contaminação para os trabalhadores de laboratórios, a comunidade ou o meio ambiente.

Procedimentos que devem ser adotados:

- Criação de um Programa de Biossegurança
- Adoção de Boas Práticas no Laboratório
- Adoção de Técnicas preventivas
- Controle de Qualidade
- Registro dos acidentes

A avaliação de risco incorpora ações que objetivam o reconhecimento ou a identificação dos agentes biológicos e a probabilidade do dano proveniente destes. Tal análise será orientada por vários critérios que dizem respeito não só ao agente biológico manipulado, mas também ao tipo de ensaio realizado, ao próprio trabalhador e, quando pertinente, à espécie animal utilizada no ensaio. Deve contemplar as várias dimensões que envolvem a questão, sejam elas relativas a procedimentos (boas práticas: padrões e

especiais), a infraestrutura (desenho, instalações físicas e equipamentos de proteção) ou informacionais (qualificação das equipes).

Também a organização do trabalho e as práticas gerenciais passaram a ser reconhecidas como importante foco de análise, seja como causadoras de acidentes, doenças e sofrimento, ou como integrantes fundamentais de um programa de Biossegurança nas instituições. Portanto, o estabelecimento de uma relação direta entre a classe de risco do agente biológico e o nível de biossegurança (NB) é uma dificuldade habitual no processo de definição do nível de contenção. Há situações em que o diagnóstico é de um agente biológico de classe de risco 2, que deve ser trabalhado em áreas de contenção NB-2. Porém, se para algum estudo específico houver a necessidade de um aumento considerável de sua concentração ou de seu volume, produção em grande escala, este então deverá ser realizado numa área NB-3.

Os tipos, subtipos e variantes dos agentes biológicos patogênicos envolvendo vetores diferentes ou raros, a dificuldade de avaliar as medidas de seu potencial de amplificação e as considerações das recombinações genéticas e dos Organismos Geneticamente Modificados (OGM) são alguns dos vários desafios na condução segura de um ensaio.

Portanto, para cada análise ou método diagnóstico exigido, os profissionais deverão proceder a uma avaliação de risco, onde será discutido e definido o nível de contenção adequado para manejar as respectivas amostras. Nesse processo, precisamos considerar, também, todos os outros tipos de riscos envolvidos.

Vias de transmissão de patógenos

- Transmissão aérea
- Transmissão ocular
- Transmissão cutânea ou parenteral
- Transmissão oral

Transmissão aérea

- Formação dos aerossóis – micropartículas sólidas ou líquidas com dimensão aproximada de 0,1μ e 50μ, que podem permanecer em suspensão em condições viáveis, por muitas horas.
- Procedimentos técnicos geradores de risco potenciais: agitação em alta velocidade de materiais biológicos infecciosos;
- Remoção de meio de cultura líquido, fazendo uso de seringa e agulha de frasco contendo material infeccioso;
- Flambagem de alças de platina nas técnicas bacteriológicas.
- Descarte da última gota de fluidos contaminados de pipeta (mesmo com pipetadores automáticos);
- Rompimento de células com ultrassom;
- Abertura de frasco de cultivo imediatamente após a sua agitação em vortex.

Transmissão ocular

A contaminação da mucosa conjuntival ocorre por lançamento de gotículas ou aerossol de material infectante nos olhos. Outra forma de contaminação é através do contato dos olhos com oculares de microscópios ou de aparelhos ópticos.

Transmissão cutânea ou parenteral

Ocorre através da pele, pela injeção acidental de espécimes ou culturas microbianas com agulhas ou quando ocorrem acidentes com materiais cortantes, tais como vidro quebrado, lâminas, bisturi e agulhas. Apenas poucos organismos podem ser adquiridos através da pele intacta como *Leptospira*, *Brucella melitensis*, *Treponema* e larvas do *Strongyloides*, dentre outros.

Transmissão oral

O ato não recomendado de pipetar com a boca representa uma das mais frequentes formas de infecção no laboratório. Sendo os hábitos não conformes de fumar, fazer refeições no laboratório, e a falta de procedimentos higiênicos (Por exemplo: não lavar as mãos após manusear materiais contaminados), e ainda o uso incorreto dos EPI e EPC são importantes formas de transmissão por esta via.

Instruções de segurança para uso da Autoclave

As autoclaves são equipamentos que realizam o processo de esterilização utilizando vapor saturado, sob pressão. São indicadas para a esterilização de materiais termo resistentes. Devem estar localizadas em área para este fim, com sistema de exaustão e ventilação.

Seu uso requer treinamento prévio para evitar sérios acidentes de trabalho, visto que este equipamento trabalha em condições de risco para o operador e o ambiente do laboratório.

1. Abrir cuidadosamente o equipamento, certificando-se que está sem pressão de vapor e com baixa temperatura, para não haver risco de queimaduras.
2. Usar luvas de proteção térmica (ver capítulo 7).
3. Manter o nível da água acima da resistência e no limite do cesto inferior.
4. Utilizar recipientes resistentes à temperatura de 121°± 1°C.
5. Evitar sobrecarregar a autoclave, para facilitar o vapor circulante. O carregamento de materiais na autoclave não deve ultrapassar 2/3 da capacidade da câmara e a distribuição destes é feita de forma a garantir a circulação do vapor. Com a câmara muito carregada a penetração do calor será

inadequada e parte da carga deixará de ser esterilizada, ou seja, o processo perde a eficiência se o vapor não atingir todos os materiais.

6. Todos os materiais precisam estar acondicionados em recipientes vazados, para permitir a boa penetração do calor (figura 42).

Figura 42: Cestos aramados para autoclaves permitem a passagem do vapor fluente

7. Manter os frascos com as tampas ligeiramente folgadas, permitindo a circulação do vapor fluente.
8. Inserir a cada lote de esterilização, um *controle químico* e/ou um *controle biológico* (*Bacillus stearothermophilus*) de referência ATCC - *American Type Culture Collection*, em cada um dos cestos. Em acordo com a norma da ABNT NBR 1295 (BRASIL, 1990).
9. Antes da esterilização do material limpo, deve ser afixada em cada pacote, uma *fita adesiva termossensível* (figura 43), que indica se este foi realmente exposto à temperatura recomendada. Esta fita muda de cor indicando unicamente se a temperatura foi atingida e não o tempo durante o qual ela foi mantida.

10. Os invólucros para esterilização são permeáveis ao vapor. Recomenda-se o uso de papel Kraft.
11. A responsabilidade pelo manuseio da autoclave e pelos cuidados de rotina com a mesma é confiada a colaboradores treinados e capacitados.
12. As instruções do manual de uso do aparelho devem ser obedecidas, particularmente em relação ao manejo, limpeza da câmara de esterilização e limpeza dos reservatórios de água.

Figura 43: Fita indicadora de mudança de temperatura de processo

Procedimento técnico para esterilização

A esterilização é o processo de destruição ou eliminação total de todos os microrganismos na forma vegetativa e esporulada através de agentes físicos ou químicos. Os meios químicos compreendem os agentes antimicrobianos, que podem ser líquidos ou gasosos. Os meios físicos são o calor, em suas formas seca e úmida, como o método mais tradicional de esterilização.

Esterilização por calor úmido: A esterilização é efetuada de 15 a 30 minutos, dependendo do material, a uma temperatura de 121°C

± 1°C, sob pressão de 1 kgf/cm^2 (760mm Hg), sendo este procedimento realizado em autoclave.

Esterilização por calor seco: é um processo lento que necessita de temperaturas elevadas e tempo de exposição mais prolongado. Por ser o calor seco menos penetrante do que o úmido. Estes materiais devem ser previamente embalados em papel Kraft, sendo recomendado o uso de fita indicadora de esterilização e uso de controle biológico e/ou químico

Utilizando-se Forno de Pasteur, ou estufa de esterilização (figura 44) durante 2 horas sob uma temperatura de 170°C ± 10°C, o calor atua sobre todas as superfícies que não são penetradas pelo vapor. Este processo é indicado para esterilizar vidrarias, instrumentos de corte ou de pontas, passíveis de serem oxidados pelo vapor, e recipientes fechados que não são penetrados pelo vapor.

Figura 44: Estufa de esterilização

A estufa de esterilização é um equipamento elétrico que aquece por irradiação do calor, através das paredes laterais e da base. A distribuição deste calor deve ser o mais uniforme possível.

Procedimento técnico para descontaminação

A descontaminação é o processo de desinfecção ou esterilização terminal de objetos e superfícies contaminados com microrganismos patogênicos, com vistas a ter redução ou eliminação da carga microbiana.

Quando houver descaracterização física das estruturas, deve-se proceder ao tratamento aplicado para resíduos comuns (Grupo D) e não havendo, devem ser tratados como resíduos infectantes (Grupo A), segundo preconiza RDC Nº 306 (BRASIL, 2004). Consultar capítulo 12.

Fatores que interferem na eficácia dos processos de higienização e sanitização

Para atingir o nível requerido de sanitização ou desinfecção, o produto químico em questão deve ser aplicado na concentração certa durante um período de tempo especificado. Estes parâmetros são descritos no rótulo do produto e devem ser seguidos para se obter o controle desejado. É importante garantir uso de produtos adequados registrados pela ANVISA.

A eficácia de um produto químico utilizado para sanitização ou desinfecção baseia-se na sua capacidade para reduzir o nível de contaminação.

O padrão de sanitização para a redução da contaminação de *superfícies de contato com alimentos*, por exemplo, é geralmente aceito como 99,999% (uma redução de 5 log) alcançado em 30 segundos. Segundo preconiza *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC)*:* Official Method 960.09. in *Sanitizing Action of Disinfectants*. O padrão de sanitização para *superfícies que não se*

encontram em contato com o alimento é aceito com uma redução de 99,9% (3 logs) em 30 segundos. A desinfecção deve destruir ou inativar irreversivelmente todos os organismos especificados dentro de um determinado tempo, normalmente 10 minutos. Alguns produtos químicos podem funcionar como desinfetantes e sanitizantes.

O processo de higienização depende da preparação das superfícies em questão. A maioria dos desinfetantes deve ser aplicada em superfícies livres de matéria orgânica e resíduos de limpeza. A ordem de eventos geralmente recomendada é *enxaguar, lavar, enxaguar* e *sanitizar*.

O detergente utilizado na etapa de limpeza precisa ser apropriado para o tipo de resíduo. Por exemplo, os *detergentes alcalinos* removem com maior eficiência os resíduos à base de gordura e proteínas, enquanto que os resíduos à base de minerais necessitam de *detergentes ácidos.* Felizmente, os agentes de limpeza modernos são misturas de componentes químicos que podem tratar vários cenários de limpeza.

Químicos sanitizantes

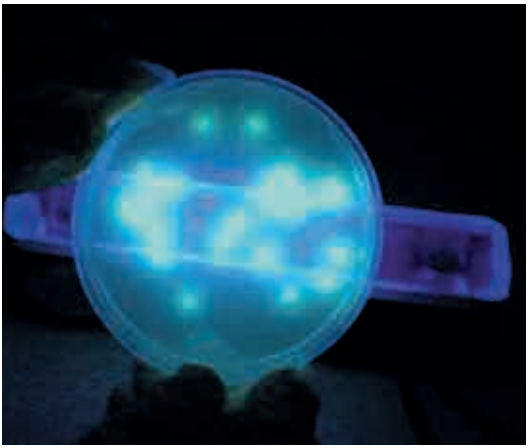
Independentemente do produto, a solução sanitizante deve ser testada para verificar se a concentração desejada está consistentemente presente. Uma concentração muito baixa pode resultar em eficácia inaceitável, enquanto concentração muito alta pode produzir residual que atende às especificações para contaminantes.

A ação antimicrobiana dos agentes químicos depende de uma variedade de fatores relativos à natureza, estrutura e condições dos microrganismos e a componentes químicos e físicos do ambiente externo. O conhecimento desses fatores é imprescindível para uma adequada aplicação dos processos de higienização e sanitização. A não observância desses fatores pode implicar no insucesso desses procedimentos.

Os microrganismos variam consideravelmente quanto à susceptibilidade aos agentes químicos em função de sua constituição. As diferenças em relação à resistência das bactérias na forma vegetativa não são muito significativas, exceto as micobactérias, que devido às características hidrofóbicas da superfície celular são comparativamente mais resistentes a uma variedade de agentes químicos, são álcool-ácido resistentes (AAR).

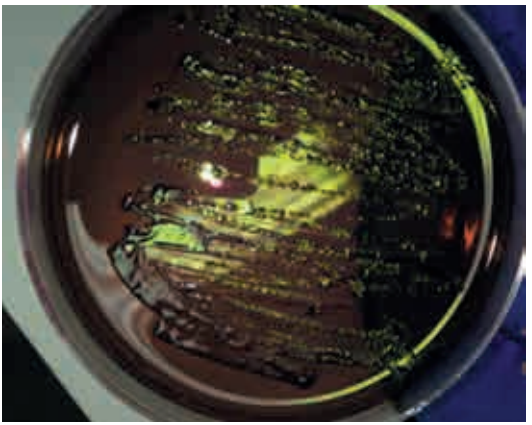
Bactérias do gênero *Staphylococcus* e *Enterococcus* são geralmente mais resistentes do que outros cocos Gram-positivos. Bactérias Gram-negativas do gênero *Pseudomonas* (figura 45), *Klebsiella* e *Enterobacter* têm demonstrado maior resistência aos desinfetantes e antissépticos.

Figura 45: Placa com crescimento de Pseudomonas aeruginosa em meio Agar Cetrimide sob lâmpada ultravioleta



As enterobactérias (figura 46) são utilizadas como indicadores das condições de higiene dos processos de fabricação, porque são facilmente inativadas pelos sanitizantes e capazes de colonizar vários nichos das plantas de processamento quando a sanitização é falha.

Figura 46: Colônias típicas de Escherichia coli (Enterobactereaceae) de cor verde metálico brilhante em meio Ágar Eosin Methylene Blue (EMB)



A ação antimicrobiana é diretamente relacionada ao número de microrganismos presentes. Quanto maior a carga microbiana, maior o tempo de exposição necessário para destruí-la. Assim, procedendo-se com uma limpeza prévia, tem-se maior eficácia do processo de sanitização.

Etapas da higienização

A higienização divide-se em duas etapas: limpeza e sanitização. A primeira tem como objetivo a remoção dos resíduos orgânicos e minerais e sujidades de modo geral, sendo a sanitização a última

DESINFECÇÃO VERSUS SANITIZAÇÃO: vamos entender a diferença entre eles

Desinfetar significa destruir, ou inativar irreversivelmente fungos e bactérias (mas não necessariamente os esporos) em superfícies rígidas. **Sanitizar** significa reduzir microrganismos críticos para saúde pública em níveis considerados seguros, com base em parâmetros estabelecidos, sem prejudicar nem a qualidade do produto nem a sua segurança.

etapa do procedimento de higienização, a qual deve ser realizada para eliminação da carga microbiana patogênica. Esta etapa pode ser realizada por dois processos: físico e ou químico.

A Limpeza é realizada em três fases: a) Pré-lavagem; b) Lavagem; e c) Enxágue. Deve-se inicialmente usar água em temperatura inferior a 40°C, para evitar a precipitação de resíduos de proteínas, sendo de grande importância a escolha certa do detergente (ver Fatores que interferem na eficácia dos processos de Higienização e Sanitização), com objetivo de separar as sujidades, dispersá-las e prevenir que se depositem novamente nas superfícies.

A *pré-lavagem* é realizada apenas com água em abundância, para remoção da sujeira grosseira, ou eliminação de resíduos aderidos na superfície de equipamentos e utensílios. Neste momento, pode ser feito uso de escovões, esfregões, buchas, jatos de água pressurizados, mangueiras com esguicho, etc. Esta etapa apresenta-se de grande importância para o processo, aumentando sua eficiência, tendo em vista que facilita a ação do detergente na etapa seguinte, portanto, reduzindo custos com agente de limpeza e volume de água.

No *processo de lavagem* será empregado o detergente, cuja escolha deve estar baseada no espectro de ação desejada, ação rápida e irreversível, toxicidade, estabilidade e natureza do material a ser tratado.

Importante observar que os detergentes usados em excesso dificultam o *processo de enxágue*, gerando desperdício. Tais produtos precisam ser manipulados por colaboradores treinados, para evitar acidentes. Deve ser mantido na embalagem original, conservado em local arejado e isento de incidência solar direta, bem como de outras fontes térmicas. É recomendável, na maioria dos casos, seguir as instruções de uso do fabricante.

O procedimento para lavagem pode ser realizado de diferentes formas:

1. *Lavagem Manual:* A solução detergente é aplicada por esfrega manual, sobre as áreas a serem limpas. Aplica-se em utensílios, paredes, pisos, teto, janelas, portas e diferentes equipamentos.
2. *Lavagem por espuma:* envolve a aquisição de equipamento específico para a produção de espuma e sua aplicação. Pode ser usado em utensílios, paredes, pisos, teto, janelas, portas e diferentes equipamentos.
3. *Lavagem por Imersão:* neste processo, o equipamento, ou utensílio deve ser desmontado e suas peças são imersas em solução detergente, sendo esfregado manualmente, ou por agitação.
4. *Lavagem CIP (Cleaning in place):* É o processo de limpeza que utiliza bombas e pulverizadores adequados em um sistema fechado. Este procedimento se aplica comumente em linhas de produção, sendo recomendado o uso alternado de hidróxido de cálcio e ácido alternado.

O *enxágue* deverá ser realizado em seguida, com uso de água corrente de boa qualidade, ou seja, que atenda as especificações físico-químicas e microbiológicas da legislação vigente. É muito importante que seja completamente eliminado todo residual do detergente, evitando sua interferência na etapa da sanitização. Preferencialmente, o enxágue poderá ser realizado com água em temperatura superior a 70°C, favorecendo a eliminação de microrganismos, assim como facilitando a evaporação das superfícies.

Tipos de detergentes e suas funções

- *Alcalino*: indicado quando os resíduos são gordurosos e ricos em proteínas.
- *Ácido e Fosfatado*: usado em situações onde a água é rica em compostos de cálcio e magnésio.
- *Complexante*: indicado para o controle de depósitos de sais minerais, facilitando a retirada dessas incrustações. Aplica-se

comumente em caldeiras, para reduzir os sais de cálcio e magnésio e o acúmulo de Óxido de ferro II (FeO), reduzindo a eficiência dos trocadores de calor.

- *Tensoativo*: indicado para remoção de gorduras.

Etapas para sanitização

A sanitização eficiente previne contaminações posteriores, diminuindo a possiblidade de perda dos produtos alimentícios (laboratórios de tecnologia ou fábricas alimentícias).

Os procedimentos de pré-lavagem e lavagem dos equipamentos e utensílios devem ocorrer imediatamente após seu uso, a aplicação de agentes sanificantes (antimicrobianos) deve ocorrer após a limpeza e, quando necessário, imediatamente antes do uso destes.

A escolha do agente sanificante deve atender aos seguintes critérios:

- Ter amplo espectro de ação.
- Eliminar os microrganismos e não apenas impedir sua multiplicação.
- Não ser corrosivo às superfícies de trabalho.
- Não apresentar incompatibilidade com o detergente usado na lavagem do equipamento e utensílios.
- Não ser tóxico para o colaborador e para o meio ambiente.
- Ter ação rápida.
- Fácil aplicação.
- Rápido enxague.

Deve ser observado, contudo, a rotatividade do agente sanificante, para evitar que os microrganismos criem resistência ao produto.

Com poucas exceções, quanto mais concentrado o produto, maior é a eficácia e menor o tempo de exposição necessário para a destruição dos microrganismos.

O tempo de exposição é dependente da concentração e da potência do desinfetante, sendo a magnitude do efeito expressa pelo coeficiente de concentração (n), calculado pela equação:

$$K = t.c^n$$

Onde: K = Constante de proporção de morte,
c = concentração,
t = tempo de exposição.

Para maioria dos desinfetantes o coeficiente de concentração (n) é igual a 1, de modo que diminuindo-se a concentração pela metade, duplica-se o tempo de exposição necessário.

Para os itens a seguir, tem-se adotado com sucesso os tempos de exposição prescritos:

- Desinfecção de superfícies: 10-30 minutos.
- Desinfecção de artigos: no mínimo 30 minutos
- Esterilização de artigos: variável de acordo com o agente: 10-18 horas.

Temperatura: Os sanificantes são comumente usados à temperatura ambiente. O coeficiente de temperatura (T) pode variar de 2 a 14 e é calculado pela seguinte fórmula:

$$T = \frac{\text{tempo de exposição para destruir os microrganismos a X °C}}{\text{tempo para obter o mesmo efeito a (X + 10) °C}}$$

Sanitização por meio químico

Os procedimentos de sanitização por meio químico são mais empregados, devido aos menores custos. Destaca-se o uso dos compostos clorados, iodados e quaternário de amônio.

A sanitização química pode ser efetuada das seguintes formas:

1. *Imersão*: os utensílios e as partes dos equipamentos que podem ser desmontadas são imersos em solução sanificante por tempo recomendado pelo fabricante.
2. *Circulação*: a solução sanificante é circulada por agitação; aplicada geralmente em tubulações.
3. *Aspersão ou nebulização*: A solução sanificante é pulverizada em paredes, tetos, portas, janelas e bancadas.
4. *Contato*: a solução sanificante é despejada sobre a superfície a ser tratada. Aplica-se em mesas, bancadas, pisos e em equipamentos que não podem ser desmontados.

Referências a alguns agentes sanificantes usuais

Produtos que agem no combate a bactérias são chamados de sanificantes ou antimicrobianos e geralmente divididos entre bactericidas, bacteriostáticos e bacteriolíticos. Apesar da similaridade dentre os nomes, as definições estão diretamente relacionadas ao mecanismo de ação deles. Os antimicrobianos podem ser produzidos de forma natural por bactérias ou fungos ou podem ser totalmente sintéticos.

Definir um agente como bacteriostático ou bactericida não é uma tarefa tão trivial. Em concentrações altas o suficiente, agentes tipicamente classificados como bacteriostáticos podem ser potentes o suficiente para matar grande parte das bactérias, sendo considerados, portanto, como bactericidas.

De forma similar, produtos bactericidas podem ser aplicados em pequenas concentrações e agir inibindo o crescimento de bactérias, ao invés de eliminá-las, caracterizando o comportamento de um bacteriostático. Desta forma, é extremamente importante a escolha do sanificante correto na dose certa, a fim de otimizar ao máximo o processo de desinfecção.

Um produto é classificado como *bactericida* quando causa a morte de bactérias (em números até cerca de 99,99%) através de mecanismos como inibição irreversível da replicação do DNA.

Os produtos classificados como *bacteriostáticos* são aqueles que inibem o crescimento das bactérias no meio, sendo necessária atuação externa para eliminação das mesmas (tarefa do sistema imunológico na presença de organismos infecciosos no corpo humano).

Os *bacteriolíticos*, por sua vez, além de matar as bactérias ativas através do impedimento da formação da parede celular, também eliminam as células já mortas através de um processo natural denominado lise celular – ou rompimento da célula bacteriana.

Álcoois

Os mais comumente empregados são o etanol (álcool etílico) e o isopropanol (álcool isopropílico), sendo o primeiro um dos mais utilizados no Brasil, em função da disponibilidade e do baixo custo. São inflamáveis, requerendo, portanto, cuidados especiais na manipulação e estocagem. Orientações podem ser disponibilizadas na *Ficha de Informação e Segurança de Produtos Químicos (FISPQ)*, disponível na internet. O mecanismo de ação dos álcoois ainda não foi totalmente elucidado, sendo a desnaturação de proteínas a explicação mais aceita. Na ausência de água, as proteínas não são desnaturadas tão rapidamente quanto na presença da mesma, razão pela qual o etanol absoluto

(álcool etílico com alto grau de pureza), pode ser considerado um agente desidratante, sendo menos ativo no processo de desnaturação das proteínas, que suas soluções aquosas. Utilizado para desinfecção e descontaminação de superfícies de bancadas, fluxos laminares, equipamentos de grande e médio porte e para antissepsia das mãos. Possui atividade bacteriostática devido à ação inibitória da produção de metabólitos essenciais a divisão celular. A concentração recomendada para fins antimicrobianos está entre 60 e 90% em volume, aceitando-se valores em torno de 77% (v/v), o que corresponde a 70% (m/m). (BRASIL, 1994).

Hipoclorito

Eficácia, baixo custo e facilidade de fabricação tornam os hipocloritos os desinfetantes mais amplamente utilizados. Hipoclorito de sódio é o composto mais comum e é um desinfetante ideal, pois é um oxidante forte. Os hipocloritos causam ampla mortalidade microbiana danificando a membrana externa causando perda de controle da permeabilidade e eventual lise da célula. Além disso, esses compostos inibem as enzimas celulares e destroem o DNA. Os esporos, contudo, são resistentes aos hipocloritos, uma vez que o revestimento de esporos não é susceptível à oxidação, exceto em concentrações elevadas associadas a longos tempos de contato e temperaturas elevadas.

Embora os hipocloritos sejam muito reativos, as suas propriedades são afetadas negativamente por fatores tais como sólidos em suspensão, altas temperaturas, luz, impurezas de água e níveis de pH impróprios. No uso rotineiro, as superfícies devem ser tão livres quanto possível de materiais orgânicos, e o pH deve ser mantido entre 5 e 7 para garantir que a maior quantidade de ácido hipocloroso esteja disponível.

Como com qualquer desinfetante, devem ser feitas medições periodicamente, para garantir que o cloro disponível livremente esteja no nível desejado. Outras desvantagens dos hipocloritos são: corrosividade para os metais, problemas de saúde relacionados com a irritação da pele, dano da membrana mucosa e contaminação ambiental. Este último é motivo de preocupação, uma vez que o cloro pode combinar com substâncias orgânicas para formar compostos clorados tóxicos, tais como trihalometanos e dioxinas.

O uso de hipoclorito pode ser restringido no futuro. Deve-se tomar cuidado ao limpar derramamentos de hipoclorito, pois materiais orgânicos, como pano, serragem e papel, podem entrar em combustão espontaneamente após a secagem.

Dióxido de cloro

Este composto inorgânico é um desinfetante amplo eficaz contra bactérias, fungos e vírus. É um oxidante que reage com as proteínas e ácidos graxos dentro da membrana celular, resultando em perda de controle de permeabilidade e interrupção da síntese de proteínas.

Enquanto o dióxido de cloro é um gás explosivo, é relativamente seguro em solução. É produzido no local porque não pode ser comprimido ou armazenado comercialmente na forma gasosa.

Em comparação com os hipocloritos, o dióxido de cloro requer concentrações muito mais baixas para atingir a mortalidade microbiana. Por exemplo, uma solução de 5 ppm (mg/L) é eficaz como um sanitizante em superfícies de contato com alimentos com um tempo de contato de pelo menos 1 minuto. Além disso, a desinfecção pode ser conseguida com 100 ppm (mg/L) utilizando um tempo de contato de 10 minutos. Este reage mais

seletivamente com os compostos presentes nas células microbianas em oposição à reação com compostos orgânicos em geral.

Essa capacidade permite que o dióxido de cloro funcione em soluções mais carregadas organicamente, embora à medida que a carga orgânica aumenta, a eficácia diminui. É otimizada, contudo, dentro de uma faixa de pH de 6 a 10, permitindo, assim, maior taxa de mortalidade de alguns microrganismos. Outra vantagem é que o dióxido de cloro não forma compostos orgânicos clorados, causando menor impacto ao ambiente.

Iodóforos

Estes compostos são menos ativos que os hipocloritos, mas são sanitizantes e desinfetantes eficazes. Os iodóforos se ligam aos radicais sulfúricos de proteínas como a cisteína, causando inativação desta por danos à parede celular. São mais eficazes em situações em que o pH é ligeiramente ácido, uma vez que existem formas menos ativas acima do pH neutro. A concentração comum para higienização é de 25 mg/L (25 ppm). Infelizmente, os compostos de iodo facilmente mancham muitas superfícies, particularmente os plásticos. Por outro lado, são sanitizantes comuns usados em superfícies de vidro, como nas indústrias de engarrafamento de cerveja e vinho. A E*nvironmental Protection Agency* (EPA) tem avaliado iodóforos como não tendo efeito significativo sobre o ambiente.

Ácido Peracético (PAA)

O *PAA* uma combinação de ácido acético e peróxido de hidrogênio, surgiu no mercado mundial na segunda metade do século passado, sendo incluído como desinfetante/ esterilizante pela Portaria

nº 15 (BRASIL, 1988a) e reconhecido como princípio ativo autorizado pelo Ministério da Saúde.

É classificado pela legislação (BRASIL 2010, 2011) como desinfetante de alto nível com eficácia microbiológica comprovada, biodegradável e proporciona alto poder antimicrobiano em baixas concentrações. Mantém suas propriedades em presença de matéria orgânica, sendo recomendado como substituto ao uso do glutaraldeído 2% e do hipoclorito de sódio 1%.

Deve ser usado na concentração de 300mg/L (300 ppm), na faixa de temperatura entre 8-30°C, quando em imersão ou circulação e na concentração de 700 mg/L (700 ppm), na mesma temperatura, quando usado por aspersão. Funcionam bem sob condições de baixas temperaturas (~4°C), produzindo assim uma mortalidade microbiana aceitável em equipamentos normalmente mantidos abaixo da temperatura ambiente.

O *Ácido Peracético* também é eficaz na remoção de *biofilmes* e nesta função tem se mostrado mais ativo que os hipocloritos. Apresenta amplo espectro de ação e deve ser mantido em contato com a superfície por 15 minutos. Não precisa de enxágue após o procedimento de sanitização. Eficaz para amplo espectro de microrganismos e seus esporos. A mortalidade é produzida pela ruptura de ligações químicas dentro da membrana celular. Os sanitizantes à base de *PAA* são frequentemente combinados com peróxido de hidrogênio estabilizado.

As soluções de PAA podem ser atenuadas pela carga orgânica e começarão a perder atividade à medida que o pH se aproxima do neutro. Estas soluções são preparadas em concentrações que variam entre 100 ppm (mg/L) a 200 ppm de PAA, para 80 ppm a 600 ppm de peróxido de hidrogênio.

Os desinfetantes à base de PAA são ambientalmente aceitos à medida que os compostos neles se decompõem em ácido acético, oxigênio e água. Estes sanitizantes também são menos corrosivos para o equipamento do que os hipocloritos. Tal como acontece

com qualquer oxidante altamente ativo, PAA concentrado pode apresentar-se perigoso para a segurança.

Compostos de Quaternário de Amônio (QAC)

Os compostos de quaternário de amônio são compostos químicos bastante complexos nos quais o azoto está ligado a quatro grupos orgânicos. Os cátions positivamente carregados nos compostos ligam-se aos fosfolipídios ácidos na parede celular microbiana. Esta ação bloqueia a absorção de nutrientes para a célula microbiana e impede a descarga de resíduos.

Em geral, os QAC são eficazes contra um grande espécies de microrganismos, embora a fase de esporos não seja afetada. Em concentrações mais baixas, as bactérias Gram-positivas são mais sensíveis aos QAC do que as bactérias Gram-negativas. Podem ser aplicados em concentrações que variam de cerca de 100 ppm a 400 ppm.

Como sanitizantes, os QAC são comumente aplicados a 200 ppm (mg/L) nas superfícies de contato com os alimentos, e a solução é deixada secar. Uma vez seco, sobra um resíduo dos compostos QAC e proporciona atividade antimicrobiana até ocorrer sua degradação. Os QAC também podem funcionar como detergentes, quando presentes em alta concentração, porque os compostos possuem grupos químicos tanto hidrofílicos como lipofílicos.

Os QAC são geralmente inodoros, não mancham, não são corrosivos e relativamente não tóxicos aos usuários. Eles funcionam bem em uma ampla faixa de temperatura e de pH, embora a atividade seja maior em temperaturas mais quentes e em situações alcalinas.

Enquanto os QAC toleram cargas orgânicas leves, resíduos carregados de carga orgânica irão diminuir significativamente sua atividade. Podem não funcionar adequadamente em águas

duras (ricas em carbonatos de cálcio e magnésio), mas outros são formulados com agentes quelantes adicionados que permitem tal uso. Bactérias que habitam o solo, como *Pseudomonas spp.*, *Xanthomonas spp.* podem degradar os QAC. Além disso, as baixas quantidades de QAC que seguem para instalações comerciais de tratamento de esgoto parecem combinar-se com os agentes tensoativos aniônicos presentes, para formar complexos que reduzem ou eliminam a toxicidade.

Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2)

O peróxido de hidrogênio é uma substância líquida, possui em sua composição dois átomos de hidrogênio e dois átomos de oxigênio. Por razões de segurança, é habitualmente utilizado na fórmula de uma solução aquosa, conhecido comercialmente como água oxigenada, é um líquido claro de fórmula química H_2O_2.

Foi descrito a primeira vez por Louis Jacques Thénard, numa reação de peróxido de bário com ácido nítrico. Embora à princípio, o peróxido de hidrogênio não seja inflamável, ele é um poderoso agente oxidante que pode sofrer combustão espontânea em contato com matéria orgânica ou alguns metais, como o cobre ou o bronze, por exemplo. Por isso, a necessidade de cuidados e precauções no manuseio do H_2O_2 em concentrações mais altas.

O H_2O_2 se torna instável quando em contato com tecidos orgânicos de humanos e animais, rapidamente se decompõe (através da enzima catalase), resultando em água (H_2O) e oxigênio (O_2), de modo exotérmico. Desse modo, durante essa reação, elimina bactérias anaeróbicas (que não sobrevivem na presença de oxigênio), pois libera oxigênio puro, tendo a função de agente sanificante do tecido orgânico.

Este composto pode ser empregado no laboratório com ação sanificante e deve ser usado na concentração de (6% ou 60.000ppm). Requer temperatura acima de 40°C para ser eficiente.

Deve ser mantido em contato com a superfície por 20 minutos. Não é necessário enxaguar o equipamento após a sanitização.

Quando um produto químico é usado para produzir a mortalidade microbiana, existe a possibilidade de promover a resistência. Isso ocorre porque nem todos os microrganismos são mortos.

Uma redução de 5 log (99,999%) ainda significa que de 1.000.000 de microrganismos presentes, 10 sobreviveram, embora o processo tenha reduzido a população para o que pode ser denominado um nível seguro.

O sanitizante poderia não ter tido contato com estes 10 organismos ou eles poderiam ser imunes. Se estes 10 microrganismos são de fato imunes, ao longo do tempo eles vão proliferar, e a concentração usual do sanitizante ou produto químico não produzirá mais mortalidade aceitável. Neste caso, devem ser tomadas medidas para desinfetar as superfícies em questão. Em seguida, é necessário avaliar quais microrganismos estão presentes para que o desinfetante adequado com a concentração adequada e o tempo adequado sejam mantidos.

Em algumas situações, há uma indicação de resistência bacteriana, quando na verdade os microrganismos estão evitando o contato com o produto químico sanitizante porque há presença de biofilme.

Os *Biofilmes* são polissacarídeos que conseguem se depositar em quase qualquer superfície. Bactérias como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Campylobacter spp.* e várias outras podem produzir biofilmes. Ao longo do tempo, o filme se torna mais complexo e pode conter diferentes espécies de bactérias, produzindo uma fonte constante de contaminação.

Sanitização por meio físico

Os meios mais comumente empregados são o *calor* e a *radiação ultravioleta*.

A *Sanitização por Calor* pode ser realizada com vapor, ar quente, ou água quente. Cada situação apresenta uma temperatura e um tempo de exposição ideal.

- *Vapor*: jatos de vapor a 77°C durante 15 minutos; 93°C durante 5 minutos, ou ainda pelo uso de vapor direto por 1 minuto.
- *Ar Quente*: recomenda-se uma exposição de 20 minutos a 90°C.
- *Agua quente*: recomenda-se uma exposição de 2 minutos a 77°C, no caso de utensílios e de 5 minutos no caso de equipamentos de processamento de alimentos.

A *Sanitização por radiação ultravioleta* é usada para reduzir a população de microrganismos em áreas de processamentos, laboratórios, capelas, embalagens de leite e polpas. Não confere sabor indesejável e não tem efeito residual. Este método é usual para sanitização de superfícies e bancadas.

Instrução para lavagem de vidrarias e materiais resultantes de ensaios microbiológicos

Em acordo com a Norma ABNT NBR 1.295 (BRASIL, 1990), devem ser seguidas as seguintes recomendações:

- O material proveniente dos ensaios microbiológicos deverão ser descontaminados previamente em autoclave, na sua maioria, em temperatura de 121°C ± 1°C por 30 minutos.
- Os resíduos sólidos dos materiais e/ou vidraria deverão ser arrastados com auxílio de espátula e escovas.
- O processo de segregação dos resíduos sólidos das misturas deverá ser feito em peneiras.
- O descarte dos resíduos biológicos sólidos (ver capítulo 13) deverá ser realizado em sacos plásticos brancos leitosos com a descrição e a simbologia de risco biológico (Resíduos do Grupo A).

- Deve ser observado que estes atinjam o limite de 2/3 de sua capacidade; devendo ser substituídos uma vez a cada 24 horas.
- As soluções biológicas residuais sejam elas orgânicas, inorgânicas, ácidas e ou alcalinas deverão ser previamente neutralizadas e acondicionadas em recipientes plásticos com descrição e simbologia indicativa de risco biológico.
- As vidrarias poderão ser lavadas em lavadoras-secadoras.

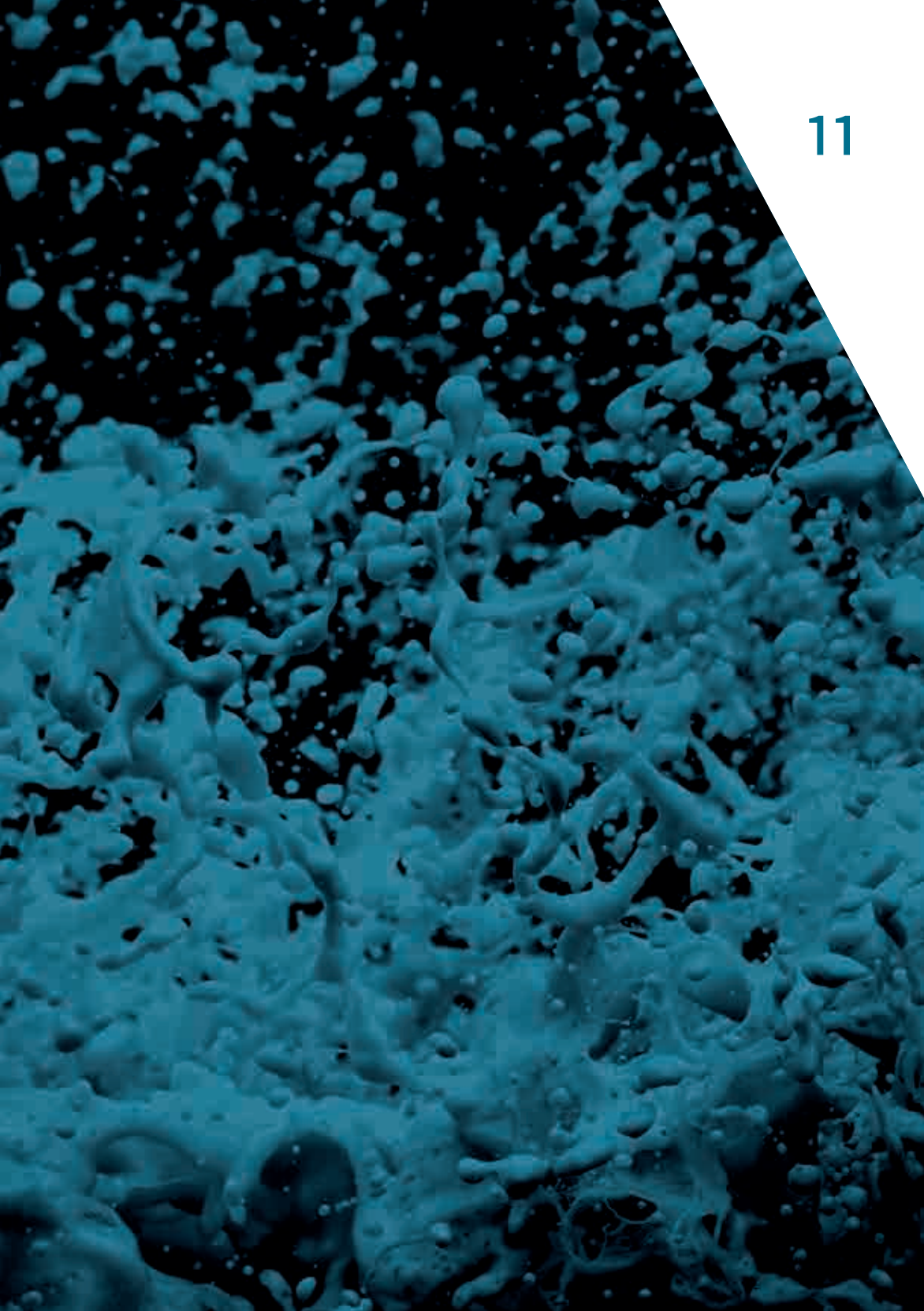
As vidrarias também poderão ser lavadas por métodos convencionais seguindo alguns critérios:

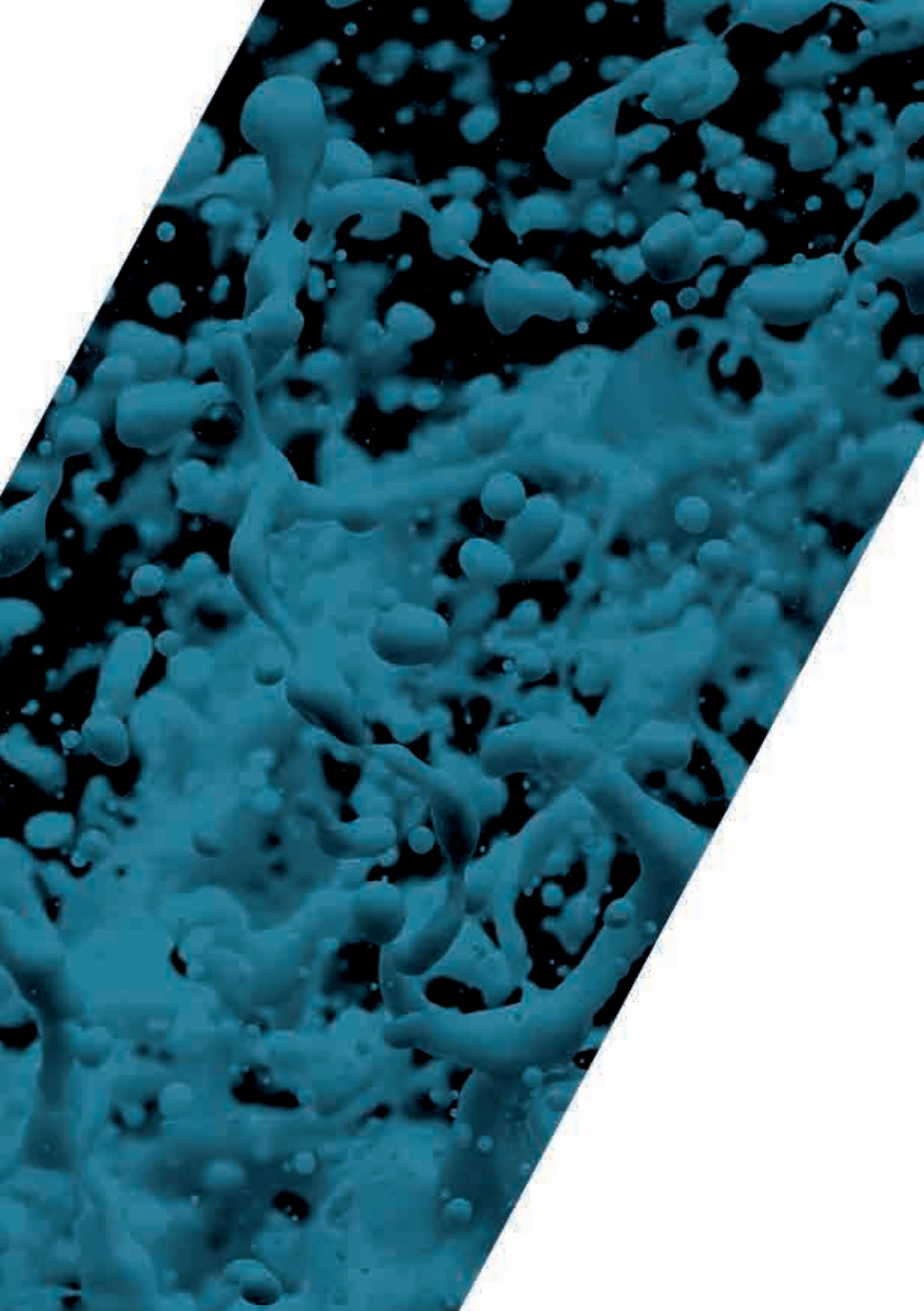
1. Imergir em solução de detergente sanitizante por 20-30 minutos, na concentração recomendada pelo fabricante.
2. Enxaguar em água corrente abundante.
3. Imergir o material e/ou vidraria limpos em outro recipiente, contendo água destilada, por no mínimo 30 minutos. Como sugestão de controle, poderá ser utilizado o indicador químico azul de bromotimol a 0,4%. Observar quando houver mudança de cor da água: de amarelo – cor ideal (pH < 6.6) para azul (pH > 7,6) – sendo o indicador químico utilizado apenas como facilitador do controle de troca da água de enxágue.
4. Transferir todo material para cestas vazadas e/ou escorredor dispondo-os em posição invertida para secar.
5. As vidrarias volumétricas como por exemplo: os balões volumétricos e provetas, (ver Figuras 47 e 48, respectivamente) deverão ser secas ao ar, e as vidrarias não volumétricas a exemplo do Béquer (figura 49), poderão ser levadas a estufas de secagem com temperatura de 45°C ± 5°C, por 2h ± 1h.
6. Guardar os materiais e vidrarias em armários e gavetas com etiquetas indicativas para facilitar sua localização e organização.

Figura 47: Balões volumétricos

Figura 48: Provetas

Figura 49: Béqueres





PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA DO LABORATÓRIO

É o processo pelo qual são removidos materiais estranhos (matéria orgânica, sujidades) de superfície e objetos. Normalmente é realizada através da aplicação de água e sabão ou detergente e ação mecânica.

Tais procedimentos devem ser executados pelos colaboradores do setor, podendo também ser realizados por profissionais contratados, sendo estes previamente treinados para o desempenho da referida função.

Paredes e teto

Devem ser higienizadas semanalmente, com detergente de ação bactericida, com auxílio de esfregões de uso exclusivo do setor.

Procedimento de lavagem de paredes e teto:

1. Diluir o detergente na concentração recomendada pelo fabricante;
2. Molhar toda a parede e teto com água, com auxílio de esfregão;
3. Espalhar a solução de sabão por toda superfície desejada;

4. Retirar o detergente com material descartável umedecido com água, ou com auxílio de rodo;
5. Deixar secar naturalmente e se necessário, utilizar toalha descartável.

Piso, janelas e portas

Deve ser higienizado diariamente o piso e semanalmente as janelas e portas e sempre que se considere necessário.

Procedimento de lavagem do piso, janelas e portas:

1. Diluir o detergente bactericida na concentração recomendada pelo fabricante;
2. Molhar todo o piso, janelas com água, com auxílio de esfregão; no caso das portas, apenas passar a solução detergente com auxílio de um esfregão, de uso exclusivo para o laboratório;
3. Espalhar a solução detergente por toda área do piso e janelas;
4. Retirar o detergente com água;
5. Retirar a água com rodo;
6. Deixar secar naturalmente e se necessário, utilizar toalha descartável.
7. Secar as janelas com toalha descartável, finalizando com álcool etílico 70% (m/m).

Bancadas

Devem ser higienizadas antes e após os procedimentos de ensaio e sempre que se considere necessário.
Procedimento de limpeza de bancadas:

1. Retirar a sujeira com auxílio de toalha descartável;
2. Molhar a bancada com água, com auxílio de vaporizador;

3. Espalhar, com auxílio de vaporizador, a solução detergente bactericida diluída, conforme instrução do fabricante por toda área da bancada;
4. Aguardar a ação do princípio ativo do detergente.
5. Retirar o detergente com toalha descartável umedecido com água;
6. Deixar secar naturalmente e se necessário, utilizar toalha descartável;
7. Utilizar solução de álcool etílico a 70%(m/m), ou adicionado de iodo na proporção de 0,5% a 1,0% (m/v) o que incrementa a atividade e acrescenta ação residual a estas soluções. (BRASIL, 1994).

GESTÃO AMBIENTAL

A atividade laboratorial gera grande quantidade de material indesejável, os resíduos químicos, biológicos e radioativos. Dentro deste contexto, a Lei Federal Nº 12.305 (BRASIL, 2010) instituiu a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), determinando o controle dos impactos de natureza ambiental, econômica e social.

Estão sujeitas à observância desta lei as pessoas físicas ou jurídicas, de direito público ou privado, responsáveis, direta ou indiretamente, pela geração de resíduos sólidos e as que desenvolvam ações relacionadas à gestão integrada ou ao gerenciamento de resíduos sólidos.

O gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde (RSS), segundo RDC nº 306 (BRASIL, 2004) constitui-se em um conjunto de procedimentos de gestão, planejados e implementados a partir de bases científicas e técnicas, normativas e legais.

O RSS tem como objetivo minimizar a produção de resíduos e proporcionar àqueles gerados um encaminhamento seguro, de forma eficiente, visando à proteção dos colaboradores, a preservação da saúde pública, dos recursos naturais e do meio ambiente.

As diretrizes advindas dessa gestão devem abranger todas as etapas de planejamento dos recursos físicos, dos recursos

materiais e da capacitação dos recursos humanos envolvidos no manejo dos Resíduos de Serviço de Saúde (RSS), esta norma se aplica aos laboratórios de ensaios.

Cada gerador deve elaborar um Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS), baseado nas características dos resíduos gerados e na sua classificação, estabelecendo as diretrizes de manejo. O PGRSS a ser elaborado deve ser compatível com as normas locais relativas à coleta, transporte e disposição final dos resíduos gerados nos serviços de saúde, estabelecidas pelos órgãos locais responsáveis por estas etapas.

Manejo: O manejo dos RSS é entendido como a ação de gerenciar os resíduos em seus aspectos intra e extra estabelecimento, desde a geração até a disposição final, incluindo as seguintes etapas:

Segregação: Consiste na separação dos resíduos no momento e local de sua geração, de acordo com as características físicas, químicas, biológicas, o seu estado físico e os riscos envolvidos.

Acondicionamento: Consiste no ato de embalar os resíduos segregados, em sacos ou recipientes que evitem vazamentos e resistam às ações de furos e ruptura.

A capacidade dos recipientes de acondicionamento deve ser compatível com a geração diária de cada tipo de resíduo.

- Os resíduos sólidos devem ser acondicionados em saco constituído de material resistente a ruptura e vazamento, impermeável, baseado na NBR 9.191 (ABNT, 2000), respeitados os limites de peso de cada saco, sendo proibido o seu esvaziamento ou reaproveitamento.
- Os sacos devem estar contidos em recipientes de material lavável, resistente à furos, ruptura e vazamento, com tampa provida de sistema de abertura sem contato manual, com cantos arredondados e ser resistente ao tombamento.

- Os resíduos líquidos devem ser acondicionados em recipientes constituídos de material compatível com o líquido armazenado, resistentes, rígidos e estanques, com tampa rosqueada e vedante.

Identificação: Consiste no conjunto de medidas que permite o reconhecimento dos resíduos contidos nos sacos e recipientes, fornecendo informações ao correto manejo dos RSS.

A *identificação dos sacos* de armazenamento e dos recipientes de transporte poderá ser feita por adesivos, desde que seja garantida a resistência destes aos processos normais de manuseio dos sacos e recipientes.

O *Grupo A* é identificado pelo símbolo de substância infectante constante na NBR 7.500 (BRASIL, 2001), com rótulos de fundo branco, desenho e contornos pretos.

O *Grupo B* é identificado através do símbolo de risco associado, de acordo com a NBR 7.500 (BRASIL, 2001) e com discriminação de substância química e frases de risco.

O *Grupo C* é representado pelo símbolo internacional de presença de radiação ionizante (trifólio de cor magenta) em rótulos de fundo amarelo e contornos pretos, acrescido da expressão *Rejeito Radioativo*.

O *Grupo D* é *representado pelos resíduos comuns*. Devem ser acondicionados de acordo com as orientações dos serviços locais de limpeza urbana, utilizando-se sacos impermeáveis.

Para os resíduos do Grupo D, destinados à *reciclagem* ou *reutilização*, a identificação deve ser feita nos recipientes e nos abrigos de guarda de recipientes, usando código de cores e suas correspondentes nomeações, baseadas na Resolução CONAMA nº. 275 (BRASIL,2001), e símbolos de tipo de material reciclável:

Para os demais resíduos do Grupo D deve ser utilizada a cor cinza nos recipientes. Caso não exista processo de segregação para reciclagem, não existe exigência para a padronização de cor destes recipientes.

O *Grupo E* é identificado pelo símbolo de substância infectante constante na NBR 7.500 (BRASIL, 2001), com rótulos de fundo branco, desenho e contornos pretos, acrescido da inscrição de *Resíduo Perfurocortante* (figura 50), indicando o risco que apresenta o resíduo.

Figura 50: Embalagem em papelão, apropriada para resíduos perfurocortantes, infectantes e vidrarias quebradas no laboratório.

Transporte Interno: Consiste no translado dos resíduos dos pontos de geração até local destinado ao armazenamento temporário ou armazenamento externo com a finalidade de apresentação para a coleta.

Armazenamento Temporário: Consiste na guarda temporária dos recipientes contendo os resíduos já acondicionados, em local próximo aos pontos de geração, visando agilizar a coleta dentro do estabelecimento e otimizar o deslocamento entre os pontos geradores e o ponto destinado à apresentação para coleta externa.

Deve-se evitar o armazenamento temporário com disposição direta dos sacos sobre o piso, sendo obrigatória a conservação dos sacos em recipientes de acondicionamento.

A sala para guarda de recipientes de transporte interno de resíduos deve ter pisos e paredes lisas e laváveis, sendo o piso ainda resistente ao tráfego dos recipientes coletores.

Deve possuir ponto de iluminação artificial e área suficiente para armazenar. Quando a sala for exclusiva para o armazenamento de resíduos, deve estar identificada como "Sala de Resíduos".

O armazenamento de resíduos químicos deve atender à NBR 12.235 (BRASIL, 1988).

Tratamento: Consiste na aplicação de método, técnica ou processo que modifique as características dos riscos inerentes aos resíduos, reduzindo ou eliminando o risco de contaminação, de acidentes ocupacionais ou de dano ao meio ambiente.

O tratamento pode ser aplicado no próprio estabelecimento gerador ou em outro estabelecimento, observadas nestes casos, as condições de segurança para o transporte entre o estabelecimento gerador e o local do tratamento.

Os sistemas para tratamento de resíduos de serviços de saúde devem ser objeto de licenciamento ambiental, de acordo com a Resolução CONAMA nº. 237 (BRASIL,1997) e são passíveis de fiscalização e de controle pelos órgãos de vigilância sanitária e de meio ambiente.

O processo de esterilização com uso de autoclave, aplicado em laboratórios para redução de carga microbiana de culturas e estoques de microrganismos está dispensado de licenciamento ambiental, ficando sob a responsabilidade dos serviços que as possuírem, a garantia da eficácia dos equipamentos mediante controles químicos e biológicos periódicos devidamente registrados.

Os sistemas de tratamento térmico por incineração devem obedecer ao estabelecido na Resolução CONAMA nº. 316 (BRASIL, 2002).

Armazenamento Externo: Consiste na guarda dos recipientes de resíduos até a realização da etapa de coleta externa, em ambiente exclusivo com acesso facilitado para os veículos coletores.

No armazenamento externo não é permitida a manutenção dos sacos de resíduos fora dos recipientes ali estacionados.

Coleta e Transporte Externos: Consistem na remoção dos Resíduos de Serviço de Saúde (RSS) do abrigo de resíduos (armazenamento externo) até a unidade de tratamento ou disposição final, utilizando-se técnicas que garantam a preservação das condições de acondicionamento e a integridade dos colaboradores, da população e do meio ambiente, devendo estar de acordo com as orientações dos órgãos de limpeza urbana.

A coleta e transporte externos dos resíduos de serviços de saúde devem ser realizados de acordo com as normas NBR 12.810 (BRASIL, 1993) e NBR 14.652 (BRASIL,2001).

Disposição Final: Consiste na disposição de resíduos no solo, previamente preparado para recebê-los, obedecendo a critérios técnicos de construção e operação, e com licenciamento ambiental de acordo com a Resolução CONAMA nº 237 (BRASIL, 1997).

Para que os resíduos de laboratório possam ser eliminados de forma adequada é necessário ter-se à disposição recipiente de tipo e tamanho diferenciados, importante se faz observar é que a forma de abrir e fechar os recipientes não se faça necessário retirar a tampa com as mãos (figura 51).

Resíduos de laboratório

O compromisso dos profissionais com seus impactos gerados ao ambiente, parece ser uma medida consciente e muito sábia.

A adoção de algumas condutas simples, podem conduzir a resultados bastantes significativos, quando disseminada a ideia para muitos outros colegas. Por exemplo: Uma medida importante

que pode ser implantada no laboratório é a de *reduzir* a demanda de reagentes, associada ao plano de gerenciamento de resíduos.

Figura 51: Recipientes de coleta de resíduos diversos de laboratório discriminando a natureza do resíduo e mostrando o formato de tampa.

O segundo passo pode ser o de *reutilizar* estes resíduos. Muitos experimentos fazem uso de solventes que podem ser destilados e reaproveitados. Outra possibilidade é a de *reciclar* os reagentes. Também podendo ser utilizada uma política de permuta destes entre os laboratórios. É importante lembrar que todo laboratório é responsável pelo resíduo gerado até seu destino final.

Recolhimento e classificação

As características físico-químicas e os riscos destas substâncias estão na Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ), conforme NBR 14.725 (BRASIL, 2010).

- *Resíduos químicos que apresentam risco à saúde ou ao meio ambiente*, quando não forem submetidos a processo de reutilização, recuperação ou reciclagem, devem ser submetidos a tratamento ou disposição final específicos.

- *Resíduos químicos no estado sólido*, quando não tratados, devem ser dispostos em aterro de resíduos perigosos.
- *Resíduos químicos no estado líquido* devem ser submetidos a tratamento específico, sendo vetado o seu encaminhamento para disposição final em aterros.
- Devem ser acondicionados, observadas as exigências de compatibilidade química dos resíduos entre si (ver quadro 05 no capítulo 13);
- Deve ser observada a compatibilidade do resíduo com o material da embalagem, de forma a evitar reação química entre os componentes do resíduo e da embalagem, enfraquecendo ou deteriorando a mesma, ou avaliar ainda a possibilidade de que o material da embalagem seja permeável aos componentes do resíduo (ver capítulo 13).
- Os *resíduos líquidos* devem ser acondicionados em recipientes constituídos de material compatível com o líquido armazenado, resistentes, rígidos e estanques, com tampa rosqueada e vedante, identificado através do símbolo de risco associado, de acordo com a NBR 7.500 (BRASIL, 2001) e com discriminação de substância química e frases de risco.
- Os *resíduos sólidos* devem ser acondicionados em recipientes de material rígido, adequados para cada tipo de substância química, respeitadas as suas características físico-químicas e seu estado físico, e identificado através do símbolo de risco associado, de acordo com a NBR 7.500 (BRASIL, 2001) e com discriminação de substância química e frases de risco.
- As *embalagens secundárias* não contaminadas pelo produto devem ser fisicamente descaracterizadas e acondicionadas como Resíduo do Grupo D, podendo ser encaminhadas para processo de reciclagem.
- As *embalagens e materiais contaminados por substâncias químicas* que apresentam risco à saúde ou ao meio ambiente, devem ser tratados da mesma forma que a substância que as contaminou.

A classificação de resíduos envolve a identificação do processo ou atividade que lhes deu origem e de seus constituintes (ver figura 51).

Os resíduos químicos são classificados em:

- Resíduos classe I - Perigosos;
- Resíduos classe II – Não perigosos;
- Resíduos classe II A – Não inertes;
- Resíduos classe II B – Inertes.

Periculosidade de um resíduo: Característica apresentada por um resíduo que, em função de suas propriedades físicas, químicas ou infectocontagiosas, pode apresentar: a) risco à saúde pública, provocando mortalidade, incidência de doenças ou acentuando seus índices; b) riscos ao meio ambiente, quando o resíduo for gerenciado de forma inadequada.

Descarte de resíduos sólidos

Os resíduos e reagentes tóxicos/ inflamáveis do laboratório de físico-química devem ser acondicionados em vidros com rótulos de identificação, quantificados e acondicionados em sacos plásticos específicos (Resíduo Químico – Grupo B), segundo preconiza a norma NBR-10.004 (BRASIL, 2004).

Descartes de gases ou vapores do laboratório

Recomenda-se que os procedimentos geradores de vapores e gases sejam realizados no interior de capelas de exaustão, de modo que as chapas aquecedoras, os digestores devem permanecer em capelas (ver figura 18).

Os procedimentos de preparação de soluções, e algumas determinações analíticas em que se desprendam compostos

voláteis devem ser realizados em capelas de exaustão, a exemplo do ensaio de fibra enzimática e extração de lipídios e outras substâncias voláteis, que são insolúveis em água, mas solúveis em compostos orgânicos. Nos dois exemplos, recomenda-se que o sistema de vácuo e o aparelho de Soxhlet, na sequência, estejam montados no interior de capelas de exaustão.

Descartes de líquidos

Os rejeitos tóxicos são submetidos à pré-tratamento, para neutralização, antes de serem descartados em recipientes (PEAD – Polietileno de alta densidade) compatíveis com simbologia de risco químico.

Estas embalagens precisam trazer em seus rótulos algumas informações que caracterizem os compostos ali presentes. Dados referentes a sua identificação e volume, ou concentração das substâncias químicas, data de início e término da coleta, volume do resíduo, responsável pelo laboratório gerador do resíduo.

Devem ser mantidos numa área ventilada até recolhimento pela coleta seletiva diferenciada. O volume total do resíduo não deve exceder ¾ do volume da embalagem.

Os frascos coletores devem ser, preferencialmente, identificados separadamente (ver o quadro 3 - capítulo 13), em função da natureza dos compostos químicos coletados; ácidos, álcalis, orgânicos, biológicos, resíduos contendo metais, etc.

Descarte de líquidos contendo metais pesados

Os metais pesados precisam ser removidos, previamente ao descarte. Usando técnica de precipitação, com ajuste do pH, conforme cada situação, ou por adsorção, usando coluna com carvão ativo. No caso de mercúrio, deve-se usar máscara respiratória adequada, óculos de proteção e luvas. Descartar o metal (Hg) em recipiente com água, para evitar evaporação.

Descarte de líquidos sem metais pesados e sem fluoretos

Deve-se ajustar o pH para faixa entre 5 e 9, diluir e descartar em recipientes plástico ou vidro, compatível com os resíduos químicos, não devendo ultrapassar o limite de ¾ da capacidade máxima do recipiente e este deve trazer rótulo discriminando o seu conteúdo e classificação, segundo grau de risco e prevenção de acidentes.

Os reagentes químicos vencidos e/ou contaminados que forem encaminhados para descarte, deverão ser mantidos em sua embalagem original, podendo ser usada embalagem secundária para maior segurança no transporte, desde que preserve todas as informações contidas nos rótulos originais. Pode, eventualmente ser necessário fazer novo rótulo, aproveitando o máximo das informações originais, caso esta esteja muito danificada, inclusive devendo consultar a FISPQ do produto, para este fim.

Descarte de solventes orgânicos clorados e não clorados

Os solventes clorados devem ser descartados em separado, também em containers especiais, pois em caso de queima produzem fosfogênio - gás altamente tóxico, que apresenta risco de provocar edema pulmonar com efeito retardado, após 5 a 6 horas da aspiração pelo colaborador.

Os solventes orgânicos não clorados tipos ésteres, álcoois, aldeídos e hidrocarbonetos leves devem ser descartados em containers apropriados tipo corta-fogo para líquidos inflamáveis. Podem ser destinados para reciclagem em empresas que executam este trabalho.

Descarte de resíduos diretamente na pia

O resíduo que for classificado como *não perigoso* (Classe II) pode ser descartado como resíduo comum (Grupo D). Entretanto, no caso de resíduos químicos (Grupo B), toda atenção e cuidado

devem ser tomados. É recomendável verificar a possibilidade de reciclagem ou recuperação. Procurar sempre usar o bom senso.

De acordo com UFSCar (2013), os resíduos dos compostos seguintes poderão ser considerados *resíduos comuns* (Grupo D).

Compostos orgânicos

Açúcares, amido, aminoácidos e sais de ocorrência natural, ácido cítrico e seus sais (Na, K, Mg, Ca, NH_4), ácido lático e seus sais (Na, K, Mg, Ca, NH_4).

Compostos inorgânicos

- Sulfatos, carbonatos: Na, K, Mg, Ca, Sr, NH_4
- Óxidos: B, Mg, Ca, Sr, Al, Si, Ti, Mn, Fe, Co, Cu, Zn
- Cloretos: Na, K, Mg
- Boratos: Na, K, Mg, Ca

ESTOCAGEM DE RESÍDUO FINAL

Procurarei aqui trazer uma sucinta informação sobre embalagens plásticas que poderão auxiliar na escolha dos frascos coletores para estoque dos resíduos de laboratórios.

Polietileno de baixa densidade (PEBD): resistente a maioria dos solventes, contudo em temperaturas acima de 60ºC pode reagir com alguns hidrocarbonetos aromáticos, óleos e gorduras, tornando-se necessário fazer um teste previamente com resíduos dessa natureza. O polietileno não é afetado por ácidos e álcalis, com a possível exceção do ácido nítrico concentrado quente. É uma boa barreira para a umidade, contudo permite a passagem de gases.

Polietileno de alta densidade (PEAD): a maioria dos solventes não reage com o polietileno, *que po*r sua vez também não é afetado por ácidos fortes e álcalis, com exceção do ácido nítrico concentrado quente.

Polipropileno (PP): Desenvolvimento mais recente da família do polietileno, apresenta propriedades similares ao mesmo, mas com menor densidade e maior resistência ao calor. Confere boa resistência a ácidos fortes e álcalis, não sendo afetado pela

maioria dos solventes a temperatura ambiente, exceto os hidrocarbonetos clorados. Resiste a óleos e graxas e não rompe sob qualquer condição. O PP tem razoável barreira a umidade e gases.

Poliestireno (PE): Tem limitada resistência a quente e à exposição ao tempo, é frágil e sujeito ao ataque de solventes orgânicos. Há uma leve tendência de encolher com o tempo e sob luz forte desbota. Quando o poliestireno está em contato com alguns solventes, ou seus gases, ele poderá trincar e tornar-se-á escuro. Estireno é resistente à ácidos e álcalis, exceto ácidos oxidantes fortes. Geralmente, não é afetado por álcoois, ésteres, cetona e hidrocarbonetos aromáticos e clorados.

Para a estocagem dos resíduos de laboratório recomenda-se que os frascos coletores sejam classificados de acordo com o Quadro 3.

Quadro 3: Classificação dos frascos coletores, segundo a natureza dos resíduos.

Identificação dos frascos coletores	Natureza dos compostos químicos coletados
A	Solventes orgânicos e soluções de substâncias orgânicas que não contenham Halogênios.
B	Solventes orgânicos halogenados, ou soluções com estes solventes.
C	Resíduos sólidos de produtos químicos orgânicos. Devem ser acondicionados em frascos plásticos.
D	Soluções salinas. Manter o pH entre 6 e 8.
E	Resíduos inorgânicos tóxicos. Sais de metais pesados e suas soluções.
F	Compostos combustíveis tóxicos.
G	Mercúrio e resíduos de seus sais inorgânicos.

Identificação dos frascos coletores	Natureza dos compostos químicos coletados
H	Resíduos de sais metálicos regeneráveis.
I	Sólidos inorgânicos.

Fonte: https://pt.scribd.com/document/52452450/Manual-de-Seguranca-Do-LGqA

Estocagem de resíduos biológicos

As soluções biológicas residuais sejam elas orgânicas, inorgânicas, ácidas e/ou alcalinas devem ser previamente neutralizadas e acondicionadas em recipientes de Polietileno de Alta Densidade (PEAD) compatíveis, com simbologia de risco biológico; os resíduos sólidos em sacos brancos leitosos, após serem descontaminados por calor úmido (uso de autoclave), devem ser acondicionados em área de descartes, de onde seguirão em coleta seletiva especial para o destino final.

Alguns cuidados devem ser tomados no tratamento prévio dos resíduos biológicos RDC nº 306 (BRASIL, 2004) - culturas e estoques de microrganismos resíduos de fabricação de produtos biológicos, exceto os hemoderivados; meios de cultura e instrumentais utilizados para transferência, inoculação ou mistura de culturas; resíduos de laboratórios de manipulação genética.

Estes resíduos não podem deixar a unidade geradora sem tratamento prévio.

- Devem ser inicialmente acondicionados de maneira compatível com o processo de tratamento a ser utilizado.
- Precisam ser submetidos a tratamento, utilizando-se processo físico ou outros processos que vierem a ser validados para a obtenção de redução ou eliminação da carga microbiana.

Após o tratamento, devem ser acondicionados da seguinte forma:

- Se não houver descaracterização física das estruturas, devem ser acondicionados em saco branco leitoso desenho e contornos pretos, que devem ser substituídos quando atingirem 2/3 de sua capacidade ou pelo menos 1 vez a cada 24 horas.
- Havendo descaracterização física das estruturas, podem ser acondicionados como resíduos do Grupo D.

Armazenamento de gases

Os cilindros de gases oferecem sérios riscos em caso de vazamento ou queda, exigindo, portanto, cuidados especiais. O transporte dos cilindros de gases deve ser feito em carrinhos apropriados. Durante o seu uso ou estocagem devem estar presos à parede por suporte com cinta e/ou uma corrente de aço, também é necessário que fique disposto em área externa ao laboratório, distante aproximadamente 30m para este fim, em atendimento a NR-32 (BRASIL, 2012).

A transferência do gás do cilindro até o ponto de destino deverá ser realizada por tubulações apropriadas, identificadas por cores padrão NR-26 (BRASIL, 2007).

Os cilindros que apresentarem defeitos em suas válvulas devem ser devolvidos ao fornecedor.

Para cilindros de gás hidrogênio e acetileno, as tubulações precisam ser de aço inox, devendo ser evitadas as de cobre, devido a risco de explosões. Recomenda-se que os referidos cilindros estejam armazenados a uma distância mínima de 8m, daqueles contendo gases oxidantes, tais como Oxigênio e Óxido Nitroso, ou através de barreiras vedadas e resistentes ao fogo, em atendimento a NR-32 (BRASIL, 2012).

Para gás oxigênio e óxido nitroso, as tubulações devem ser rigorosamente lavadas e secas internamente para ficarem isentas de graxas e óleos, evitando risco de explosões.

As tubulações para gás GLP não podem ocorrer em canaletas fechadas atrás das bancadas do laboratório. Devem sempre percorrer espaços ventilados, serem pintadas na cor amarela e atender a Norma NBR 13.932 (BRASIL, 1997).

Recomenda-se que os laboratórios de ensino possuam instalações e equipamentos de proteção contra incêndio, em atendimento a NR-23 (BRASIL, 2007).

Armazenamento de líquidos e sólidos

Deve-se obedecer alguns critérios para armazenamento de substâncias químicas, como a classificação de risco, subdividindo-os nos seguintes grupos: voláteis, tóxicos, corrosivos, inflamáveis, explosivos e peroxidáveis.

A classificação de risco de qualquer substância, acima apresentada, é realizada por meio de critérios técnicos, os quais estão definidos na legislação do transporte rodoviário de produtos perigosos. Lei Nº 10.233 (BRASIL, 2001).

No quadro 4, estão listadas as principais substâncias utilizadas em laboratórios químicos, segundo seus critérios de incompatibilidade.

Quadro 4: Relação de algumas substâncias agrupadas segundo critério de incompatibilidade química.

Compostos químicos	Substâncias incompatíveis
Acetileno	Cloro, bromo, flúor, cobre, prata e mercúrio.
Acetonitrila	Ácido sulfúrico, oxidantes fortes (Percloratos, nitratos), e redutores (Mg e Na metálico).
Ácido acético	Ácido nítrico concentrado, perclórico, crômico, peróxidos, permanganatos e nitratos.

▶

Compostos químicos	Substâncias incompatíveis
Ácido fosfórico	Bases fortes, anilinas, compostos nitro aromáticos, sulfatos, sulfeto de hidrogênio, ácido acético, éter etílico, líquidos e gases inflamáveis.
Ácido perclórico	Anidrido acético, álcoois, bismuto e suas ligas, papel e madeira, enxofre, solventes e combustíveis.
Ácido sulfúrico	Cloratos, Percloratos, Permanganatos de potássio, de lítio, de sódio, bases, picratos, nitratos, pós metálicos e solventes.
Anilina	Ácido nítrico e peróxido de hidrogênio.
Bromo	Benzeno, hidróxido de amônio, benzina de petróleo, hidrogênio, acetileno, etano, propano, butadienos e pós metálicos.
Carvão Ativo	Dicromatos, permanganatos, ácidos nítricos, sulfúricos e hipoclorito de cálcio.
Cianetos	Ácidos.
Cloratos e Percloratos	Sais de amônio, ácidos fortes, metais em pó, matérias orgânicas particuladas, enxofre, álcoois e combustíveis.
Cloreto de mercúrio II	Sulfitos, hidrazinas, aminas, ácidos fortes, bases fortes, fosfatos e carbonatos.
Cloro	Benzeno, hidróxido de amônio, benzina de petróleo, hidrogênio, acetileno, etano, propano, butadienos e pós metálicos.
Cobre metálico	Acetileno e peróxido de hidrogênio.
Dicromato de potássio	Alumínio, materiais orgânicos inflamáveis, acetona, hidrazina, enxofre, hidroxilamina.

Compostos químicos	Substâncias incompatíveis
Éter etílico	Ácidos nítricos e perclórico, peróxido de sódio, cloro e bromo.
Etileno glicol	Ácido perclórico, ácido crômico, permanganato de potássio, nitratos, bases fortes, peróxido de sódio.
Formaldeído	Peróxidos e oxidantes fortes e ácidos.
Fósforo	Enxofre, compostos oxigenados, cloratos, Percloratos, nitratos e permanganatos.
Hidrocarbonetos (Hexano, tolueno, GLP)	Ácido crômico, peróxidos, flúor, cloro, bromo, Percloratos e outros oxidantes fortes.
Hidróxido de amônio	Ácidos, oxidantes fortes, peróxidos, cloro e bromo.
Hidróxido de sódio	Ácidos, solventes clorados, anidrido maleico, acetaldeído.
Hidróxido de potássio	Cloreto de potássio, bromo, oxidantes fortes, sais de diazônio.
Iodo	Acetileno, hidróxido de amônio e hidrogênio.
Líquidos inflamáveis	Ácido nítrico, nitrato de amônio, óxido de cromo VI, peróxidos, flúor, cloro, bromo e hidrogênio.
Mercúrio	Acetileno, ácido fumárico e amônia
Metais Alcalinos	Água, halogênios, tetracloreto de carbono.
Nitrato de amônio	Ácidos, pós metálicos, líquidos inflamáveis, hipoclorito, perclorato de sódio, cloretos, Dicromato de potássio, enxofre e compostos orgânicos em pó.

Compostos químicos	Substâncias incompatíveis
Óxido de cromo VI	Ácido acético, glicerina. Benzina de petróleo, líquidos inflamáveis e naftaleno.
Peróxido de hidrogênio	Álcoois, anilina, cloreto de estanho, cobre, cromo, ferro, líquidos inflamáveis, sais metálicos, nitrometanos e metais em pó.
Peróxido de sódio	Ácido acético, anidrido acético, benzaldeído, etanol, metanol, etileno glicol, acetatos de metila e etila e furfural.
Permanganato de potássio	Glicerina, etileno glicol, ácido sulfúrico, solventes orgânicos e benzaldeído.
Tetracloreto de Carbono	Metais (Al, Be Mg, Na, K, Zn), hipoclorito de cálcio, dimetilformamida, álcool alílico, água (forma gases tóxicos).

Fonte: http://www.iqm.unicamp.br/sites/default/files/guiamontagemdelaboratorios.pdf

Os produtos químicos precisam estar devidamente separados por compatibilidade e o almoxarifado, precisa obedecer também alguns critérios relativos às normas de segurança.

Considera-se que são pré-requisitos indispensáveis para assegurar o mínimo de risco e perigo para os colaboradores e o ambiente do laboratório. Além disso, algumas outras regras precisam ser observadas:

1. Evitar o uso de escadas e saguões para estocagem de materiais ou equipamentos de laboratório. Isto se aplica também a equipamentos de uso pessoal (por exemplo, bicicletas, rádios, etc.);
2. O local de armazenamento de produtos químicos deve ser amplo, bem ventilado, protegido de extremos de temperatura e fontes de ignição (ver figura 52).

Figura 52: Condição não conforme de armazenamento de substâncias químicas próxima a fonte de ignição.

3. Não sendo permitido fumar no local onde as substâncias químicas estão estocadas.
4. Inspecionar o estoque com frequência, segregando as substâncias vencidas e em deterioração.
5. Subdividir o estoque em classes para reduzir os riscos (ácidos c/ ácidos, bases c/ bases e etc.). Manter uma distância de 0,5 – 1 m entre as classes.
6. Separar ácidos e bases em armários, ou prateleiras distintas.
7. Separar substâncias sólidas das líquidas.
8. Manter os Produtos Químicos Voláteis (principalmente solventes) em armários com ventilação positiva e a prova de explosão.
9. Reagentes incompatíveis com água devem ficar estocados longe das tubulações de água.
10. Deve-se reforçar os cuidados com produtos corrosivos, explosivos e peroxidáveis.
11. Os corrosivos, ácidos e bases devem ficar em prateleiras próximas do chão, se possível com exaustão. A mesma conduta

deve ser adotada para inflamáveis e explosivos; os quais devem guardar distância das substâncias oxidantes.

Peroxidáveis são os compostos que na presença de oxigênio podem formar peróxidos. São exemplo de peroxidáveis: éteres etílicos e isopropílico, tetrahidrofurano, dioxano, ciclohexano, estireno, etc. Deve-se adotar as seguintes precauções para compostos peroxidáveis:

- Manter em local escuro e fresco.
- Seguir as orientações contidas no rótulo.
- Ao abrir o frasco usar todo o conteúdo, se possível.
- Seguir rigorosamente o prazo de validade.

A área para armazenamento de reagentes químicos deve dispor de instalações elétricas à prova de explosões e sistema de refrigeração com exaustão para voláteis. Devem existir saídas de emergência identificadas com iluminação e portas à prova de fogo, abrindo de dentro para fora, com duas saídas opostas em cada setor de estocagem.

Onde há presença de voláteis deve existir um chuveiro de emergência e lava-olhos, em local de fácil acesso e monitorados regularmente, quanto a seu funcionamento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste momento em que finalizamos este livro, espero ter conseguido tornar alguns conceitos e procedimentos de fácil entendimento, sobretudo para todos aqueles que trabalham em ambiente de laboratório de ensaios, atendendo com clareza e transparência grande parte dos seus questionamentos, sejam esses relativos às condutas e procedimentos técnicos dentro do ambiente do laboratório físico-químico e microbiológico, bem como àqueles relacionados a gestão ambiental e a biossegurança.

Espero ter conseguido implantar o sentimento de respeito e de ética para o tratamento com assuntos ligados diretamente ao meio ambiente. E, dentro deste pensamento, aspiro um pouco mais além, no sentido de ter trazido uma reflexão sobre a grande responsabilidade do profissional das áreas de Ciências Exatas e da Natureza, Tecnologia e Geociências, Ciências Agrárias, Biotecnologia e afins sobre a importante repercussão de seus atos para si, para o próximo e para todo planeta.

LITERATURA RECOMENDADA

ALMEIDA, Teresa. et al. *Guia de seleção de aparelhos de proteção respiratória filtrantes.* Lisboa: ACT, 2016; 24 p.; il. Color.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). ABNT *NBR ISO/IEC 17.025*: requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Norma ABNT *NBR-7.500*. Símbolos de Riscos. Rio de Janeiro, ABNT, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Sacos Plásticos para Acondicionamento de Lixo / Classificação e Sacos Plásticos para Coleta de Lixo / Especificação. Normas ABNT *NBR-9.190*, de 12/1993 e *NBR-9.191*, de 07/2000.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Resíduos Sólidos / Classificação. Norma ABNT *NBR-10.004*, Rio de Janeiro. ABNT, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Resíduos de Serviços de Saúde - Terminologia e Classificação; Manuseio de Resíduos de Serviços de Saúde / Procedimento e Coleta

de Resíduos de Serviços de Saúde / Procedimento. Normas ABNT *NBR-12.807* e *NBR-12.808*, de 01/1993; *NBR-12.809*, de 02/1993 e *NBR-12.810*, de 01/1993.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Coletor--transportador rodoviário de resíduos de serviços de saúde. NORMAS ABNT *NBR - 14.652* de abril de 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Dispõe sobre Armazenamentos de Resíduos Sólidos Perigosos - Procedimentos. Norma ABNT *NBR-12.235* de 1988.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Dispõe sobre Segurança e Higiene em Laboratórios de Microbiologia. Normas ABNT *NBR 10.213* de março de 1988.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Dispõe sobre Lavagem, preparo e esterilização de materiais em Laboratório de Microbiologia. Normas ABNT *NBR 1.295* de maio de 1990.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Dispõe sobre Planejamento e Instalação de Laboratórios para Análises e Controle de Águas. Normas ABNT *NBR 13.035* de outubro de 1993.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Dispõe de Emprego de Cores para Identificações para Tubulações. Normas ABNT *NBR 6493* de 30.11.1994.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Dispõe sobre Instalações Internas de Gás Liquefeito de Petróleo (GLP) – Projeto e execução: Normas ABNT *NBR 13.932*. Rio de janeiro, 1997.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (Brasil). Dispõe sobre Segurança, Saúde e Meio Ambiente. ABNT *NBR 14.725-3*: 2009/1:2010.

BOAS, H.V.; COSTA, C.M da; BESERRA, L.J.; CORTEZ, M.A.S.; ESPARIZ, M.; CORTEZ, N.M.S.; BENEDICTO, N.L.S.; CAMPOS, W.A. *Guia de Boas Práticas e Segurança em Laboratório.* 1ª Edição. Grupo Pão de Açúcar. São Paulo, 2010.

BRASIL. Resolução *RDC nº 31* 04 de julho de 2011. Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Dispõe sobre a indicação de uso dos produtos saneantes na categoria "Esterilizante", para aplicação sob a forma de imersão, a indicação de uso de produtos saneantes atualmente categorizados como "Desinfetante Hospitalar para Artigos Semicríticos" e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 07 de julho de 2005 Seção I.

Brasil. Resolução *RDC nº 35* 16 de agosto de 2010. Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para produtos com ação antimicrobiana utilizado sem artigos críticos e semicríticos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 de agosto de 2010, Seção I, p 44 - 46.

BRASIL. Resolução *RDC nº 50*, de 21 de fevereiro de 2002. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, que dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. , no uso da atribuição que lhe confere o art. 11 inciso IV do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, em reunião realizada em 20 de fevereiro de 2002.

BRASIL. Resolução *RDC n° 306*, de 07 de dezembro de 2004. Agencia nacional de vigilância sanitária – ANVISA. Ministério da Saúde. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Brasília, 2004.

BRASIL. *Lei Federal Nº 10.233* de 5 de junho de 2001, no art. 22, inciso VII, "constitui esfera de atuação da AGÊNCIA NACIONAL DE TRANSPORTES TERRESTRES - ANTT estabelece que o transporte de *produtos perigosos* em rodovias e ferrovias";.

BRASIL. *Lei Federal Nº 12.305*, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. (Lei de Crimes Ambientais).

BRASIL. Portaria nº 15 de 23 de agosto de 1988a. Agencia nacional de vigilância sanitária - ANVISA. Ministério da Saúde. Determina o registro de produtos saneantes domissanitários com finalidade antimicrobiana, de acordo com as normas regulamentares. DOU - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 05 de setembro de 1988a.

BRASIL. Portaria nº 229, de 24 de maio de 2011 Publicada no DOU de 27/05/2011. Alterar a Norma Regulamentadora *NR n.º 26* (Sinalização de Segurança), aprovada pela Portaria MTb n.º 3.214, de 8 de junho de 1978.

BRASIL. Portaria nº 3.214 de 08 de junho de 1978. *NR-5*. Comissão Interna de Prevenção de Acidentes. In: SEGURANÇA E MEDICINA DO TRABALHO. 29. ed. São Paulo: Atlas, 1995. 489 p.

BRASIL. Manuais de Legislação Atlas (Ed.). Segurança e Medicina do Trabalho: Equipamento de Proteção Individual. *NR-6*, 60. Ed. São Paulo. Editora Atlas S.A., 2007. 692p.

BRASIL. Manuais de Legislação Atlas (Ed.). Segurança e Medicina do Trabalho: Atividades e operações insalubres. *NR-15*, 60. Ed. São Paulo. Editora Atlas S.A., 2007. 692p.

BRASIL. Manuais de Legislação Atlas (Ed.). Segurança e Medicina do Trabalho: Proteção Contra Incêndios. *NR-23*, 60. Ed. São Paulo. Editora Atlas S.A., 2007. 692p.

BRASIL. Manuais de Legislação Atlas (Ed.). Segurança e Medicina do Trabalho: Sinalização de Segurança. *NR-26*, 60. Ed. São Paulo. Editora Atlas S.A., 2007. 692p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. Classificação de risco dos agentes biológicos/Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006. 36 p.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora *NR- 32*. Brasília: Ministério do Trabalho e Emprego, 2012. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/resources/crh/ggp/cartilhas/normas_regulamentares.pdf. Acesso em 29/10/2017.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. (Brasil). Estabelece definições, classificação e procedimentos mínimos para o gerenciamento de resíduos sólidos oriundos de serviços de saúde, portos e aeroportos, terminais ferroviários e rodoviários. Resolução *CONAMA Nº 005/93*, de 05/08/1993.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. (Brasil). Dispõe sobre procedimentos e critérios para o funcionamento de sistemas de tratamento térmico de resíduos. Resolução *CONAMA Nº 316*, DE 29 DE OUTUBRO DE 2002.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. (Brasil). Estabelece limites máximos para veículos automotores. Resolução *CONAMA Nº 252*, de 07/01/1999.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. (Brasil). Dispõe sobre a revisão e complementação dos procedimentos e critérios utilizados para o licenciamento ambiental. RESOLUÇÃO *CONAMA nº 237*, de 19 de dezembro de 1997. Publicada no DOU no 247, de 22 de dezembro de 1997, Seção 1, páginas 30841-30843.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. (Brasil). Estabelece código de cores para os diferentes tipos de resíduos na coleta seletiva. Resolução *CONAMA Nº 275/01*, de 25/04/2000.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. (Brasil). Dispõe sobre o Gerenciamento de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde. Resolução *CONAMA Nº 283/01*, de 12/07/2001.

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. (Brasil). *RESOLUÇÃO Nº 001, DE 1988*. No uso da competência que lhe é outorgada pelo Decreto nº 93.933 de 14 de janeiro de 1987, resolve aprovar normas de pesquisa em saúde.

CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA IV REGIÃO. Comissão de Ensino Técnico. *Guia de Laboratório para o ensino da Química: Instalação, montagem e operação*. São Paulo, agosto, 2007. Disponível em: http://www.iqm.unicamp.br/sites/default/files/guiamontagemdelaboratorios.pdf Acesso em: 28/10/2017.

FIOROTTO, Nilton Roberto. *Técnicas Experimentais em Química*. 1 ed. São Paulo: Érica, 2014.

HIRATA, Mário Hiroyuki; MANCINI FILHO, Jorge. *Manual de Biossegurança*. Editora Manole, Barueri, 2002.

LABORATÓRIO DE RESÍDUOS QUÍMICOS – LRQ - USP – São Carlos. *Resultados da Experiência Pioneira em Gestão e Gerenciamento de Resíduos Químicos em um Campus Universitário*. Quim. Nova, Vol. 26, No. 2, 291-295, 2003.

LIMA E SILVA, Francelina. H. A. Barreiras de contenção. In: ODA, Leila Macedo; ÁVILA, Suzana (Org.) *et al. Biossegurança em laboratório de saúde pública*. Rio de Janeiro: Fiocruz. 1998. 304 p.

MACHADO, A. M. R. *Normas de Procedimentos para Segregação, identificação, acondicionamento e coleta de resíduos químicos.*

Universidade Federal de São Carlos. Coordenadoria especial do meio Ambiente – Unidade de Gestão de Resíduos, 2005. 41p.

MENDONÇA, Regina Célia Santos. *et al. Higienização da Agroindústria de Alimentos.* LK editora. Brasília (DF), 2010. 92p.il.

NIOSH Guide to the Selection and Use of Particulate Respirators Certified under 42 CFR part 84 – 1996.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). *Manual de Segurança Biológica em Laboratórios*. 3ª edição. Genebra, 2004.

PEDOTTA, Alexandre Homsi; FOGLIATTOB, Flávio Sanson. *Estudos de Repetitividade e Reprodutividade para Dados Funcionais*. Produção. UFRGS. Porto Alegre (RS), 2011.

Riscos Biológicos Guia Técnico. *Os riscos biológicos no âmbito da Norma Regulamentadora NR 32.* Brasília 2008. 66p.

SILVA, Raquel Duarte Nunes da. *et al. Manual de Biossegurança*. Instituto Otávio Magalhães. Fundação Ezequiel Dias. FUNED. Belo Horizonte – MG, 2010. 70p.

TEIXEIRA, Pedro. *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Organizado por Pedro Teixeira, Silvio Valle. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. 3ª Reimpressão. 362p.

UFSCar (2013) - Universidade Federal de São Carlos. *Normas De Procedimentos Para Segregação, Identificação, Acondicionamento E Coleta De Resíduos Químicos.* Disponível em: http://analiticaqmcresiduos.paginas.ufsc.br/files/2013/10/UFSCar.pdf. Acesso em: 28/10/2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (WHO) *Laboratory Biosafety Manual.* – 3rd ed. Geneva, 2004.

Título Qualidade, biossegurança e gestão ambiental no laboratório: uma experiência técnica
Autora Graciliane Nobre da Cruz Ximenes

Revisão textual Profa. Dra Neila Melo dos Santos Cortez
Profa. Dra. Jenyffer Medeiros Campos Guerra
Capa e Projeto Gráfico Adele Pereira
Imagem de Capa Hans Reniers
Fotografias Yasmim de Gusmão Celentano Lino

Este livro tem como objetivo principal apresentar princípios e normas relevantes do Sistema de Gestão da Qualidade, Biossegurança e Gestão Ambiental, bem como orientar a implantação de Boas Práticas de Laboratório (BPl). Esse conhecimento, quando bem aplicado nas rotinas de trabalho, seguramente poderá contribuir com o sucesso do Sistema de Gestão da Qualidade (sgQ) e com a Gestão Ambiental (ga), evoluindo para Acreditação do laboratório. A obra pode ser seguida como instrumento de auxílio e orientação por todos aqueles que desenvolvem atividades em laboratórios de ensaios físico-químicos e microbiológicos.
O seu entendimento poderá contribuir com a segurança no trabalho, com a autoconfiança do analista e com o melhor desempenho nos processos, impactando diretamente na qualidade dos resultados.

ISBN 978-85-415-1106-3
9 788541 511063