



NORMA TÉCNICA

L5.009

Dez/1986
23 PÁGINAS

Segurança e higiene do trabalho em laboratórios de microbiologia ambiental: procedimento

Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
Avenida Professor Frederico Hermann Jr., 345
Alto de Pinheiros CEP 05459-900 São Paulo SP
Tel.: (11) 3133 3000 Fax.: (11) 3133 3402

[http: // www . cetesb . sp . gov . br](http://www.cetesb.sp.gov.br)

CETESB	SEGURANÇA E HIGIENE DO TRABALHO EM LABORATÓRIOS DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL Procedimento	L5.009 DEZ/86
--------	---	------------------

SUMÁRIO	Pág.
Introdução.....	1
1 Objetivo.....	2
2 Normas complementares.....	2
3 Definições.....	2
4 Condições gerais.....	3
5 Condições específicas.....	4
Anexo A - Regras especiais em laboratório de virologia.....	17
Anexo B - Soluções desinfetantes.....	19
Anexo C - Referências bibliográficas.....	23

INTRODUÇÃO

A prevenção de acidentes constitui um item de fundamental importância em todas as atividades profissionais, dada a magnitude de consequências que os mesmos podem gerar. Esses acidentes são nocivos sob todos os aspectos considerados, sofrendo consequências as pessoas, que se incapacitam total ou parcialmente para o trabalho; as empresas, pela perda de mão de obra e materiais; a sociedade, pelo aumento do número de inválidos e dependentes da previdência social e, enfim, a Nação, com todas as perdas danosas associadas a esses acidentes. Cada acidente prevenido é um benefício amplo e profundo e, nesse sentido, programas de prevenção de acidentes devem ser considerados como necessidade básica em todas as atividades profissionais. Dentro desse contexto, é de fundamental importância, em laboratórios de microbiologia, a implantação de um programa amplo de segurança e higiene do trabalho, no qual devem ser considerados desde os aspectos relativos às instalações, até detalhes técnicos específicos às determinações microbiológicas. A importância desse programa deve ser tal que o mesmo deve ser considerado como um componente básico do próprio programa de controle de qualidade analítica do laboratório.

Em relação aos acidentes que podem ocorrer em laboratórios de microbiologia, os mesmos podem ser incluídos em três categorias: aqueles que são comuns a outras atividades não laboratoriais (quedas, choques elétricos e/ou problemas ergonômicos), aqueles comuns a outros

laboratórios (queimaduras, cortes com vidraria, etc) e aqueles específicos a laboratórios de microbiologia, particularmente os riscos biológicos, muitas vezes causadores de infecções. É importante salientar, no entanto, que pessoas que entendem a natureza e a característica de um risco de infecção podem evitá-lo de um modo muito mais eficaz do que uma pessoa que os ignore, pois é o microrganismo causador de doenças inesperado que constitui o real risco à saúde e, nesse sentido, não é incomum o relato de dados que evidenciam que a frequência de infecção fora de laboratórios microbiológicos pode ser superior à resultante do trabalho dentro do mesmo.

1 OBJETIVO

Esta norma prescreve os cuidados e as regras a serem observadas no trabalho em laboratórios de microbiologia ambiental, visando melhorar as condições de higiene e segurança.

2 NORMAS COMPLEMENTARES

Na aplicação desta Norma é necessário consultar:

- a) M1.001 - Lavagem, preparo e esterilização de materiais em laboratórios de microbiologia;
- b) M1.002 - Lavagem, preparo e esterilização de material para cultura celular.

3 DEFINIÇÕES

Para efeitos desta Norma são adotadas as definições 3.1 a 3.5.

3.1 Segurança do trabalho

Conjunto de medidas técnicas, administrativas, educacionais, médicas e psicológicas empregadas para prevenir acidentes, quer eliminando condições inseguras do ambiente, quer instruindo ou convencendo as pessoas na implantação de práticas preventivas.

3.2 Acidentes de trabalho

Sob o aspecto técnico, são todas as ocorrências não programadas, estranhas ao andamento normal do trabalho, das quais poderão resultar danos físicos e/ou funcionais, além de danos materiais e econômicos à empresa.

3.3 Higiene do trabalho

Conjunto de medidas técnicas, aplicadas no reconhecimento e controle dos riscos à saúde, que visa a prevenção de doenças ocupacionais provocadas por agentes químicos, físicos e biológicos do ambiente de trabalho.

3.4 Equipamentos de segurança

São equipamentos que têm por finalidade preservar a incolumidade das pessoas, amenizando ou eliminando os riscos associados ao exercício de suas atividades profissionais.

3.5 Aerossóis

São dispersões coloidais de gotículas de líquido ou partículas sólidas em um gás (ar), que têm a tendência característica de permanecer suspensas durante longos períodos na atmosfera.

4 CONDIÇÕES GERAIS

4.1 Implantação de um programa de segurança e higiene do trabalho em laboratórios de microbiologia

Em linhas gerais, os passos básicos para elaboração e implantação desse programa incluem:

4.1.1 Levantamento dos riscos

Partindo da premissa de que o programa a ser implantado deve ter uma amplitude tal que não se restrinja apenas aos problemas de infecção que podem estar associados a laboratórios de microbiologia, mas considere todos os aspectos técnicos relativos às instalações e equipamentos e até as características psicológicas dos membros integrantes da equipe, o primeiro passo para a elaboração de um programa de segurança e higiene requer o levantamento de todos os possíveis riscos associados ao ambiente de trabalho. Desse levantamento devem participar todos os componentes da equipe de trabalho, sob coordenação da chefia e supervisores.

4.1.2 Estabelecimento de regras de segurança

A partir do levantamento dos riscos, cabe à chefia e supervisores, em complementação às regras básicas estabelecidas pela própria empresa, o estabelecimento de regras de segurança específicas ao laboratório de microbiologia, que beneficiem não apenas o quadro operacional mas também a terceiros que possam ter acesso à área.

4.1.3 Treinamento

A partir da elaboração do programa específico de segurança, os funcionários devem ter um treinamento adequado, no qual deve estar incluído também um curso de primeiros socorros, informações básicas sobre as normas gerais e atribuições da empresa e dos empregados, e conscientização quanto às causas de acidente de trabalho.

4.1.3.1 Normas gerais e atribuições da empresa (previstas na CLT)

- a) instruir seus empregados sobre as precauções a tomar, a fim de evitar acidentes do trabalho;

- b) colaborar com as autoridades na adoção de medidas que visem a proteção dos empregados, facilitando a respectiva fiscalização.

4.1.3.2 Normas gerais e atribuições dos empregados (previstas na CLT)

- a) observar as regras de segurança que forem estabelecidas para cada ocupação.
- b) usar obrigatoriamente os equipamentos de proteção individual e os demais meios destinados à sua segurança.

4.1.3.3 Causas dos acidentes de trabalho

Podem ocorrer devido a atos inseguros ou a condições inseguras.

a) Ato inseguro

É a maneira como as pessoas se expõem a riscos de acidentes. Quanto às causas frequentes de atos inseguros, podemos citar:

- desconhecimento dos riscos de acidentes;
- treinamento inadequado dos trabalhadores;
- falta de interesse ou de aptidão pelo trabalho;
- excesso de confiança em si mesmo;
- atitudes impróprias, tais como violência, revolta, etc;
- incapacidade física para o trabalho; e
- fadiga.

b) Condições inseguras

As condições inseguras dos locais de trabalho são aquelas que põem em risco a integridade física e/ou a saúde dos trabalhadores ou a própria segurança das instalações.

4.1.4 Relato de acidentes

Na elaboração do programa de segurança, deve ser prevista também a forma adequada de relato e investigação de acidentes, com consequente registro de dados e tomada de medidas que se façam necessárias para a prevenção dos mesmos.

5 CONDIÇÕES ESPECÍFICAS

5.1 Prevenção de acidentes

5.1.1 Medidas e regras gerais de segurança de trabalho

5.1.1.1 Improvisações são o primeiro passo em direção a um acidente. Deve-se usar material adequado.

5.1.1.2 Em qualquer momento deve-se estar consciente do que se está fazendo.

5.1.1.3 Conservar passagens e corredores sempre desobstruídos.

5.1.1.4 Não se deve brincar durante o serviço, pois parte da atenção ao serviço é dissipada pelas brincadeiras.

5.1.1.5 Sempre alertar o novo companheiro de trabalho quanto aos riscos do local de trabalho.

5.1.1.6 Não se deve erguer pesos excessivos. Quando necessário e possível, deve-se erguer corretamente, usando as pernas como apoio e nunca as costas.

5.1.1.7 As gavetas e portas de mesas, arquivos e armários não devem ser deixadas abertas.

5.1.1.8 Não carregar volumes que possam obstruir a visão.

5.1.1.9 Usar sempre óculos, luvas, máscaras, aventais e botas apropriadas às tarefas que apresentem riscos.

5.1.1.10 Não fumar ou acender chamas em lugares onde não seja permitido.

5.1.1.11 Não arremessar projéteis nos colegas de trabalho.

5.1.1.12 Quaisquer anomalias ou riscos observados durante o trabalho devem ser comunicados ao encarregado ou a uma pessoa capaz de tomar as providências devidas.

5.1.1.13 Não ficar junto ou sob cargas suspensas.

5.1.1.14 Não usar máquinas ou equipamentos sem habilitação ou permissão.

5.1.1.15 Não imprimir sobrecarga em máquinas e equipamentos.

5.1.1.16 Não lubrificar, ajustar ou limpar máquinas em movimento.

5.1.1.17 A iluminação e ventilação do local de trabalho devem ser adequadas.

5.1.2 Medidas e regras gerais de segurança em laboratórios

Entre os acidentes de trabalho em laboratórios em geral, incluem-se como mais comuns as queimaduras causadas pelo fogo e por agentes químicos e os cortes com materiais de vidro. A ocorrência desses acidentes é comum, mas pode ser evitada ou minimizada adotando-se medidas básicas de prevenção de acidentes em laboratórios.

5.1.2.1 Não trabalhar com vidraria quebrada; vidraria com qualquer rachadura deve ser descartada.

5.1.2.2 Quando for ferver algum líquido, nunca encher o recipiente até às bordas. Deixar espaço suficiente, para que durante a fervura não haja respingos, nem derrame e, ainda, quando necessário use recipiente que possua alças.

5.1.2.3 As mechas de algodão, embebidas em álcool, não devem estar próximas a chamas.

5.1.2.4 Tomar cuidado em não dobrar as mangueiras do bico de Bunsen e do maçarico. Apagá-los quando não estiverem sendo usados.

5.1.2.5 Não deixar frascos de álcool ou outro combustível sobre a bancada.

5.1.2.6 Ao entrar em câmaras de radiações, como ultra-violeta ou infra-vermelho, certificar-se de que as fontes de energia radiante estejam desligadas.

5.1.2.7 Quando se for testar um produto químico por odor, este não deve ser colocado diretamente sob o nariz.

5.1.2.8 Nunca dirigir a abertura de tubos de ensaio ou frascos que contenham reagentes ou que estejam em fervura, contra si ou outrem.

5.1.2.9 Nunca deixar sem atenção qualquer operação em que ocorra aquecimento ou reação violenta.

5.1.2.10 Tomar cuidado no transporte de materiais ferventes, corrosivos e inflamáveis. Andar com cautela, observar se as condições do recipiente estão de acordo, usar o material de segurança individual necessário.

5.1.3 Medidas e regras de segurança em laboratórios de microbiologia

5.1.3.1 Acidentes em laboratórios de microbiologia

O acidente típico de laboratório de microbiologia é a infecção por microrganismos. Estes acidentes podem ser especialmente graves pela frequência com que se pesquisam microrganismos patogênicos. Estão sujeitos a estas infecções desde o pesquisador, até o encarregado da lavagem de aventais de trabalho e limpeza dos locais de trabalho.

As infecções por microrganismos em laboratórios de microbiologia podem ocorrer através de:

- a) da pele
Projeção de culturas microbianas sobre a pele escoriada; picadas de agulhas contaminadas; mordida de animais inoculados, etc.
- b) das vias digestivas e mucosa bucal
Ingestão de alimentos e bebidas durante o trabalho; insuficiente desinfecção das mãos antes de comer e fumar; maquiagem durante o trabalho.
- c) das vias respiratórias e mucosa nasal
Aspiração de aerossóis contaminados, pó produzido pela limpeza, projeção de resíduos de cultura, etc.
- d) dos olhos e ouvidos
Projeção de culturas microbianas; insuficiente desinfecção das mãos, etc.

5.1.3.2 Medidas e regras de prevenção de acidentes em laboratórios de microbiologia

Cada laboratório trabalha em condições diferentes e os riscos de infecção a que estão expostos os empregados variam segundo a organização da instituição, sua equipe e seus métodos de trabalho, assim como as operações que ali se efetuam. Não obstante, algumas medidas gerais devem ser aplicadas em laboratórios de microbiologia para prevenir os riscos de infecção do pessoal.

- a) Formação do pessoal
Todos os empregados, inclusive o pessoal auxiliar, devem ter conhecimentos básicos em matéria de higiene, epidemiologia e desinfecção. Cada um deve ser informado dos métodos, procedimento e comportamento pessoal para prevenir qualquer infecção ou a eventual propagação de uma epidemia fora do estabelecimento.
- b) Exames médicos periódicos
Antes de ser admitido no trabalho de laboratório, cada empregado deve sofrer um exame médico para determinar se tem boa capacidade física e resistência suficiente para trabalho com agentes infecciosos ou se apresenta alguma contra-indicação às vacinas requeridas. Os exames devem ser repetidos e os prazos fixados, segundo a natureza dos riscos.
- c) Imunização do pessoal
Cada empregado deve sofrer as vacinações prescritas pela lei; além disso, deve ser imunizado contra as enferm

midades a que pode estar exposto durante o trabalho. As vacinações devem continuar nos prazos apropriados. Todavia, não existe uma imunização ativa e eficaz contra algumas enfermidades (hepatite, leptospirose, desintéria); também é limitada a proteção assegurada pelas vacinas. Isto significa que as pessoas devidamente vacinadas devem também adotar todas as precauções para prevenir um contágio.

d) Acesso a áreas restritas

Áreas de alto risco, como por exemplo laboratórios de tuberculose, devem ser marcadas com símbolos adequados de perigo e o acesso a elas só deve ser permitido ao pessoal responsável pelo trabalho, que deverá estar devidamente vacinado e instruído sobre as precauções a serem tomadas, para evitar o risco de contaminação. Não deve ser permitida a entrada de visitas casuais e crianças antes de terem sido dadas as devidas instruções.

5.1.3.3 Medidas específicas para segurança em laboratórios de microbiologia ambiental

a) Conduta e vestimenta para os laboratoristas

- guardar casacos, blusas, jaquetas e outros itens de vestimenta pessoal em compartimento fora do laboratório de microbiologia. Nunca misturá-los com as roupas utilizadas no laboratório;
- usar diariamente aventais não inflamáveis no laboratório. Se os mesmos se tornarem contaminados, autoclavá-los a 121°C durante 30 minutos, antes da lavagem. As vestimentas de laboratório não devem ser usadas fora do local de trabalho;
- Usar óculos de segurança para proteger os olhos de radiações ultra-violetas (U.V.) e nas demais tarefas que apresentem riscos;
- lavar sempre as mãos cuidadosamente após as atividades no laboratório, com sabonete germicida;
- utilizar pinças ou luvas de borracha quando houver perigo significativo de contaminação, tal como durante a manipulação de materiais que possam estar contaminados;
- não tocar as faces, lambar etiquetas ou colocar lápis e outros materiais na boca;
- não fumar, comer, beber ou mascar chiclete no laboratório;

- não guardar alimentos ou bebidas no refrigerador do laboratório;
- não preparar café ou chá ou qualquer outro alimento na área do laboratório;
- evitar conversas desnecessárias, como também reduzi-las ao mínimo absoluto durante o período de trabalho, visando prevenir não só a contaminação do técnico, como também da própria amostra que está sendo analisada, o que pode determinar a perda dos resultados analíticos;
- guardar materiais de leitura, tais como livros, cadernos, anotações, materiais e equipamentos que não estão sendo utilizados, fora da área do laboratório;
- limitar o tráfego através das áreas de laboratório;
- tratar todas as culturas de microrganismos e amostras como sendo potencialmente patogênicas. A condição de risco é maior à medida em que se trabalha com culturas de microrganismos, visto que as mesmas se reproduzem rapidamente.

b) Equipamentos de laboratório

- não pipetar águas poluídas, esgotos ou líquidos tóxicos com a boca; para essas operações, utilizar sempre peras de sucção ou outro equipamento mecânico;
- para análises de águas potáveis, utilizar pipetas em cujo bocal tenham sido colocados tampões de algodão não absorventes. Nunca utilizar pipetas com os tampões úmidos;
- utilizar bicos de Bunsen ou incineradores elétricos providos de anteparo, para a flambagem de alças de inoculação. Quando não houver disponibilidade destes tipos de equipamento, a flambagem deve ser efetuada de maneira adequada, colocando-se a alça de inoculação a ser flambada em posição posterior à chama (e não na frente da mesma), para evitar a dispersão de aerossóis;
- executar todo o trabalho com culturas puras em capelas de fluxo laminar para proteção dos operadores e materiais;
- nunca utilizar liquidificadores comuns sem tampa para a mistura de materiais que contenham ou possam conter agentes infecciosos. Existem liquidificadores especiais cujas tampas se adaptam ao copo através de pre

silhas. Este tipo de equipamento é mais seguro, visto que os materiais podem ser misturados sem disseminação de aerossóis contaminados;

- quando linhas de vácuo são utilizadas, intercalar adequadamente válvulas ou filtros para assegurar que materiais contaminados não entrem no sistema;
- periodicamente, limpar "freezers" e refrigeradores para remover tubos, placas, ampolas ou outro tipo de material que porventura tenham se quebrado e que contenham materiais contaminados. Se estes materiais contiverem culturas patogênicas, utilizar luvas de borracha durante a limpeza. Utilizar sempre máscaras de proteção respiratória se actinomicetos, fungos ou outros patógenos facilmente dissemináveis estiverem envolvidos;
- autoclaves: devem receber inspeção periódica e manutenção preventiva, efetuadas pelo próprio fabricante. As instruções de operação e manuseio de uma autoclave devem ser colocadas próximas a ela. Antes de se iniciar a autoclavação, deve ser fechada a tampa, forte e uniformemente, e todo o ar deverá ser retirado, pois, havendo mistura de ar e vapor dentro da câmara da autoclave, o ar não permitirá que todo o calor do vapor entre em contato com material a ser esterilizado e poderá também falsear a leitura da temperatura e pressão, no termômetro e manômetro respectivamente. Observar continuamente as marcações do manômetro e do termômetro. Para abrir a tampa da câmara da autoclave, deve-se observar que todo o vapor tenha sido evacuado e o manômetro marcar zero; para se retirar o material recém-autoclavado, ainda quente, devem ser utilizadas luvas de amianto de cano longo;
- caldeira: devem ser feitas revisões periódicas quinzenais. O registro de abastecimento de água da caldeira não poderá ser aberto caso haja pressão dentro da mesma. Em caso de emergência, quando a válvula de segurança não funcionar, a chave geral deverá ser desligada e, a seguir, o registro de escape de vapor deverá ser aberto lentamente. Testes quinzenais deverão ser feitos para se verificar o funcionamento da válvula;
- estufa: nunca manusear o material a ser esterilizado, ou já estéril sem usar luvas próprias para altas tem

peraturas. Em caso de emergência, desligar a chave geral. A temperatura deve ser observada constantemente. Só abrir a estufa quando fria, pois o contato de ar frio com a vidraria muito aquecida irá provocar quebras, e estilhaços de vidro poderão atingir o operador;

- destilador: antes de se desligar o aparelho, deve-se certificar que o nível de água esteja superior ao "boiler"; caso contrário, corre-se o risco de queimar as resistências. Não esgotar o "boiler" enquanto as resistências estiverem incandescentes. O fluxo de água que alimenta o destilador não deve ser interrompido; em caso de emergência, a chave geral deve ser desligada;
- máquinas dosadoras de líquidos: a lubrificação é necessária mensalmente e a limpeza, semanalmente. Não lubrificá-las quando em funcionamento;
- câmara de fluxo laminar horizontal: deve estar em lugar livre de poeira. A limpeza e desinfecção tanto da bancada como do piso devem ser feitas sempre que se for usar a câmara; após o uso do aparelho, este deve ser desligado;
- chaves elétricas: todos os funcionários deverão ter conhecimento da localização das chaves gerais. Todas as tomadas e os aparelhos elétricos deverão ser revisitos a cada 6 meses;
- centrífuga: examinar os tubos de cada centrifugação para detectar as trincas. Desinfetar e limpar regularmente as coroas e caçapas. Remover o decantado somente com a ajuda de uma pipeta. Verificar regularmente a vedação da tampa da centrífuga e nunca abri-la antes da parada total;
- equipamentos elétricos: devem ser operados com as mãos secas e devem estar sempre ligados ao fio terra. Nunca utilizar equipamentos elétricos próximos a solventes inflamáveis.

c) desinfecção e esterilização

- a superfície das bancadas de trabalho devem ser desinfetadas antes e após o trabalho. Frascos contendo desinfetantes, álcool a 70^o, pedaços de gase ou algodão e panos próprios para limpeza, devem estar sempre disponíveis durante a execução das atividades de laboratório;

- utilizar desinfetantes com poder germicida contra os organismos mais freqüentemente encontrados no laboratório. Complexos organo-iodados, compostos quaternários de amônia, alcoóis e fenóis são eficientes contra bactérias vegetativas e vírus e, por isso, são recomendados para uso geral no laboratório. Entretanto, tais desinfetantes não são esporocidas, e nestes casos recomenda-se o uso de soluções de formaldeído-alcool. Sais de mercúrio ou produtos de uso doméstico não são recomendados para limpeza de laboratório;
- nunca jogar culturas viáveis ou material contaminado diretamente na pia; esse material deverá ser esterilizado antes de sua disposição final;
- pipetas usadas e contaminadas devem ser acondicionadas em caixas contendo desinfetantes; as mesmas devem ficar totalmente submersas nessa solução até que se processe a autoclavação;
- toda a vidraria contaminada deve ser colocada em caixas para posterior autoclavação. Materiais quebrados devem ser colocados separadamente para que, após a descontaminação, sejam descartados. Materiais plásticos não autoclaváveis devem ser acondicionados em caixas separadas, a fim de evitar a fusão do plástico ao redor dos itens de vidro;
- todos os materiais contaminados devem ser devidamente identificados como tal, antes de serem encaminhados para descontaminação. Para essa identificação, usar fitas sensíveis ao calor, sendo que fitas pré-marcadas simplificam este trabalho;
- controlar o funcionamento das autoclaves com o uso de suspensões de esporos de Bacillus stearothermophilus e termômetros de máxima e mínima temperatura. Autoclaves de boa qualidade normalmente são equipadas com registradores automáticos de temperatura e, desta forma, registros permanentes podem ser mantidos;
- controlar o funcionamento das estufas de esterilização e secagem periodicamente com bioindicadores para calor seco, tais como suspensão de esporos de Bacillus subtilis var. niger;

- os pisos do laboratório devem ser lavados e esfrega dos semanalmente. Para tal limpeza, utilizar uma solução aquosa de desinfetante. Secar bem e, se possível, fazer uma aplicação de cera bacteriostática.

d) substâncias químicas e gases

- frascos com reagentes devem ser rotulados de maneira clara e permanente. Materiais não rotulados devem ser descartados cuidadosamente. Após o uso, limpar os re síduos de reagente que possam ficar na superfície ex terna do frasco;
- solventes inflamáveis devem ser mantidos em armários adequados à sua estocagem ou em áreas bem ventiladas;
- quando na abertura de frascos que possam estar sob pressão, como por ex. ácido hidrolórico, hidróxido de amônia, cobrir o recipiente com uma toalha, para evitar borrifos químicos ou, preferencialmente, abrí-los em capelas apropriadas para esse fim;
- para transportar substâncias químicas perigosas, tais como ácidos corrosivos, líquidos inflamáveis, etc. de ve-se usar um transportador de garrafas adequado;
- reagentes e substâncias que podem reagir com a água, ou apresentam perigo para o meio ambiente, devem rece ber atenção especial quando forem descartados. Como por exemplo temos a azida sódica, que reage com ca nos metálicos produzindo os compostos azida de cobre ou chumbo, que são muito explosivos, e o mércurio e seus sais, que não devem ser descartados no meio ambiente, visto serem substâncias extremamente tóxicas. Nunca adicionar água a ácidos, e sim ácidos à água.

e) manipulação de vidraria

- descartar vidraria quebrada, lascada ou em mal estado de conservação (riscada). Usar luvas ao pegar vidros quebrados. Para retirar partículas finas de vidro, uti lizar papel toalha umidecido;
- proteger as mãos com luvas ou toalhas grossas quando da inserção de um tubo de vidro em uma rolha de bor racha. Antes de iniciar a operação, lubrificar o tubo de vidro com água ou glicerina;
- utilizar telas de amianto para o aquecimento de vidraria diretamente sobre bicos de Bunsen.

5.2 Equipamentos de segurança de laboratórios

5.2.1 Extintores de incêndio

Existem vários tipos e tamanhos de extintores de incêndio, cada um com finalidade especial: CO₂, espuma, água, pó químico, etc. Todo o laboratório de microbiologia deve ter acesso a dois tipos deles: os de espuma e os de CO₂. Extintores de espuma são mais efetivos sobre princípios de incêndios que envolvem a combustão de materiais comuns e líquidos ou óleos inflamáveis, enquanto que os de CO₂ são utilizados em equipamentos elétricos.

Os extintores de incêndio devem ser inspecionados periodicamente e recarregados se necessário. Devem estar situados em locais de fácil alcance, sendo que a altura máxima de colocação do extintor não deve ultrapassar 1,80 m, medindo-se da parte superior do aparelho até o piso do laboratório.

5.2.2 Chuveiro

Todo laboratório, onde se manipulem substâncias corrosivas, inflamáveis e tóxicas, deve estar equipado com um chuveiro, o qual deverá estar localizado de forma a ser facilmente alcançado. O chuveiro e a área adjacente a ele devem estar completamente desimpedidas para, no caso de uma emergência, poderem ser utilizados prontamente. O chuveiro deverá ser acionado de maneira fácil e rápida, proporcionando boa vazão de água, ou seja, mais do que as torneiras comuns. O cano condutor de água pode ser de uma polegada de diâmetro e o disco do chuveiro, ao redor de 20 cm de diâmetro. Além desse disco, podem ser acoplados esguichos nas partes inferiores da tubulação, com os jatos dirigidos para cima, alcançando estes aproximadamente a cintura da pessoa acidentada. Se não houver nos canos uma pressão suficiente de água, o chuveiro pode ser abastecido com água do tanque, localizado acima dele, e com capacidade superior a 20 minutos de escoamento. Este tanque deve ser protegido contra os raios solares e contaminação por detritos em suspensão na atmosfera. Trocar a água uma vez por mês, acionando o chuveiro para verificar o bom funcionamento do aparelho.

5.2.3 Lavadores de olhos

Os lavadores de olhos são importantes no laboratório. É frequente acontecerem respingos no rosto e olhos dos laboratoristas, em virtude da proximidade desta parte do corpo humano com os reagentes, pois as operações requerem observações e vigilância contínuas. Tais respingos deveriam ser evitados pelo uso de escudos faciais protetores, mas, em caso de falha humana, torna-se necessário haver um aparelho que minimize o dano.

O lavador de olhos deve estar localizado junto ao chuveiro, podendo o mesmo funcionar em conjunto com ele. Qualquer lavagem com este aparelho deve ser feita com duração mínima de 15 minutos.

Há vários tipos de lavadores de olhos, sendo que o mais eficiente e seguro envia jatos de água junto com ar, formando uma espécie de jato espumoso que não ofende os olhos e também impede o fato de, se houver partículas contaminantes nos globos oculares, serem elas impelidas contra eles, agravando o acidente. Este tipo de jato é eficaz e também fácil de ser tolerado pela pessoa acidentada.

5.3 Segurança em instalações de laboratórios

5.3.1 Pisos

Devem apresentar facilidade de limpeza, boa resistência ao atrito e a produtos químicos e superfície antiderrapante. A superfície deve ser completamente plana, não devendo haver elevações que propiciem tropeços e possíveis quedas.

5.3.2 Paredes

Devem contribuir, além de outros fatores, para que a temperatura ambiente do laboratório permaneça o mais estável possível; desta forma, paredes com tijolos de barro cozido fornecem mais vantagens. As paredes devem ser revestidas com material que apresente facilidade de limpeza, durabilidade, boa aparência, impermeabilidade e resistência às variações de temperatura. As cores devem ser claras, para produzir sensação repousante.

5.3.3 Janelas

Devem proporcionar iluminação e arejamento convenientes. Devem ser providas de um sistema de controle de raios solares. Os vidros não devem ser pintados, para que não haja opacidade, obstruindo a passagem de luz.

5.3.4 Portas

Deve haver no mínimo 2 portas convenientemente situadas, de fácil abertura e que conduzam a um local seguro (não deverá haver escada logo em frente à porta). As portas devem abrir sempre para o lado de fora para se ter segurança em sair do laboratório em caso de necessidade.

5.3.5 Bancadas

Podem ser feitas de madeira, alvenaria com revestimento adequado ou de aço inoxidável. Os armários devem ser construídos de tal maneira que suas prateleiras sejam ajustáveis, conseguindo-se dessa forma o vão livre desejado. Os tampos das bancadas devem ser planos, de material impermeável, não inflamável, resistente ao ataque de substâncias químicas, de fácil limpeza e boa aparência. Quanto à disposi

ção, algumas bancadas devem ser colocadas junto às paredes e algumas no centro da sala. Nas bancadas laterais devem ser colocados instrumentos de precisão, incubadoras, etc. As bancadas centrais constituem o local onde são realizadas as análises, devendo, portanto conter pontos de água, gás, vácuo e eletricidade (110 e 220 V) devidamente sinalizados. Deve-se evitar acúmulo de material sobre as bancadas destinadas ao processamento de análises.

5.3.6 Exaustão e circulação de ar

Um sistema de exaustão de ar quente produzido pelos aparelhos de aquecimento (estufa, autoclave, etc) e outro sistema de circulação de ar frio devem ser estabelecidos com a finalidade de reduzir o calor excessivo gerado dentro de um laboratório.

5.3.7 Instalações elétricas

Devem obedecer às normas vigentes. A caixa de energia deve ter a capacidade adequada para evitar sobrecarga; por esse motivo, um sistema de disjuntores térmicos e fusíveis deve ser estabelecido para proteger o circuito. Todas as tomadas devem ser devidamente aterradas, ter plugs de 3 pinos orientando a conexão com a instalação elétrica, com o propósito de que a fase e o neutro entre as tomadas mantenham os seus respectivos potenciais, em relação à terra, sempre iguais. Fios abertos, ligações expostas e provisórias nunca devem ser utilizadas em laboratórios.

/ANEXO A

ANEXO A - REGRAS ESPECIAIS EM LABORATÓRIO DE VIROLOGIA

Além das medidas básicas de segurança apresentadas para laboratórios de microbiologia, trabalhos em laboratórios de virologia requerem a observação de regras específicas para a prevenção de infecção por vírus cultivados no laboratório, incluindo não apenas infecção dos técnicos que desenvolvem o trabalho rotineiro, como também de quaisquer outras pessoas que possam ter um contato posterior com superfícies e equipamentos contaminados por vírus.

Antes de iniciar qualquer trabalho com vírus em salas e/ou câmaras de fluxo laminar, devem ser observadas as regras a seguir.

A-1 Os recipientes contendo vírus não devem ser abertos, exceto em salas e/ou câmaras de fluxo laminar.

A-2 Todos os materiais e equipamentos necessários devem estar às mãos, para evitar entradas e saídas desnecessárias na sala e/ou câmaras de fluxo laminar durante o processamento do trabalho.

A-3 Aventais, luvas de borracha e máscaras devem ser usados pelos técnicos. Enquanto vestido para o trabalho, não é permitido ao técnico sair do laboratório, efetuar ou receber chamadas telefônicas.

A-4 A porta do laboratório deve ser fechada e colocado aviso para evitar a entrada de outras pessoas até que o trabalho tenha sido terminado.

A-5 As superfícies da bancada de trabalho devem ser limpas com gaze estéril embebida em solução desinfetante.

A-6 No manuseio de amostras virais, devem ser usadas apenas pipetas com tampões de algodão.

A-7 Muito cuidado deve ser tomado na mistura, aspiração e eliminação de líquido com vírus, para evitar formação de aerossóis, derramamento de líquido, molhadura do tampão de algodão ou entrada de material contaminado pelo tampão.

A-8 Quando for efetuada a transferência de meios líquidos com vírus de um recipiente para outro por pipetagem, deve-se tomar cuida

do para evitar a formação de aerossóis que podem resultar do as soprimento do líquido ou da eliminação da última gota pela pipeta.

A-9 Se o restante de uma suspensão não for preservada para uso posterior, é necessário tomar as precauções a seguir.

A-9.1 Os recipientes não devem ser esvaziados antes de efetuar a inativação dos vírus por autoclavação. Após a descontaminação por autoclavação, os recipientes a serem reutilizados deverão ser submetidos aos processos de lavagem e esterilização.

A-10 Após o término do trabalho em salas e/ou câmaras estéreis devem ser observadas as regras a seguir.

A-10.1 Caso tenham sido utilizadas luvas, deve-se desprezá-las em uma cuba contendo solução desinfetante.

A-10.2 Gases e toalhas de papel já usadas, incluindo as utilizadas para a desinfecção da bancada de trabalho, devem ser colocadas em um recipiente adequado para serem submetidas à autoclavação a 121°C durante 30 minutos.

A-10.3 A superfície da bancada deverá ser limpa ao final de qualquer operação, com uma solução desinfetante.

A-10.4 Após a desinfecção, todos os materiais e equipamentos que não pertencem à sala estéril deverão ser removidos com a finalidade de deixá-la limpa, arrumada e segura para uso posterior.

/ANEXO B

ANEXO B - SOLUÇÕES DESINFETANTES

Muitos fatores devem ser considerados antes de se tomar uma decisão sobre qual é o desinfetante mais adequado para uso em laboratório de microbiologia. Nos itens B-1 a B-8 estão descritas algumas soluções usualmente empregadas, bem como a concentração utilizada para desinfecção do laboratório.

B-1 Solução de hipoclorito de sódio, água de cloro e outras soluções contendo "cloro livre"

Tais soluções são desinfetantes muito ativos, mas são muito instáveis e devem ser preparadas no mínimo uma vez por semana, de preferência diariamente, e devem ser mantidas em frascos limpos e escuros (usar o mesmo frasco todas as vezes). Se a solução de hipoclorito for empregada sob condições em que grande quantidade de matéria orgânica está presente, o hipoclorito pode ser rapidamente consumido e, portanto, sua atividade é perdida. Conseqüentemente, a solução do hipoclorito não é adequada para a desinfecção de pipetas, vidraria, etc., para as quais um longo período de desinfecção pode ser requerido e também não é útil para descontaminação de superfícies sujas. Sua eficiência diminui com o aumento do pH. O cloro é muito corrosivo para metais e pode ser irritante para a pele e mucosas. Uma solução forte corresponde a uma solução a 1% de hipoclorito. Esta solução pode ser usada para tratar superfícies de bancadas, etc. Se o conteúdo de material orgânico for menor, uma solução a 0,1% pode ser empregada.

B-2 Soluções de cloraminas e outras soluções contendo cloro combinado

Funcionam mais lentamente que soluções contendo cloro livre, mas suportam muito melhor uma carga de "sujeira". Soluções de cloramina são, portanto, muito adequadas para desinfecção quando o material puder ser imerso por uma noite ou quando o tempo de desinfecção for igual ou superior a 1 hora. A eficiência diminui com o aumento do pH. Cloraminas são corrosivas para metais e, após exposição prolongada, algumas pessoas podem desenvolver hipersensibilidade. Uma solução a 2% pode ser usada como desinfetante.

B-3 Iodo ou compostos substituídos de iodo

Em solução, são tão úteis como as soluções com cloro livre; entretanto, compostos de iodo são em geral mais caros. Em alguns casos, a

cor do iodo torna o composto menos adequado para uso, porém se as superfícies podem suportar o tratamento, o iodo é melhor para remover sujeira que o cloro. Sua eficiência, como a do cloro, depende do pH. Uma solução a 0,5% de iodo em 75% de etanol pode ser usada para desinfecção de superfícies.

Existe no mercado uma variedade de nomes comerciais de misturas ou compostos contendo halogênios. Eles funcionam essencialmente como algo entre cloro livre ou combinado, isto é, não tão rápidos como cloro livre mas podem ser eficientes frente a teores um pouco maiores de matéria orgânica.

B-4 Etanol e outros álcoois

Álcoois podem ser desinfetantes eficazes contra muitas bactérias, mas seu efeito contra os vírus estáveis é fraco, e os esporos bacterianos não são destruídos. Uma solução a 70-80% é relativamente ativa contra bactérias e é inócua para muitos materiais.

B-5 Formaldeído

É um desinfetante muito ativo, embora a destruição de esporos possa levar 24 horas ou mais. Sua eficiência não é influenciada por matéria orgânica, mas ele só pode ser usado em áreas bem ventiladas, preferencialmente em capelas bem ventiladas. O gás é mais irritante que o cloro e algumas pessoas podem desenvolver reações alérgicas severas. Solução de formalina a 5% (contendo 2% de formaldeído) é um desinfetante muito útil para uso geral.

B-6 Glutaraldeído

É um desinfetante geralmente ativo, que pode ser usado em um número de casos onde cloro, álcool e formalina são excluídos. Uma vantagem é o custo elevado. O glutaraldeído é mais eficiente em solução levemente alcalina. Solução de bicarbonato de sódio é suficiente para o ajuste de pH. A solução alcalina é instável e não deverá ser guardada por tempo superior a duas semanas. O glutaraldeído é ativo também na presença de matéria orgânica e é considerado oito vezes mais ativo que a formalina. Uma solução a 2% de glutaraldeído com pH em torno de 8 é um desinfetante de uso geral.

B-7 Fenóis

Vários desinfetantes fenólicos têm efeito muito bom contra muitas bactérias. Soluções fenólicas são estáveis e podem funcionar na pre

sença de quantidade considerável de matéria orgânica. Os fenóis podem ser usados na descontaminação de superfícies e em soluções de desinfetantes. Os fenóis são absorvidos em materiais porosos e são irritantes para os tecidos. Vírus estáveis não são influenciados por fenóis. Soluções contendo 1 a 2% podem ser usadas como desinfetantes de superfície. Em um banho de desinfecção, solução de até 0,5% é suficiente. Em nenhum caso, desinfetantes com fenóis deverão ser misturados com halogênios ou com aldeídos, pois estes agentes são mutuamente destrutivos.

B-8 Compostos quaternários de amônia

São eficientes contra bactérias Gram-negativas, mas não contra organismos como os agentes da tuberculose, esporos e vírus estáveis. Apesar destas limitações, estes compostos são bastante úteis porque eles não são irritantes para a pele, não são corrosivos e, portanto, não causam ação destrutiva em vários materiais. Uma solução de 0,1 a 0,2% de brometo de benzil-alkil-amônia ou brometo de cetil-trimetil-amônia são desinfetantes úteis contra uma variedade de bactérias e fungos, mas não devem ser utilizados junto com sabões e outros detergentes, pois serão neutralizados.

ANEXO C - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- C-1 BORDNER, R. & WINTER, J. (ed). Microbiological methods for monitoring the environment: water and wastes. U.S. Environmental Protection Agency, 1978. 338 p. (EPA-600/8-78-017).
- C-2 CANADA CENTRE FOR INLAND WATERS. Microbiological laboratories: safety manual. Ontario, Environmental Canada, 1982, 26 p.
- C-3 CETESB. Lavagem, preparo e esterilização de materiais em laboratório de microbiologia. São Paulo, 1986 (NT M1.001).
- C-4 _____. Lavagem, preparo e esterilização de material para cultura celular. São Paulo, 1985 (NT M1.002).
- C-5 ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Handbook for analytical quality control in water and wastewater laboratories. Ohio, EPA, 1979, p.i. (EPA-600/4-79-019).
- C-6 GELDREICH, E.E. Handbook for evaluating water bacteriological laboratories. 2 ed. Ohio, Municipal Environmental Research Laboratory, Office of Research and Development. U.S. Environmental Protection Agency, 1975 (EPA-670/9-75-006).
- C-7 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Water quality: general guide to the enumeration of microorganisms by culture. ISO, 1986. 36 p. (Draft International Standard; ISO/DIS 8199).
- C-8 LUND, E. Prevenção de infecções de laboratório. Trad. Maria Therezinha Martins e Maria Neusa Alves, s.l., s.d., 35 p.
- C-9 SHAPTON, D.A. & BOARD, R.G. In: Safety in microbiology. Academic Press, New York, N.Y., 1972
- C-10 STEERE, N.V. (ed). Handbook of laboratory safety. The Chemical Rubler Co. Cleveland, OH. 1971.