

# Sumário

<b>1 Apresentação</b>	1
<b>2 Objetivo</b>	2
<b>3 Campo de aplicação</b>	3
<b>4 Biossegurança</b>	4
4.1 O que é a Biossegurança?	4
4.2 Sobre o LIMA	4
4.3 Riscos	4
<b>5 Avaliação de Risco</b>	6
5.1 Procedimentos Proibidos	6
5.2 Superfícies	6
5.3 Microrganismos e células presentes no laboratório	6
<b>6 Normas Gerais de Segurança em Laboratório</b>	7
6.1 Normas básicas de Biossegurança	7
6.1.1 Ambiente e instalações laboratoriais	7
6.1.2 Equipamentos de proteção	8
6.2 Higiene Pessoal	9
6.3 Lavagem das mãos	10
6.3.1 Quando lavar as mãos	10
6.3.2 Sequência da lavagem das mãos	11
6.3.3 Antissepsia das mãos	11
6.4 Regras gerais para transporte de objetos e materiais	11
6.4.1 Procedimentos gerais para transporte de objetos e materiais	11
6.4.2 Procedimentos para transporte de material biológico	11
6.4.2.1 Transporte interno	11
6.4.2.2 Transporte externo	11
6.5 Normas de Biossegurança em experimentos com culturas de células	14
6.5.1 Barreiras de contenção no trabalho em cultura de células	14
6.5.2 Infraestrutura laboratorial	14
6.5.3 Uso correto dos equipamentos	15
6.5.3.1 Cabines de Segurança Biológica	15
6.5.3.2 Centrífuga	17
6.5.3.3 Banho-Maria	17
6.5.3.4 Geladeiras e Freezers	18
6.6 Limpeza desinfecção e esterilização	18
6.7 Normas de biossegurança aplicadas a Experimentos de clonagem	18
6.8 Barreiras de Contenção	19
6.9 Infraestrutura Laboratorial	20

6.10	Uso correto dos equipamentos	20
6.10.1	<i>Cabine de segurança biológica</i>	21
6.10.2	<i>Centrífuga</i>	21
6.10.3	<i>Banho-Maria</i>	21
6.10.4	<i>Geladeira, Freezer e Ultrafreezer</i>	21
6.10.5	<i>Incubadora com agitação</i>	21
6.10.6	<i>Espectrofotômetro</i>	22
6.10.7	<i>Processador Ultrassônico</i>	22
6.10.8	<i>Termociclador</i>	22
6.10.9	<i>Eletroforese</i>	23
6.10.10	<i>Transluminador</i>	23
6.10.11	<i>Autoclave</i>	23
6.11	Limpeza, desinfecção e esterilização	24
6.12	Normas de Biossegurança para Expressão Heteróloga e Purificação	24
6.12.1	<i>Avaliação de risco</i>	24
6.12.2	<i>Uso correto do equipamentos</i>	25
6.12.3	<i>Cabine de segurança Biológica</i>	25
6.12.4	<i>Processador Ultrassônico</i>	25
6.12.5	<i>Vórtex</i>	25
6.12.6	<i>Incubadora com agitação</i>	26
6.12.7	<i>Eletroforese</i>	26
6.12.8	<i>Cromatografia</i>	26
6.12.9	<i>Diálise</i>	26
6.13	Procedimentos Gerais de Limpeza e manutenção	27
<b>7</b>	<b>Mapa de Risco</b>	28
<b>8</b>	<b>Sinalizações</b>	30
8.1	Regras gerais de armazenamento de produtos	30
8.1.1	<i>Procedimentos gerais para armazenamento de produtos</i>	30
8.1.2	<i>Procedimentos de armazenamento de produtos químicos</i>	30
8.2	Manipulação de produtos químicos	31
8.3	Sinalizações	31
<b>9</b>	<b>Riscos</b>	31
9.1	Procedimentos gerais para controle de aerossóis	31
9.2	Riscos Físicos	33
9.3	Procedimentos em casos de acidentes	34
9.4	Procedimento pós-exposição a materiais biológicos	34
9.5	Procedimento pós-exposição a materiais físicos e químicos	35
<b>10</b>	<b>Resíduos</b>	37
10.1	Classificação	37
10.2	Segregação	40
10.3	Acondicionamento	40
10.4	Identificação	41

10.5 Transporte Interno de Resíduos	42
10.6 Armazenamento Temporário	42
10.7 Tratamento	42
10.8 Armazenamento Externo	42
10.9 Coleta e Transporte Externo	43
<b>11 Referências Bibliográficas</b>	<b>45</b>

# 1 Apresentação

Este documento foi primeiramente elaborado pelos alunos Gabriela Alves Moreira, Thiago Souza Onofre e Éverton de Almeida Alves Barbosa, discentes do programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola da Universidade Federal de Viçosa (UFV), como parte dos trabalhos executados na disciplina **Biossegurança** (BQI 602), sob orientação do professor Dr. Cláudio Lísias Mafra de Siqueira, que ministra a disciplina. Este manual de Biossegurança diz respeito às atividades executadas nos Laboratórios de Infectologia Molecular Animal (LIMA) e de Proteômica e Bioquímica de Proteínas (LPBP), ambos localizados no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV). A presente publicação é o resultado do material discutido e apresentado na disciplina BQI 602 (2014/1), e constitui inicialmente o registro, a aplicação e ampliação dos conhecimentos básicos e gerais em biossegurança adquiridos durante a disciplina e sofreu acréscimos pelos alunos Adíverson Silva Lopes e Jackson de Andrade Teixeira no segundo semestre de 2015.

Este manual apresenta as normas e procedimentos adotados para minimizar os riscos de trabalho de forma assegurar o correto manuseio com microrganismos, reagentes químicos e equipamentos de que o LIMA e o LPBP dispõem. Ainda, fornece regras gerais de segurança e conduta para transitar entre os laboratórios, nas dependências do BIOAGRO ou em áreas externas.

Com isso, espera-se que este documento contribua para a regulamentação das atividades realizadas no LIMA e LPBP, visando à segurança e proteção do material biológico e, ou, químico, dos pesquisadores, da comunidade e do meio ambiente, de acordo com as Normas de Biossegurança nos laboratórios.

Ademais, poderá servir de inspiração e exemplo acadêmico e científico para que outros educadores disseminem e apliquem a preocupação pertinente sobre os cuidados e preservação do mundo pautando-se pela ética profissional primando por um comportamento cidadão.

## **2 Objetivo**

Descrever normas, procedimentos e informações que auxiliem a prevenir, minimizar e, se possível, eliminar a exposição aos riscos decorrentes das atividades de rotina do trabalho nos Laboratórios de Infectologia Molecular Animal (LIMA) e de Proteômica e Bioquímica de Proteínas (LPBP).

## **3 Campo de Aplicação**

Este manual aplica-se aos ambientes, condições, processos e práticas de trabalho nos Laboratórios LIMA e LPBP, que possam colocar em risco a segurança e a saúde dos seus profissionais e alunos, a saúde coletiva, a preservação do meio ambiente e a qualidade dos trabalhos desenvolvidos.

## 4 Biossegurança

### 4.1. O que é a Biossegurança?

A Biossegurança é o conjunto de medidas, técnicas, ações, procedimentos, equipamentos e dispositivos que podem minimizar ao máximo os riscos inerentes ao ambiente de trabalho que possam afetar a saúde dos animais, do homem, do meio ambiente ou a qualidade do trabalho executado.

### 4.2. Sobre o LIMA (Laboratório de Infectologia Molecular Animal UFV)

Realiza análise proteômica diferencial de vírus animais, avaliação da ação de produtos naturais no controle de infecções víricas, desenho racional de drogas e vacinas, evolução de patógenos emergentes, doenças víricas de bovinos, doenças víricas de suínos, viroses de RNA de interesse veterinário, viroses e parasitos relacionadas a zoonoses. Possui a área de pesquisa em Virologia Molecular Animal - A qual tem o intuito de desenvolver produtos e processos biotecnológicos para o diagnóstico e controle de doenças de interesse para a sociedade. No LIMA são realizados rotineiramente, técnicas de cultivo celular de células eucarióticas e procarióticas, microscopia, histológica, PCR convencional e em tempo real, ensaios enzimáticos e imunoenzimáticos, eletroforeses de proteína, RNA e DNA (em gel ou microcapilar), *western blot*, clonagem, expressão de proteínas em sistema bacteriano e em *Leishmania sp.*, purificação de proteínas heterólogas, dosagem de proteínas e citocinas, fermentação em bancada e em escala piloto, teste de substâncias naturais, ensaios *in vivo* (camundongo) e análises *in silico* (bioinformática).

### 4.3. Riscos

Segundo a Portaria do Ministério do Trabalho, MT no. 3214, de 08/06/78, na sua Norma Regulamentadora número 05, existem 5 classes de riscos:

- Risco de acidente: 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.
- Risco ergonômico: 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, ritmo excessivo de trabalho, monotonia, repetitividade, postura inadequada de trabalho, etc.
- Risco físico: Consideram-se agentes de risco físico as diversas formas de energia a que possam estar expostos os trabalhadores, tais como: ruído, calor, frio, pressão, umidade, radiações ionizantes e não-ionizantes, vibração, etc.
- Risco químico: Consideram-se agentes de risco químico as substâncias, compostos ou produtos que possam penetrar no organismo do trabalhador pela via respiratória, nas formas de poeiras, fumos gases, neblinas, névoas ou vapores, ou que seja, pela natureza da atividade, de exposição, possam ter contato ou ser absorvido pelo organismo através da pele ou por ingestão.
- Risco biológico: Consideram-se como agentes de risco biológico as bactérias, vírus, fungos, parasitos, entre outros.

Todos esses riscos devem ser identificados pelo grupo de trabalho e para melhor visualização de todos os ambientes e os riscos que cada um contém, o ideal é se fazer um mapa de risco seguindo as normas já existentes.



# 5 Avaliação de Risco

## 5.1 Procedimentos proibidos

- Pipetar com a boca;
- Comer, beber ou fumar dentro do laboratório;
- Utilizar equipamentos para aquecer alimentos;
- Trabalhar sem o uso de EPI's, e, ou, EPC's de uso obrigatório em procedimentos específicos;
- Presença de crianças, gestantes, idosos e pessoas com baixa na imunidade nas áreas de risco químico, físico e, ou, biológico;

## 5.2 Superfícies

As superfícies das bancadas de trabalho deverão ser higienizadas e descontaminadas antes e após os trabalhos e sempre após algum respingo ou derramamento, sobretudo no caso de material biológico potencialmente contaminante e substâncias químicas. Recomenda-se que o usuário realize os procedimentos de bancada sobre papel lençol descartável de celulose facilitando a limpeza no final do procedimento.

## 5.3 Micro-organismos e células presentes no laboratório

As cepas virais são: Herpesvírus bovino 1, Herpesvírus bovino 5, Herpesvírus equino 1, vírus da Cinomose, Circovírus suíno, vírus da doença de Gumboro e Coronavírus felino.

As cepas bacterianas são: *Escherichia coli* BL12 DE3 (RIL), *E. coli* DH5- $\alpha$ , *E. coli* TOP10.

As células procarióticas superiores são: *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* sp.

As células eucarióticas são: K562, KG1, HL60, U937, Jurkat, TALL, Molt-4, CEM, REH, RS4, 697, Nalm-6, B16F10, Melan a, MCF 7

# 6 Normas Gerais de Segurança em Laboratório

## 6.1 Normas básicas de biossegurança

### 6.1.1 Ambiente e instalações laboratoriais

- Apenas pessoas autorizadas, devidamente informadas dos procedimentos de segurança tem permissão de acesso aos laboratórios;
- Ao entrar ou sair do laboratório higienizar as mãos com álcool em gel, que deve estar localizado próximo à porta de entrada do laboratório.
- Ao entrar e sair do laboratório deve ser feito o registro de entrada e saída. Esse registro deve estar localizado próximo à porta de entrada do laboratório.
- Visitantes e colaboradores com acesso autorizado aos laboratórios deverão observar o uso de jaleco e outros equipamentos de segurança, conforme necessidade;
- Todos os profissionais e alunos devem ser informados sobre as saídas de emergência, os avisos de segurança, a localização dos equipamentos de segurança e como utilizá-los, os procedimentos em caso de incêndio e os procedimentos de primeiros socorros e ter acesso aos telefones das pessoas responsáveis pelo laboratório;
- Nunca deixar fios espalhados nas áreas de circulação e, ou, de trabalho;
- A instalação de novos equipamentos deve cumprir as normas de segurança específicas pertinentes, como por exemplo, a tensão e área de trabalho que o equipamento exige;
- Os equipamentos só devem ser operados por usuários devidamente treinados e aptos para a correta utilização e realização de manutenções preventivas;
- Manter os equipamentos elétricos longe de pias e outras superfícies úmidas e molhadas;
- Zelar pela conservação das instalações elétricas e hidráulicas;

- Desligar todos os equipamentos antes de sair do laboratório, exceto os de uso contínuo, como ar condicionado;
- Deve-se observar a adequação do número de chuveiros de segurança com lava-olhos (NR32) e extintores de incêndio (NR23) a áreas de trabalho, bem como: realizar os devidos testes de funcionamento periodicamente; e realizar manutenções periodicamente;
- As limpezas periódicas das geladeiras, freezers, ar condicionado, pisos e paredes devem ser executadas por profissionais capacitados, portando EPI's e, ou, EPC's, conforme necessidade, sob a orientação dos técnicos e das normas de biossegurança, e ainda mediante agendamento prévio comunicado aos usuários;

### **6.1.2 Equipamentos de Proteção**

São todos os dispositivos de uso individual ou coletivo, destinados a proteger a integridade física dos usuários, do material de trabalho e, ou, do ambiente externo, considerando o meio ambiente e a comunidade.

Esses equipamentos tem uso restrito apenas para a finalidade que se destina. Cada usuário deve responsabilizar-se por sua guarda (quando for o caso) e conservação, comunicar qualquer alteração que o torne impróprio para o uso e substituí-lo quando danificado ou extraviado. Os laboratórios devem ter a disposição o tipo adequado a cada atividade, treinar o usuário sobre o uso adequado e tornar obrigatório seu uso.

- **Luvas:** tem por objetivo atuar como barreira de proteção, prevenindo contra contaminação das mãos. É recomendado o uso de luvas de látex (luvas de uso único - descartar após retirar) para trabalho com microrganismos, animais de laboratório e nos trabalhos de rotina. Para o manuseio de reagentes mais perigosos, como carcinogênicos, é recomendado o uso de luvas de PVC.

**OBS:** Luvas de borracha devem permanecer 12 horas em solução de hipoclorito de sódio a 1%.

- **Jaleco:** tem por objetivo fornecer uma barreira ou proteção a fim de reduzir a oportunidade de transmissão de microrganismos e contaminação química. Devem ser de mangas longas, confeccionados em algodão ou fibra sintética não inflamável, comprimento até os joelhos, sem bolsos ou "detalhes soltos" e com fechamento frontal em

velcro ou outro modo que permita a rápida remoção. Também deve haver esse tipo de proteção disponível para visitantes.

- **Óculos de proteção e Protetor facial:** tem por objetivo proteger contra salpicos, borrifos, gotas e impactos. Deve estar disponível para todos os usuários que trabalhem em locais onde haja manuseio ou armazenamento de substâncias químicas ou onde houver probabilidade de respingos. Esses equipamentos não podem distorcer imagens ou limitar o campo visual, devem ser resistentes, confortáveis e de fácil limpeza e conservação. Também deve haver esse tipo de proteção disponível para visitantes.
- **Proteção respiratória:** deve ser utilizado apenas quando as medidas de proteção coletiva não existem, não podem ser implantadas ou são insuficientes (ex: sistemas exaustores). O uso de respiradores deve ser esporádico e para operações não rotineiras.
- **Cabines de Segurança Biológica (CSB):** constituem o principal meio de contenção, podendo impedir a fuga de aerossóis, microrganismos e outros contaminantes. Existem três classes de CBS, tendo a classe II quatro subtipos. Cada cabine é projetada para atender um determinado parâmetro de trabalho, o qual deve ser respeitado, garantindo a segurança do objeto da pesquisa, do usuário, do ambiente laboratorial, do ambiente externo e até da comunidade local.
- **Câmara de exaustão de gases:** em teoria tem os mesmos princípios da CSB, mas esse equipamento é projetado para permitir o manuseio de substâncias (químicas) voláteis e que, os aerossóis gerados, podem ser expelidos ao meio ambiente sem danos.
- **Chuveiro de emergência:** tem que possuir no mínimo 30 cm de diâmetro, deve ser acionado por alavancas de mãos, cotovelos e joelhos. Deve estar localizado em um local de fácil acesso.
- **Lava olhos:** aparelho que possui dois chuveiros pequenos com pressão suficiente para chegar aos olhos de qualquer pessoa sem machucar, acoplado a uma bacia metálica, no qual o ângulo do jato deve estar correto para atingir os olhos das pessoas.

- **Manta ou cobertor feito de lã ou algodão grosso:** Deve estar localizado em um local de acesso rápido, o qual deve ser jogado sobre a pessoa envolvendo-a em caso de acidente por combustão, o que ajudará a apagar o fogo.
- **Extintor de incêndio a base de água:** que utiliza o CO<sub>2</sub> como propulsor. É usado em papel, tecido e madeira. NÃO usar em eletricidade, líquidos inflamáveis, metais em ignição
- **Extintor de incêndio de CO<sub>2</sub> em pó:** que utiliza o CO<sub>2</sub> em pó como base. A força de seu jato é capaz de disseminar os materiais incendiados. É usado em líquidos e gases inflamáveis, fogo de origem elétrica. NÃO usar em metais alcalinos e papel.
- **Extintor de incêndio de pó seco:** usado em líquidos e gases inflamáveis, metais do grupo dos álcalis, fogo de origem elétrica.
- **Extintor de incêndio de espuma:** usado para líquidos inflamáveis. NÃO usar para fogo causado por eletricidade.
- **Extintor de incêndio de BFC:** utiliza o bromoclorodifluorometano. É usado em líquidos inflamáveis, incêndio de origem elétrica. O ambiente precisa ser cuidadosamente ventilado após seu uso.
- **Mangueira de incêndio:** modelo padrão, cujo comprimento e localização são fornecidos pelo Corpo de Bombeiros.

## 6.2 Higiene pessoal

### a) Cabelos

Cabelos longos devem ser mantidos presos durante os trabalhos;

### b) Unhas

As unhas devem ser mantidas limpas e curtas, não ultrapassando a ponta dos dedos;

### c) Calçados

Usar exclusivamente sapatos fechados (que cobrem o “peito do pé”);

### d) Lentes de contato

Não é recomendado o uso de lentes de contato no laboratório, pois vapores químicos ou outras substâncias aerossóis podem ser retidos pelo material das lentes, podendo causar irritações ou lesões nos olhos. Caso o uso seja necessário, não devem ser manuseadas durante o trabalho e necessitam ser protegidas com o uso de óculos de segurança.

### 6.3 Lavagem das mãos

O ato de lavar as mãos com água e sabão, através de técnica adequada, objetiva remover mecanicamente a sujeira e a maioria da microbiota transitória da pele.

Para manipular materiais potencialmente infectantes e substâncias químicas, utilizar luvas de proteção. Para escolher o tipo de luva correta, o usuário deve recorrer às informações do rótulo do produto ou observar o Procedimento Instrucional (PI) pertinente. Isto, no entanto, não elimina a necessidade de lavar as mãos regularmente e de forma correta (**Item 3.2**).

No laboratório, as torneiras devem ser preferencialmente acionadas com o pé ou outro tipo de acionamento automático. Não estando disponíveis estes dispositivos, usa-se papel toalha para fechar a torneira a fim de evitar a contaminação das mãos lavadas.

#### 6.3.1 Quando lavar as mãos

- Ao iniciar o turno de trabalho;
- Sempre depois de ir ao banheiro;
- Antes e após o uso de luvas;
- Antes de beber e comer (fora do ambiente laboratorial);
- Após a manipulação de material biológico e químico;
- Ao final das atividades, antes de deixar o laboratório.

#### 6.3.2 Sequência da lavagem das mãos



#### 6.3.3 Antissepsia das mãos

Após a lavagem das mãos utilizar álcool a 70%, glicerinado ou não.

## **6.4 Regras gerais para transporte de objetos e materiais**

### **6.4.1 Procedimentos gerais de transporte de objetos e materiais**

- O transporte deve ser cuidadoso, evitando as quedas, derramamentos e vazamentos;
- O transporte de produtos químicos deve ser feito em recipientes fechados e à prova de vazamentos;
- Devem-se providenciar carrinhos e recipientes de contenção para o transporte dos materiais;
- Não manusear as garrafas pelo gargalo;
- Nunca carregar um objeto que possa impedir a visão à frente;

### **6.4.2 Procedimentos de transporte de material biológico**

#### **6.4.2.1 Transporte Interno**

Para o transporte rápido, de curta distância, as amostras devem ser colocadas em suporte para tubos (resistentes à descontaminação) e acondicionadas em caixa térmica com tampa (sem gelo) ou isopor (estes recipientes devem ser isotérmicos, quando requerido, higienizável e impermeável), com identificação do símbolo de “RISCO BIOLÓGICO”.

#### **6.4.2.2 Transporte externo**

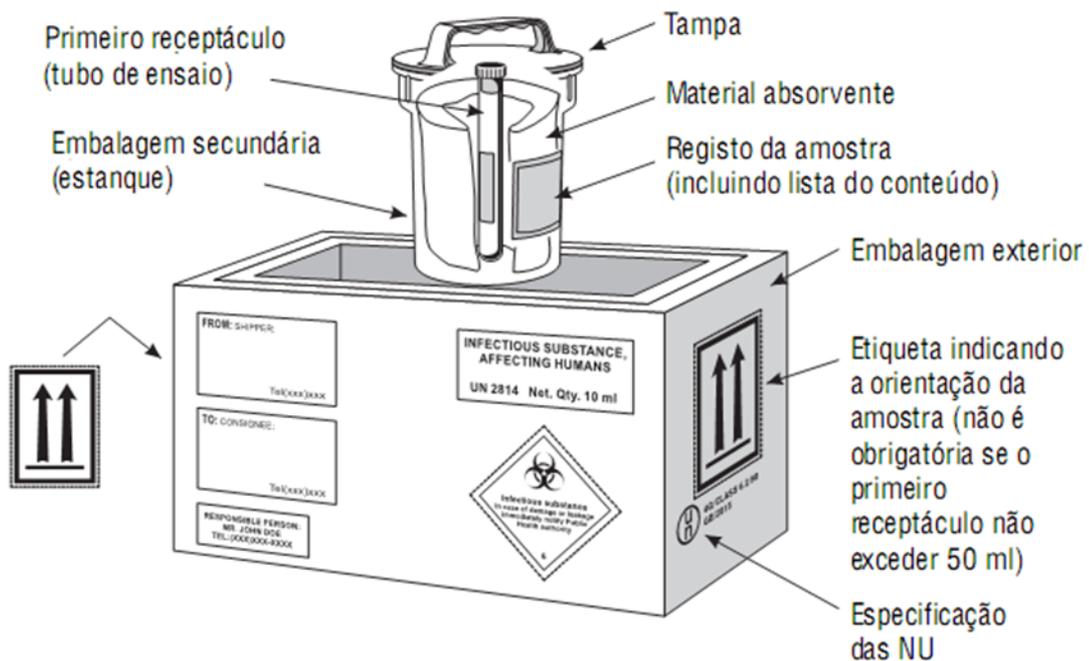
- O envio de amostras deve garantir a proteção da coletividade, dos profissionais da rede de transporte, dos técnicos e do meio ambiente, expostos a qualquer risco representado pelo material transportado;
- Sempre deve ser observada a temperatura em que a amostra deve ser transportada, a proteção solar durante o transporte e o acondicionamento adequado para impedir os derramamentos;
- Os motoristas devem ser orientados sobre os riscos e os cuidados que devem ser seguidos. Os dados pessoais do responsável pelo envio da amostra devem constar na parte externa da embalagem (como indicado abaixo e identificada com o símbolo de “RISCO BIOLÓGICO”), para que em casos de acidentes, o mesmo seja acionado com presteza e oriente sobre o procedimento de segurança aplicável:

1. Nome do responsável;
2. Destinatário;
3. Telefone;
4. Endereço.

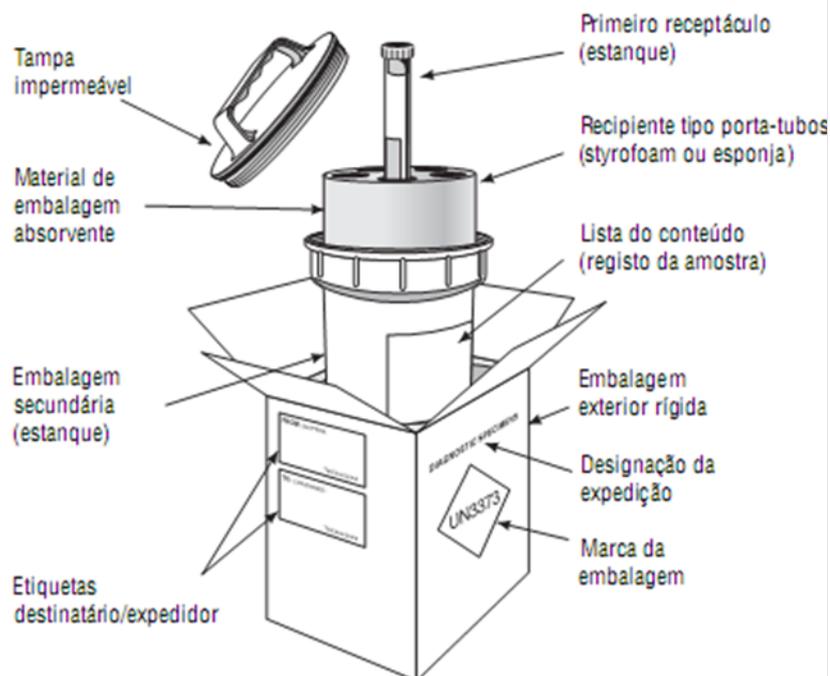
- A embalagem externa para acondicionamento deve suportar manipulações bruscas e impactos (ex. caixa de isopor e, preferencialmente, as embalagens de segurança). O importante é que sejam isotérmicos, se requerido, higienizável e impermeável;
- Deve-se garantir a contenção de todo material, principalmente líquido, dentro da embalagem interna, sem que ocorra o vazamento para a parte externa;
- Após lacrar a caixa ou o isopor, anotar o destinatário; o remetente, seu endereço e telefone, além da identificação com o símbolo de “RISCO BIOLÓGICO”;
- O gelo reciclável, utilizado para a conservação das amostras, deve ser usado com cuidado pelo risco de explosão. Para isso, não se deve vedá-la completamente. Identifica-se também a embalagem externa com símbolo de “GELO SECO”;
- Opcionalmente ao gelo seco, recomenda-se o uso de placas térmicas juntamente com papel de alta capacidade de absorção, evitando o risco de explosão;

As figuras abaixo exemplificam um sistema de embalagem tripla que é o método escolhido para o transporte de substâncias infecciosas e potencialmente infecciosas. Este sistema é composto por três elementos: o primeiro receptáculo, a embalagem secundária e a embalagem exterior.

### Embalagem e etiquetagem de substâncias infecciosas de Categoria A



### Embalagem e etiquetagem de substâncias infecciosas de Categoria B



Fonte: OMS

De acordo com a portaria nº 472, de 9 março de 2009, define que, para os fins de transporte, entende-se por substância infecciosa as substâncias a respeito das quais se sabe ou se suspeita de forma fundamentada que contenham agentes patógenos.

E ainda, as substâncias infecciosas se dividem em duas categorias:

- **Categoria A:** substância que, ao haver exposição a ela, possa ocorrer uma incapacidade permanente, perigo de vida ou constituir uma enfermidade mortal para seres humanos ou animais previamente saudáveis.

- **Categoria B:** são substâncias que não se enquadram nos critérios para sua inclusão na **Categoria A**.

## **6.5. Normas de biossegurança aplicadas a experimentos envolvendo cultura de células**

### **6.5.1. Barreiras de contenção no trabalho em cultura de células**

Antes de iniciar os procedimentos de manipulação, o pesquisador deve usar guarda-pó limpo ou descartável e sapatos fechados como contenção primária. Lavar as mãos e a parte anterior do antebraço com água e sabão, realizar antissepsia das mãos com álcool 70% (v/v) e calçar luvas cirúrgicas. Tais procedimentos são muito importantes para a manipulação de células. O profissional não deve usar anéis, pulseiras, relógios ou outros ornamentos durante as manipulações.

Células animais devem ser manipuladas usando-se as práticas e a contenção do Nível de Biossegurança 2. O trabalho deve ser realizado em Cabine de Segurança Biológica (CSB), e todo o material deverá ser descontaminado antes do descarte. A contenção secundária é obtida mediante a combinação de elementos relacionados à infraestrutura laboratorial.

### **6.5.2 Infraestrutura laboratorial**

A organização de um laboratório voltado à pesquisa com células depende da sua finalidade e do número de pessoas que nele vão trabalhar. De maneira geral, o laboratório necessita dos seguintes espaços:

- Área para lavagem e esterilização;
- Área para preparo de meios;
- Área para incubação e observação das culturas;
- Área para manipulação asséptica das culturas.

Os espaços devem estar funcionalmente distribuídos, facilitando o deslocamento de pessoal e o fluxo de materiais, com a menor circulação possível nas áreas de manipulação asséptica das culturas. A área destinada a manipulações, onde se localizam as cabines de fluxo laminar, deve ser preferencialmente fechada e limpa. Deve-se trabalhar com jaleco limpo, exclusivo para uso nessa sala.

Os equipamentos necessários também dependem das finalidades do laboratório. Nesse caso, o laboratório necessita de:

- Estufa incubadora com atmosfera de CO<sub>2</sub>;
- Autoclave;
- Deionizador de água;
- Estufa para secagem de material;
- CSB (câmara de fluxo de ar laminar estéril);
- Medidor de pH;
- Balança analítica;
- Geladeira;
- Freezer;
- Microscópio invertido;
- Agitador magnético;
- Centrífuga refrigerada;
- Banho-maria;
- Bomba de vácuo.

Para trabalhos com culturas de células, inúmeros instrumentos são necessários, tais como: câmara para contagem, pipetador automático, micropipetas, estante para tubos, além de uma variedade de vidrarias e reagentes necessários para preparo de meios de cultura e soluções. Todos esses materiais também devem ser de uso exclusivo para os trabalhos com culturas de células.

As salas devem ser sinalizadas com símbolo universal de risco biológico, com acesso restrito à equipe técnica e alunos treinados e capacitados para pesquisas envolvendo cultivo celular.

### **6.5.3 Uso correto dos equipamentos**

#### **6.5.3.1 Cabines de Segurança Biológica**

As CSB são equipamentos concebidos para proteger o operador, o ambiente laboratorial, o material de trabalho e, ou, o meio ambiente da exposição a aerossóis e salpicos resultantes do manuseio de materiais que contêm agentes infecciosos. No entanto, estes equipamentos devem ser utilizados de forma correta, caso contrário a proteção oferecida poderá ser ineficaz. Os seguintes cuidados são necessários:

- Durante o uso da CSB as portas da sala são mantidas fechadas, evitando a circulação de pessoas para que o fluxo laminar não seja perturbado;
- Fazer a descontaminação de toda a extensão da superfície interna da cabine com gaze embebida em álcool etílico ou isopropílico a 70%, sempre de cima para baixo e de trás para frente;

- As CSB são ligadas pelo menos 15 minutos antes do início das atividades e permanecem ligadas por 15 minutos após o término do seu uso, a fim de dar tempo para que o ar contaminado seja filtrado de dentro da cabine;
- Se for utilizada lâmpada ultravioleta (UV) nas cabines, estas devem ser limpas toda semana, para retirar o pó e sujidades que podem diminuir a eficácia germicida da radiação. Liga-se a lâmpada ultravioleta 20 minutos antes de usar a cabine, depois da desinfecção.
- Registrar o tempo de utilização da lâmpada em formulário próprio para controlar sua vida útil, garantindo sua eficácia. A vida útil (poder germicida) deve ser verificada consultando-se as especificações técnicas do produto junto ao fabricante;
- A luz UV é desligada quando a cabine estiver sendo ocupada no intuito de proteger olhos e pele e evitar prejuízos à saúde;
- A introdução e retirada dos braços na CSB é feita de forma cuidadosa, com movimentos sempre no sentido de fora para dentro da CSB, para que o fluxo de laminar proveniente da abertura frontal não seja perturbado;
- Os movimentos de entrada e saída da cabine devem ser minimizados, introduzindo-se previamente todos os materiais necessários antes de iniciar o trabalho;
- Usar uma mesa auxiliar ao lado da cabine, caso seja necessário um grande volume de matérias;
- O material a ser colocado dentro da cabine é desinfetado com álcool a 70%;
- Antes de iniciar o trabalho, é ajustada a altura do banco, fazendo com que a face do operador se posicione acima da abertura frontal;
- A grelha frontal na entrada das CSB Classe II não pode estar bloqueada com papel, equipamento ou outros materiais;
- Os materiais também não devem bloquear a abertura traseira da cabine;
- Os materiais são organizados de modo que os itens limpos e os contaminados não se misturem. As atividades são realizadas ao longo da superfície de trabalho, sempre no sentido da área limpa para a área contaminada;
- Não é recomendado que os recipientes para descarte de resíduos sejam colocados fora da cabine, uma vez que a frequência de movimentos “para dentro e para fora” interfere na integridade da barreira de ar da cabine e pode comprometer a proteção do operador e do produto manipulado. Como

alternativa, utilizar recipientes intermediários como a reutilização de latas limpas, que depois de fechadas podem ser autoclavadas ou colocadas nos sacos para resíduos infectantes;

- Não é permitido o uso de bicos de Bunsen dentro das CSB, uma vez que a chama perturba o fluxo de ar laminar e pode ser perigosa quando se utilizam substâncias voláteis. Caso haja a necessidade de esterilização de algum material, pode ser feito por “forninhos”.
- Todas estas atividades são realizadas com o operador devidamente protegido com guarda-pó, luvas e, se necessário, máscaras e óculos de proteção. As luvas devem cobrir os punhos do guarda-pó e não devem ficar debaixo das mangas.

**Nota:**

**Os procedimentos aqui descritos são de uso geral. A avaliação de risco do material a ser manipulado poderá indicar cuidados especiais de biossegurança.**

No que diz respeito a limpeza e desinfecção das CSB, deve-se observar:

- As CSB são utilizadas para contenção de aerossóis, logo a superfície de trabalho e as paredes do interior da cabine devem ser limpas e descontaminadas diariamente com desinfetantes. Os alcoóis etílico e isopropílico a 70% são considerados eficientes no uso diário.
- A descontaminação profunda é realizada quando o filtro absoluto HEPA é trocado (antes da troca), quando há derramamento no interior da cabine ou quando a contagem de partículas viáveis no controle ambiental da CSB estiver acima do especificado. Para descontaminação profunda e antes das trocas de filtros é utilizado o método de fumigação com formaldeído. Tal procedimento deve ser realizado por profissional técnico especializado, pois o filtro HEPA é, provavelmente, o material mais sujo/contaminado de um laboratório.

### **6.5.3.2 Centrifuga**

O bom funcionamento mecânico das centrífugas é requisito prévio de segurança biológica para a sua utilização. Estes equipamentos são operados de acordo com as instruções do fabricante. As centrífugas são colocadas em bancadas cuja altura permita que tanto usuários de baixa quanto de alta estatura possam visualizar o seu interior, possibilitando a correta disposição dos materiais a serem centrifugados. Os tubos devem ser dispostos de

maneira equilibrada para não danificar o equipamento (tubos de mesmo peso em posições correspondentes). Os rotores e os porta-tubos são inspecionados diariamente para detectar precocemente quaisquer sinais de corrosão ou presença de fendas. Os copos, rotores e cubas das centrifugas são descontaminados depois de cada utilização.

#### **6.5.3.3 Banho Maria**

Pode haver intensa multiplicação de microrganismos no interior de equipamentos de Banho-Maria. Por isso é necessário fazer a sua limpeza e desinfecção regulares (semanal ou quinzenal). Nestes procedimentos o uso de luvas e guarda-pó é obrigatório. Proceder como segue:

- a) Desligar o aparelho da tomada antes de fazer a limpeza e desinfecção;
- b) Retirar toda a água e esperar esfriar;
- c) Lavar com água e sabão as superfícies internas e externas;
- d) Enxaguar muito bem com pano embebido em água;
- e) Secar com pano limpo;
- f) Friccionar as superfícies internas e externas com pano embebido em álcool a 70%;
- g) Aguardar a completa evaporação do álcool e encher o equipamento com água destilada.

#### **6.5.3.4 Geladeiras e Freezers**

Todos os materiais guardados dentro desses equipamentos devem ser bem identificados de maneira clara e indubitável permitindo sua fácil discriminação por qualquer usuário. Não se deve usar códigos pessoais ou cifras nessa identificação. Materiais sem identificação ou antigos devem ser descontaminados e descartados.

Substâncias inflamáveis não são guardadas dentro de refrigeradores ou freezers, a não ser que este seja à prova de explosão. Se for esse o caso, colocar um aviso na porta do refrigerador para que os usuários saibam do conteúdo.

Os refrigeradores, freezers e recipientes para gelo seco devem ser descongelados e limpos periodicamente pelo pessoal técnico dos setores, nunca deixando a espessura do gelo ultrapassar 1 cm. Para isso, é necessário desligar a geladeira/freezer, retirando os materiais existentes, transferindo-os para outra geladeira/freezer ou caixa de isopor. Fazer a limpeza interna e externa com água e sabão neutro, secando após. Friccionar as superfícies internas com álcool a 70%.

Ligar a geladeira/freezer e aguardar o tempo preestabelecido pelo fabricante para equilíbrio da temperatura. Recolocar os materiais retirados gradativamente quando a temperatura atingir a preconizada. É necessário o uso de luvas térmicas apropriadas e guarda-pó para realizar estes procedimentos.

#### **6.5.3.5 Maiores detalhes**

Para maiores detalhes sobre o correto uso dos aparelhos citados e demais aparelhos existentes no laboratório, consultar o material anexo referente ao correto uso dos aparelhos existentes no LIMA.

#### **6.6 Limpeza, desinfecção e esterilização**

A superfície da área de trabalho deve sempre ser limpa, utilizando-se álcool a 70% (v/v), uma vez por dia ou, antes/após cada atividade. Em casos de derramamento de material biológico, recomenda-se o uso de água sanitária comercial (2% a 5% de cloro) diluída de 5 a 10 vezes.

Todo material aquecido no banho-maria, como meios de cultura e soluções, deve ter processo prévio de assepsia antes de sua introdução na CSB. Deve-se, ao retirar o material do banho-maria, remover o excesso de umidade com auxílio de uma gaze ou papel toalha e posterior limpeza com álcool 70% (v/v).

#### **6.7 Normas de Biossegurança Aplicadas a Experimentos de Clonagem**

De acordo com a Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005 da Constituição Federal do Brasil (<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/11992.html>) e, de acordo com definições apresentadas pelo Protocolo de Cartagena em Biossegurança da Convenção de Diversidade Biológica (Montreal, 2000), é considerado Organismo Geneticamente Modificado (OGM) todo organismo cujo material genético - DNA/RNA tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética.

Entende-se por engenharia genética qualquer atividade de produção e manipulação de moléculas de DNA/RNA recombinante, injeção direta de material genético em células ou organelas, ou fusão de células taxonomicamente distintas. Neste último, consideram-se células taxonomicamente distintas, aquelas que são facilitadas a superar barreiras de recombinação através de técnicas não naturais, processo esse que não é abrangido pela seleção natural devido às barreiras naturais fisiológicas reprodutivas.

Por fim, moléculas de DNA/RNA recombinante são moléculas manipuladas fora das células vivas mediante a modificação de segmentos de DNA/RNA natural ou sintético e que possam multiplicar-se em uma célula viva, ou ainda as moléculas de DNA/RNA resultantes dessa multiplicação; consideram-se também os segmentos de DNA/RNA sintéticos equivalentes aos de DNA/RNA natural.

Dessa forma, todo organismo vivo utilizado como receptor de material genético exógeno (podendo ou não pertencer à mesma espécie) deve ser considerado OGM e, por tanto, deve ser requerida uma autorização junto a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) para se poder manipular esses organismos.

Organismos Geneticamente Modificados podem ser classificados em dois grupos:

**- Grupo I:**

- Organismo receptor ou doador não patogênico e, ambos, isentos de agentes adventícios;
- Vetor/inserto caracterizado e de tamanho limitado, que não interfere na sobrevivência do organismo receptor e não transmite nenhum marcador de resistência;
- Organismos modificados em nível de genoma, não patogênicos.

**- Grupo II:**

- Todos aqueles não incluídos no **Grupo I**.

### **6.8 Barreiras de contenção**

Antes de iniciar os procedimentos, o usuário deve lavar as mãos e a parte anterior do antebraço com água e sabão, e realizar antisepsia das mãos com álcool 70% (v/v).

Em seguida é obrigatório o uso de jaleco, sapatos fechados, luvas cirúrgica, máscara (opcional) e, para usuários de cabelos longos, prender o cabelo (podendo fazer uso de toucas descartáveis). E ainda o usuário não deve usar anéis, pulseiras, relógios ou outros ornamentos durante as manipulações.

As células devem ser manipuladas com base nas normas previstas para Nível de Biossegurança 2. O trabalho deve ser realizado em Cabine de Segurança Biológica (CSB), e todo o material deverá ser descontaminado antes do descarte. A contenção secundária é obtida mediante a combinação de elementos relacionados à infraestrutura laboratorial.

### **6.9 Infraestrutura laboratorial**

A organização e disposição dos equipamentos e aparatos utilizados na rotina devem estar dispostas a minimizar os riscos ergonômicos, físicos e químicos, além de minimizar o trânsito de usuários dentro do ambiente. Dentre os espaços observados no laboratório, deve-se dispor de:

- Área para lavagem e esterilização - ambas podem ser dentro laboratório ou em sala anexa;
- Área para preparo de meios;
- Área para incubação e observação das culturas;
- Área para manipulação asséptica das culturas;
- Área para realizar outros procedimentos.

Os equipamentos necessários também dependem das finalidades do laboratório. Nesse caso, o laboratório necessita de:

- Cabine de Segurança Biológica;
- Centrífuga;
- Banho Maria;
- Geladeiras, Freezers e Ultrafreezer;
- Incubadora com agitação;
- Espectrofotômetro;
- Processador ultrassônico;
- Termociclador;
- Equipamento para eletroforese em gel de poliacrilamida e agarose;
- Transiluminador;
- Autoclave.

Além dos equipamentos supracitados também são necessários outros materiais como: pipetador automático, micropipetas, estante para tubos, além de uma variedade de vidrarias e reagentes necessários para preparo de meios de cultura e soluções.

As salas devem ser sinalizadas com símbolo universal de risco biológico, com acesso restrito à equipe técnica e alunos treinados e capacitados.

#### **6.10. Uso correto dos equipamentos**

A instalação e o modo de uso de cada equipamento devem obedecer estritamente às recomendações feitas pelos respectivos fabricantes. De acordo com o experimento a ser realizado, podem ser tomadas medidas preventivas que visem aumentar a segurança no uso do equipamento, desde que estas não interfiram no correto funcionamento.

Após a instalação de cada equipamento, todos os usuários que podem vir a fazer uso deste, deve receber treinamento para garantir o bom uso do equipamento, ser capaz de realizar manutenções preventivas sugeridas pelos fabricantes (as manutenções internas aos equipamentos devem ser feitas por pessoal técnico credenciado), e inspecionar frequentemente o equipamento e acessórios em busca de danos.

Recomenda-se a elaboração de um protocolo operacional que deve ficar próximo ao equipamento, para eventuais consultas. Outra cópia deve ser guardada em uma pasta de acesso comum a todos os usuários do laboratório.

#### **6.10.1 Cabine de Segurança Biológica**

Ver “**Item 6.5.3.1**”.

#### **6.10.2 Centrifuga**

Ver “**Item 6.5.3.2**”.

#### **6.10.3 Banho Maria**

Ver “**Item 6.5.3.3**”.

#### **6.10.4 Geladeiras, Freezers e Ultrafreezer**

Com relação as “Geladeiras e Freezers” ver o “**Item 6.5.3.4**”.

Cada ultrafreezer deve possuir um mapa descritivo de cada compartimento interno e, cada caixa, saco ou vasilhame armazenado deve possuir um mapa detalhado de cada item.

Os ultrafreezers devem ser abertos pelo menor tempo possível e a menor quantidade de vezes possível ao longo do dia. O usuário que realizar a abertura deve estar paramentado com EPI's termorresistentes.

#### **6.10.5 Incubadora com agitação**

Sempre respeitar os limites máximo e mínimo de temperatura e agitação. Observar que em relação à velocidade, esses limites podem variar a depender dos materiais que estão sendo colocados.

Cada tamanho de garra é projetada para segurar um determinado tamanho de frasco e com um limite de volume, cujo pode não ser o mesmo que o frasco suporte.

Para incubações com temperatura acima ou abaixo da temperatura ambiente local, recomenda-se o pré-aquecimento ou pré-resfriamento do equipamento. Durante a colocação ou retirada de matérias é obrigatório esperar a total parada da agitação e, caso o

tempo de abertura seja longo, recomenda-se o desligamento da temperatura.

Esses equipamentos possuem termostato próprio para controlar a temperatura. A partir do momento que são abertos, há troca de calor com o ambiente e o sistema de aquecimento/resfriamento é ligado. A permanência da abertura pode gerar sobre carga desse sistema ocasionando danos ao equipamento.

#### **6.10.6 Espectrofotômetro**

Os espectrofotômetros podem ser usados para diversas finalidades como: absorbância, fluorescência ou luminescência. Para cada tipo de experimento é importante verificar qual o tipo de material do recipiente que irá receber a amostra.

Alguns recipientes podem ser reaproveitados se limpos corretamente, entretanto o alto número de reutilizações pode vir a interferir na eficiência do processo. Em geral a limpeza é feita da seguinte maneira:

- 1) Retirada imediata da amostra após a leitura;
- 2) Lavar pelo menos cinco vezes com álcool 70% ou outro antisséptico que seja compatível com a amostra e o material do recipiente;
- 3) Enxaguar abundantemente com água;
- 4) Secar cuidadosamente para evitar arranhões ou outros danos.

#### **6.10.7 Processador ultrassônico**

Esse equipamento oferece alto risco físico ao usuário que está operando o equipamento e, também, aos demais usuários presentes no laboratório.

Como contenção primária, recomenda-se que a sonda (parte móvel que entra em contato com a amostra) seja utilizada dentro de uma caixa acústica fechada. Em casos onde seja necessária a abertura da caixa, o operador e os demais usuários do laboratório devem dispor de protetores auriculares.

É sabido que esse equipamento provoca aquecimento da amostra. Dessa forma recomenda-se observar quais materiais (do frasco) são compatíveis com esse procedimento e, também, pode-se colocar a amostra em contato com gelo.

#### **6.10.8 Termociclador**

Como o próprio nome já diz, termocicladores são equipamentos que oscilam de temperatura constantemente. As

temperaturas que o termociclador atinge podem provocar queimaduras pelo frio ou pelo calor. Dessa forma, não é recomendada a abertura da tampa durante o processo.

É expressamente proibido deixar termocicladores em funcionamento *overnight* ou *over weekend*. Ou ainda por longo tempo após o fim do procedimento. Para incubações em temperaturas maiores que a temperatura ambiente, pode-se utilizar o banho Maria. Já para incubações a baixa temperatura recomenda-se o uso de geladeiras ou freezers.

#### **6.10.9 Eletroforese**

Os procedimentos de eletroforese, de poliacrilamida (especialmente na forma sólida) ou de agarose, envolvem etapas de manuseio de químicos e físicos danosos à saúde do operador, dos usuários presentes e até do meio ambiente, em casos de acidentes.

Em casos de acidentes, como derramamento de reagentes (líquido ou sólido) ou contato com o usuário, a lavagem e descontaminação pode não ser suficiente, mas deve, obrigatoriamente, ser a primeira atitude tomada. Em seguida e os usuários presentes devem ser informados, seguidamente pelo pesquisador responsável.

As atitudes sequenciais a serem tomadas devem ser de acordo com o necessário para cada reagente. Dessa forma os usuários devem ter conhecimento dos procedimentos profiláticos recomendados pelos fabricantes, ficando recomendada a procura por ajuda médica de acordo com cada caso.

#### **6.10.10 Transiluminador**

O transiluminador é uma fonte de radiação ultravioleta, a qual pode ser danos à saúde.

Alguns modelos possuem, acoplado, uma caixa escura com câmera que permite visualização por computador, aumentando a proteção do usuário.

Modelos mais simples que não possuem câmera, são de visualização direta. Estes tem potencial para causar mais danos. No caso de simples visualizações, a tampa do transiluminador deve estar fechada, antes de ligá-lo. Em caso onde seja necessário o manuseio do gel, o usuário deve dispor de protetor facial e os braços devem estar completamente cobertos pelo jaleco, o qual deve estar preso às luvas. O tempo de exposição do usuário deve ser o mínimo possível, independente de necessitar manusear ou não.

Ademais, esse equipamento é associado a contaminações por Brometo de Etídio, um reagente carcinogênico. Dessa forma os

cuidados devem ser redobrados e as luvas utilizadas nesse procedimento devem ser descartadas imediatamente após o término e o usuário deve deixar as mãos em água corrente por alguns minutos, e em seguida lavar.

Atualmente já existem tecnologias que substituem o Brometo de Etídio e que são menos danosas à saúde. Por tanto, recomenda-se a substituição desse reagente, como por exemplo, *GelRed* ou *GelGreen*.

#### **6.10.11 Autoclave**

Não é obrigatório que o laboratório possua autoclave própria, porém, devido à presença de OGM's e materiais contaminados com esses microrganismos, ou partes/produtos de OGM's, recomenda-se que uma autoclave seja destinada exclusivamente para realizar a descontaminação dos materiais antes da lavagem/descarte.

Caso não seja viável a aquisição de uma autoclave para essa função, pode-se optar por estocar todo o material contaminado ao longo de um curto período (no máximo uma semana) e, em um dia, realizar apenas a descontaminação desses materiais. Após a descontaminação:

- 1) Retirar todos os acessórios (se houver) e remover toda a água;
- 2) Lavar cada acessório com detergente neutro, bem como as partes internas da autoclave, não esquecendo a tampa;
- 3) Secar bem e realizar assepsia com álcool 70%;
- 4) Esperar secar, reabastecer a autoclave com água e recolocar os acessórios;
- 5) Realizar um ciclo completo de esterilização sem nenhum material.

#### **6.10.12 Maiores detalhes**

Para maiores detalhes sobre o correto uso dos aparelhos citados e demais aparelhos existentes no laboratório, consultar o material anexo referente ao correto uso dos aparelhos existentes no LIMA.

#### **6.11 Limpeza, desinfecção e esterilização**

Ver **Item 6.6.**

#### **6.12 Normas de Biossegurança para Expressão Heteróloga e Purificação**

Organismos Geneticamente Modificados que receberam as construções de expressão heteróloga pretendida estão prontos para servirem ao seu propósito, sendo submetidos à indução da expressão diferencial. Nesse ínterim devem ser observados os cuidados no tocante à biocontenção dos OGMs (principalmente no momento do descarte) e em relação ao uso correto dos equipamentos.

### **6.12.1 Avaliação de risco**

Devem ser analisadas as seguintes características do microrganismo que recebeu o cassete de expressão:

- Patogenicidade, inclusive virulência, infectividade e produção de toxinas;
- Nível de expressão pretendido em relação à toxicidade para os usuários;
- Consequências da exposição ao produto gênico e ao OGM.

Para atender às considerações supracitadas, deve-se fazer a seguintes avaliações:

- Mutações inerentes ao microrganismo hospedeiro podem ser camufladas em razão da inserção do cassete de expressão heteróloga?
- O material genético heterólogo pode provocar mudança de patogenicidade no microrganismo hospedeiro?
- A susceptibilidade do OGM aos antibióticos ou outras formas de terapia será afetada em função das modificações genéticas feitas?

As conclusões sobre como proceder, em termos de segurança, em cada sistema de expressão proposto (incluindo o tratamento escolhido em casos onde se aplique) devem ser tomadas antes de serem iniciados os trabalhos.

### **6.12.2 Uso correto dos equipamentos**

### **6.12.3 Cabine de segurança biológica**

Ver **Item 6.5.3.1.**

### **6.12.4 Processador Ultrassônico**

Ver **Item 6.10.7.**

### **6.12.5 Vórtex**

Todo o material submetido à agitação no vórtex deve ser firmemente tampado a fim de evitar a propagação do aerossol formado. Do mesmo modo, deve-se aguardar alguns minutos antes da abertura do material.

### **6.12.6 Incubadora com agitação**

Ver **Item 6.10.5.**

### **6.12.7 Eletroforese**

Ver **Item 6.10.9.**

### **6.12.8 Cromatografia**

Os procedimentos realizados no FPLC (*Fast Protein Liquid Chromatography - GE Healthcare*) devem observar as recomendações especificadas pelo fabricante. O usuário deve atentar principalmente às exigências em relação à rotina de limpeza do aparelho e dos tubos e conexões.

Apesar de o equipamento ser operado mediante o uso de *software* em computador, deve-se usar luvas durante as trocas de tampões, inserção/retirada de colunas e manuseio de amostras.

Recomenda-se a verificação periódica do usuário durante o processo, mesmo que automatizado, a fim de constatar eventuais problemas.

#### **6.12.9 Diálise**

A diálise da amostra purificada deve ser procedida com os devidos cuidados, especialmente no tocante à preparação do tampão, pois o mesmo pode exigir, em sua composição, reagentes tóxicos. Se pertinente, a solução deve ser preparada em cabine de exaustão para evitar escapamento de aerossóis gerados durante a agitação na dissolução dos componentes.

#### **6.12.10 Maiores detalhes**

Para maiores detalhes sobre o correto uso dos aparelhos citados e demais aparelhos existentes no laboratório, consultar o material anexo referente ao correto uso dos aparelhos existentes no LIMA.

### 6.13. Procedimentos Gerais de Limpeza e Manutenção

<b>Equipamento</b>	<b>Diário</b>	<b>Semanal</b>	<b>Mensal</b>	<b>Semestral</b>	<b>Anual</b>
<b>Autoclave</b>	Registrar uso, limpeza	Ver válvula de segurança	Limpar drenos e selos		
<b>Banho Maria</b>	Registrar temperatura, checar quebras e vazamentos, checar nivelamento de água, contaminações e depósitos		Drenar e limpar	Drenar e remover minerais acumulados	
<b>Cabine de segurança biológica</b>	Checar fluxo de ar, checar pressão e limpar com álcool 70%	Checar luz UV	Limpar e desinfetar área das calhas com álcool 70%		Realizar manutenção preventiva completa certificada pelo fabricante
<b>Centrifugadora</b>	Balancear interior, registrar temperatura, limpar interior com álcool 70% após uso	Checar ventoinhas, limpar todas as partes com álcool 70%	Aspirar poeira das molas, condensador, ventilador e filtros, checar conexões elétricas	Calibrar velocidade	
<b>Estufas</b>	Checar temperatura, chegar CO <sub>2</sub>	Checar umidade	Limpar interior	Checar tubulações, sistema de ventilação e nivelamento de umidade	
<b>Microscópio</b>	Limpar todo óleo quando usado, cobrir com capa para evitar poeira		Remover poeira e sujeira, limpar lentes.	Limpar, lubrificar e inspecionar todas as partes do aparelho	
<b>pHmetro</b>	Calibrar com os padrões, checar soluções do eletrodo, enxugar eletrodo		Limpar todo o equipamento e verificar conexões elétricas	Se necessário substituir ou recondicionar o eletrodo	

<b>Freezer e geladeiras</b>		Verificar temperatura	Descongela a geladeira e limpa	Descongela Freezer e limpa	Chegar nivelamento da unidade, chegar sistema de alarme para temperatura
<b>Filtro de ar condicionado</b>			Água, sabão neutro e Solução de hipoclorito 1%		

# 1. Mapa de risco

Segundo a portaria n.º 25, de 29 de dezembro de 1994, o mapa de risco deve; reunir as informações necessárias para estabelecer o diagnóstico da situação de segurança e saúde no trabalho e possibilitar, durante a sua elaboração, a troca e divulgação de informações entre os trabalhadores, bem como estimular a sua participação nas atividades de prevenção.

Para se elaborar um mapa de risco deve-se conhecer o processo de trabalho no local analisado como: o número, sexo, idade e a capacitação de cada trabalhador, além de saber quais são os instrumentos e materiais utilizados e as atividades exercidas no local de trabalho. Também deve ser identificado os riscos existentes no local de trabalho conforme a classificação da tabela 1. Após a classificação tem que ser feita a identificação das medidas preventivas e sua eficácia (Proteção coletiva, organizacional e individual), bem como medidas de higiene e conforto; banheiro, lavatórios, vestiários, armários, bebedouro e refeitório. Para uma melhor identificação de risco a saúde, uma identificação dos indicadores de saúde terá que ser elaborada indicando; queixas mais frequentes e comuns entre os trabalhadores expostos aos mesmos riscos, acidentes de trabalho ocorridos, doenças profissionais diagnosticadas e as causas mais frequentes de ausência ao trabalho. Assim pode ser feito os levantamentos ambientais já realizados no local e a elaboração do Mapa de Riscos, indicando na planta do local em formato de círculos, o grupo a que pertence o risco, de acordo com a cor padronizada na Tabela 1, o número de trabalhadores expostos ao risco, o qual deve ser anotado dentro do círculo, a especialização do agente (por exemplo: químico-silica, hexano, ácido clorídrico, ou argonômico repetitividade, ritmo excessivo) que deve ser anotada também dentro do círculo, a Intensidade do risco, de acordo com a percepção dos trabalhadores, que deve ser representada por tamanhos diferentes de círculos e causas mais frequentes de ausência ao trabalho.

Após discutido e aprovado por uma Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA), o mapa de risco, total ou setorial, deverá ser afixado em cada local analisado, de forma claramente visível e de fácil acesso para os trabalhadores. Lembrando que o mapa de risco deve ser reavaliado sempre que um fato novo e superveniente, modificar a situação de riscos estabelecida.

Tabela 1: Classificação dos principais riscos ocupacionais em grupos, de acordo com a sua natureza e a padronização das cores correspondentes

GRUPO 1 VERDE	GRUPO 2 VERMELHO	GRUPO 3 MARROM	GRUPO 4 AMARELO	GRUPO 5 AZUL
Riscos Físicos	Riscos Químicos	Riscos Biológicos	Riscos Ergonômicos	Riscos Acidentes
Ruídos	Poeiras	Vírus	Esforço físico intenso	Arranjo físico inadequado
Vibrações	Fumos	Bactérias	Levantamento e transporte manual de peso	Máquinas e equipamentos sem proteção
Radiações ionizantes	Névoas	Protozoários	Exigência de postura inadequada	Ferramentas inadequadas ou defeituosas
Radiações não ionizantes	Neblinas	Fungos	Controle rígido de produtividade	Iluminação inadequada
Frio	Gases	Parasitas	Imposição de ritmos excessivos	Eletricidade
Calor	Vapores	Bacilos	Trabalho em turno e noturno	Probabilidade de incêndio ou explosão
Pressões anormais	Substâncias, compostas ou produtos químicos em geral		Jornadas de trabalho prolongadas	Armazenamento inadequado
Umidade			Monotonia e repetitividade	Animais peçonhentos
			Outras situações causadoras de stress físico e/ou psíquico	Outras situações de risco que poderão contribuir para a ocorrência de acidentes

## 8. Sinalizações

### 8.1 Regras gerais de armazenamento de produtos

#### 8.1.1 Procedimentos gerais para armazenamento de produtos

- Não sobrecarregar o local de armazenamento;
- O local de armazenamento deve ser separado do local de trabalho;
- Guardar produtos pesados e de maior volume em prateleiras ou armários mais baixos;
- Os produtos armazenados devem estar devidamente identificados;
- Guardar objetos cortantes e pontiagudos e caixas específicas;

#### 8.1.2 Procedimentos de armazenamento de produtos químicos

- Armazenar apenas as quantidades absolutamente necessárias de reagentes e solventes dentro dos laboratórios. Para grandes quantidades, fazer uso de almoxarifados devidamente acondicionados;
- Não retornar reagentes aos frascos originais;
- A organização dos frascos deve observar a incompatibilidade dos reagentes, para evitar reações e consequente geração de produtos tóxicos, letais, inflamáveis, corrosivos, etc. Estocar substâncias químicas por ordem alfabética é expressamente proibido. Separar:
  - Inflamáveis, oxidantes, ácidos e bases;
  - Família de orgânicos e inorgânicos;
  - Família em grupos compatíveis;
  - Só então, pode-se adotar ordem alfabética.
- As prateleiras ou armários de armazenagem dos produtos devem ser identificados, informando a classe dos produtos;
- O tipo de material das prateleiras e armários deve ser compatível com os reagentes;

- É vedado o armazenamento de produtos químicos em lugares de acesso comum;
- É vedado o abandono de frascos de produtos químicos, ainda que vazios, nos corredores ou em quaisquer outras áreas. O profissional que o utilizou é responsável pelo seu correto descarte;
- Todos os reagentes, soluções e produtos químicos fracionados em alíquotas para uso geral ou individual, devem ser adequadamente embalados e identificados;
- A rotulagem original do fabricante na embalagem original dos produtos químicos deve ser mantida;
- Recomenda-se a confecção de rótulos adicionais contendo informações sobre procedimentos em caso de acidentes;
- Substâncias tóxicas, os líquidos e frascos grandes devem ser armazenados nas prateleiras mais baixas, se possível, rentes ao chão.

## 8.2 Manipulação de produtos químicos

Considera-se manipulação de produtos químicos desde a abertura de sua embalagem, até o descarte da mesma, após todo o produto ter sido utilizado.

Antes da abertura do produto é importante informar-se sobre a data de validade, o correto manuseio, local de armazenamento após aberto, se sofre influencia de luz e, ou, temperatura e, principalmente, como descartar cada alíquota usada e o frasco, após o termino.

## 8.3 Sinalizações

Todos os símbolos abaixo devem ser entendidos e observados em quais locais se apresentam no ambiente. Observar também a presença de outros tipos de sinalizações, inclusive as que são próprias de cada laboratório.



Corrosivo



Explosivo



Inflamável



Perigoso para o ambiente



Comburente



Radioactivo



Tóxico



Irritante



Nocivo



Mutagénico

Fonte: OMS

- **Corrosivo:** Estes produtos químicos causam destruição de tecidos e, ou, materiais inertes. Precaução: não inalar e evitar o contato com a pele, olhos e roupas.
- **Explosivo:** Substâncias que podem explodir com choque físico ou calos. Precaução: evitar batidas, empurrões, fricção, faísca e calor.
- **Inflamável:** Substâncias que podem pegar fogo com calor ou faísca. Precaução: evitar contato com materiais ignitivos.
- **Perigoso para o ambiente:** A liberação dessa substância na natureza pode provocar dano ao ecossistema a curto ou longo prazo. Precaução: devido ao seu risco em potencial, não deve ser liberado em encanamentos, no solo ou no ambiente.
- **Comburente:** Substâncias que podem acender ou facilitar a combustão, impedindo o combate ao fogo. Precaução: evitar o contato com materiais combustíveis.
- **Radioativo:** Aqueles capazes de emitir partículas ou radiações, por características de instabilidade de seu núcleo atômico. Precaução: utilizar roupas luvas e blindagens apropriadas e em caso de acidente, lavar abundantemente em água corrente.
- **Tóxico:** Substâncias e preparações que, por inalação, ingestão ou penetração cutânea, podem implicar riscos graves, agudos ou crônicos, e mesmo a morte. Precaução: todo o contato com o corpo humano deve ser evitado.
- **Irritante:** Substâncias e preparações não corrosivas que, por contato imediato, prolongado ou repetido com a pele ou as mucosas, podem provocar uma reação inflamatória. Precaução: gases não devem ser inalados e o toque com a pele e olhos deve ser evitado.
- **Nocivo:** Substâncias e preparações que, por inalação, ingestão ou penetração cutânea, podem implicar riscos de gravidade limitada. Precaução: deve ser evitado o contato com o corpo humano, assim como a inalação dessa substância.
- **Mutagênico:** Substâncias e preparações que pode causar mutação. Precaução: deve ser evitado o contato com o corpo humano, assim como a inalação dessa substância.

## **9 Riscos**

### **9.1 Procedimentos gerais para controle de aerossóis**

- Evitar procedimentos que produzam uma grande quantidade de aerossóis, como aqueles formados sob agitação;
- Aguardar alguns minutos antes de abrir equipamentos como processador ultrassônico, centrífuga, vórtex, liquidificador, homogeneizador e outros que trabalham sob agitação;
- O mesmo cuidado deve ser tomado quando abrir recipientes com amostras biológicas, amostras pulverizadas ou produtos químicos. Estes devem estar voltados para direção contrária ao rosto, sempre com o uso de equipamentos de proteção;
- Quando houver derramamento de material biológico, esperar assentar, cobrir com papel absorvente e só então, colocar o desinfetante, além de realizar todo o procedimento de descontaminação;
- Manter garrafas, principalmente, de produtos voláteis, e tubos fechados;
- Ficar atento às condições de falta de segurança e, se for o caso, implementar ações corretivas;

- **O processo de avaliação de risco é dinâmico e contínuo. Ele deve ser constantemente revisto em função das atividades de pesquisa realizadas.**

## **9.2 Riscos Físicos**

Os riscos físicos estão associados à quantidade e tipos de equipamentos presentes nos laboratórios, presença de radiações, pressão anormal, umidade, calor, ruídos, fluxo de pessoas, etc.

O manuseio de matérias de vidro deve obedecer a resistência mecânica e química do item. Por exemplo: não armazenar álcali, nunca levar um frasco direto a chama ou nunca utilizar parte do corpo para servir de apoio ao manusear um frasco.

Durante a lavagem da vidraria, recomenda-se utilizar material amortecedor na superfície da pia, utilizar luvas com material antiderrapante e verificar a impossibilidade de uso de detergentes comuns para limpeza de vidrarias utilizadas em determinados experimentos.

Equipamentos geradores de calor devem ser cuidadosamente instalados em locais apropriados e obedecendo às especificações do fabricante. A bancada onde será instalado o equipamento deve ser termorresistente, não instalar equipamentos geradores de calor próximos a equipamentos termossensíveis nem próximos de refrigeradores.

Já para os equipamentos de baixa temperatura, como câmeras frias, ultrafreezers e manuseio de nitrogênio líquido ou gelo seco, é recomendado o menor tempo de exposição possível, devidamente agasalhado (no caso de câmeras frias), e estar atento à resistência do vasilhame de transporte em relação a baixas temperaturas.

Para equipamentos e instrumentos que possam perfurar ou cortar, deve-se utilizar luvas adequadas e tomar os devidos cuidados na manipulação. Nunca voltar o instrumento contra o próprio corpo e apoiar em superfície firme antes de iniciar o trabalho.

Equipamentos que utilizam gás comprimido podem ter vazamentos. Mesmo o gás sendo inerte, pode haver risco de explosão devido a vazamentos e ou rachaduras. Sendo assim faz-se necessário realizar vistoria/manutenção periódicas.

## **9.3. Procedimentos em casos de acidentes**

Em caso de derramamento de material biológico:

- O local precisa ser imediatamente identificado com alerta de RISCO e isolado;

- Cobrir a área de derramamento completamente com material absorvente e aplicar solução de hipoclorito concentrado. Após 30 minutos, deve ser iniciado o procedimento de limpeza;
- Utilize material absorvente descartável (toalhas de papel, compressas de gaze, panos de limpeza) para absorver o derramamento. Se o volume derramado for grande, pode ser usado material absorvente granulado para absorver o líquido.

Se o derramamento contiver vidro quebrado ou outros objetos:

- Esses devem ser descartados sem contato manual direto. Podem ser usadas folhas rígidas de cartão ou pás de lixo plásticas, dotadas de dispositivo para impulsionar os detritos em um recipiente para recolhê-los; ou usar pinças;
- Estas deverão ser descartadas juntamente com os objetos num recipiente apropriado para material com risco biológico e à prova de perfurações.

Se houver a possibilidade de formação de gotas (ex: quebra dentro da centrífuga):

- Deve permanecer fechado durante pelo menos meio hora a fim de permitir que as gotas assentem, antes de se iniciar a descontaminação;
- Absorver a maior parte do líquido antes da limpeza;
- Enxaguar o local do derramamento com água a fim de remover produtos químicos nocivos ou odores;
- Secar o local do derramamento para prevenir escorregões;
- Todo material descartável utilizado na descontaminação precisa ser esterilizado antes de ser descartado.

#### **9.4. Procedimento pós-exposição a materiais biológicos:**

- Comunicar imediatamente um representante da comissão de Biossegurança ou responsável pelo laboratório;
- Aplicar solução antisséptica sobre a região exposta ao agente potencialmente infectante percutânea ou cutânea (PVPI, álcool iodado ou álcool 70%) e na mucosa oral, utilizar clorexidina a 4%, deixando em contato por um tempo mínimo de 15 minutos;
- Nas exposições de mucosas e olhos, deve-se lavar exaustivamente com água ou solução fisiológica;

#### **9.5. Procedimento pós-exposição a materiais físicos e químicos:**

- Fogo:
  - Em caso do fogo irromper em um béquer ou balão de reação, basta tapar o frasco com uma rolha, toalha ou vidro de relógio, de modo a impedir a entrada de ar;
  - Quando o fogo atingir a roupa de uma pessoa algumas técnicas são possíveis:
    - Levá-la para debaixo do chuveiro;

→ Há uma tendência de a pessoa correr, aumentando a combustão, neste caso, deve derrubá-la e rolá-la no chão até o fogo ser exterminado; melhor, no entanto é embrulhá-lo rapidamente em um cobertor para este fim;

→ Pode-se também usar o extintor de CO<sub>2</sub>, se este for o meio mais rápido;

- Jamais use água para apagar o fogo em um laboratório. Use extintor de CO<sub>2</sub> ou de pó químico;

- Fogo em sódio, potássio ou lítio, use extintor de pó químico (não use o gás carbônico - CO<sub>2</sub>); também se pode usar os reagentes carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ou cloreto de sódio (NaCl - sal de cozinha).

**OBS.:** Areia não funciona bem para Na, K e Li. Água reage violentamente com estes materiais.

- Ácidos:

- Ácido sulfúrico: derramado sobre o chão ou bancada pode ser rapidamente neutralizado com carbonato ou bicarbonato de sódio em pó;

- Ácido Clorídrico: derramado será neutralizado com amônia, que produz cloreto de amônio, em forma de névoa branca.

- Ácido nítrico: reage violentamente com álcool.

- Compostos Voláteis de Enxofre:

- Enxofre: tipo mercaptanas, resíduos de reação com DMSO são capturados em "trap" contendo solução a 10% de KMnO<sub>4</sub> alcalino;

- H<sub>2</sub>S: que se desprende de reações pode ser devidamente capturado em "trap" contendo solução a 2% de acetato de chumbo aquoso.

Em casos de acidentes, sejam eles, físicos, químicos ou biológicos, é recomendada a confecção de um cartaz contendo as seguintes informações:

Corpo de bombeiros/UFV: 3899-2119 ou 3899-2120

Divisão de Saúde: 3899-2340

Farmácia/ASBEN: 3899-3240

Hospital S. Sebastião: 3891-1620

Hospital S.J. Batista: 3891-3403 ou 3891-3406

Plantão CEMIG: 116

Polícia Civil (delegacia): 3891-1616

Polícia Militar: 3891-1774

Posto de Saúde: 3899-5023

Pronto-Socorro: 192

Vigilância 24h da Ufv: **4000** ou 3899-2122

# 10 Resíduos

## 10.1 Classificação

Os resíduos gerados ele podem ser classificados como descritos na tabela abaixo:

Tabela 2: Classificação dos resíduos gerados. Fonte: Gerenciamento de Resíduos UFV

<b>CLASSE DO RESÍDUO</b>	<b>DEFINIÇÃO</b>

Explosivos	O resíduo gerado é capaz de produzir gás, por reação química com tal temperatura, pressão e velocidade capaz de causar danos à sua volta. É capaz de produzir efeito de calor, luz, som, gás ou fumaça, ou combinação desses, como resultado de reações químicas exotérmicas.
Gases	Há produção de gás que é armazenado para descarte em seu laboratório; possuindo as características: gás comprimido, gás liquefeito, gás liquefeito refrigerado, gás em solução, gás inflamável, gás não inflamável e não tóxico, e gás tóxico.
Líquidos inflamáveis	O resíduo gerado é um líquido, mistura de líquidos ou líquido que contenha sólidos em suspensão capaz de produzir vapor inflamável a temperatura de até 60,5°C em ensaio de vaso fechado ou até 65,6°C em ensaio de vaso aberto, normalmente referido como ponto de fulgor. É explosivo dissolvido ou suspenso em água ou noutras substâncias líquidas, para formar misturas líquidas homogêneas que suprima suas propriedades explosivas.
Sólidos inflamáveis; substâncias sujeitas a combustão espontânea; substâncias que, em contato com água, emitem gases inflamáveis	O resíduo gerado é facilmente combustível ou que, por atrito, possa causar fogo ou contribuir para tal. O produto gerado sofre reação fortemente exotérmica; está sujeito a aquecimento espontâneo ou pode inflamar-se em contato com o ar; o produto gerado em contato com a água pode tornar-se espontaneamente inflamável ou liberar gases inflamáveis em quantidades perigosas.
Substâncias	O produto gerado é capaz de

oxidantes	liberar oxigênio por um tempo muito grande, mesmo depois de armazenado, causando a combustão de outros materiais ou contribuindo para isso.
Peróxidos orgânicos	O produto gerado contém estrutura bivalente do oxigênio -O-O- e pode ser considerado derivado de peróxidos de hidrogênio, em que um ou ambos os átomos de hidrogênio foram substituídos por radicais orgânicos.
Substâncias tóxicas	Seu produto é capaz de provocar morte, lesões graves ou danos à saúde humana, se ingerido ou inalado, ou se entrar em contato com a pele.
Radioativos	Seu resíduo é proveniente de reagente radioativo.
Corrosivos	Seu produto, por ação química, causa severos danos quando em contato com tecidos vivos. Em caso de vazamento, danifica ou mesmo destrói outras cargas ou o próprio veículo.
Substâncias infectantes	Seu produto contém patógenos ou está sob suspeita razoável. Patógenos são microrganismos (incluindo bactérias, vírus, rickettsias, parasitas, fungos) ou microrganismos recombinantes (híbridos ou mutantes) que possam ou estejam sob suspeita razoável de poderem provocar doenças infecciosas em seres humanos ou em animais.
Substâncias infectantes - A1	Culturas e estoques de microrganismos; resíduos de fabricação de produtos biológicos, exceto os hemoderivados; descarte de vacinas de microrganismos vivos ou atenuados; meios de cultura e instrumentos utilizados para

	transferência; inoculação ou mistura de culturas; resíduos de laboratórios de manipulação genética; microrganismos com relevância epidemiológica e risco de disseminação ou causador de doença emergente; bolsas transfusionais contendo sangue ou hemocomponentes rejeitadas por contaminação ou por má conservação ou com prazo de validade vencido; sobras de amostras de laboratório contendo sangue ou líquidos corpóreos, recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, contendo sangue ou líquidos corpóreos na forma livre.
Substâncias infectantes - A2	Carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais submetidos a processos de experimentação com inoculação de microrganismos, bem como suas forrações, e os cadáveres de animais suspeitos de serem portadores de microrganismos de relevância epidemiológica e com risco de disseminação, que foram submetidos ou não a estudo anátomo-patológico ou confirmação diagnóstica.
Substâncias infectantes - A3	Peças anatômicas (membros) do ser humano; produto de fecundação sem sinais vitais, que não tenha valor científico ou legal e não tenha havido requisição pelo paciente ou familiares.
Substâncias infectantes - A4	Kits de linhas arteriais, endovenosas e dialisadores. Filtros de ar e gases aspirados de área contaminada; membrana filtrante de equipamento médico-hospitalar e de pesquisa. Resíduos de tecido adiposo proveniente de lipoaspiração. Lipoescultura ou outro procedimento de cirurgia plástica que gere este tipo de

	<p>resíduo. Sobras de amostras de laboratório e seus recipientes contendo fezes, urina e secreções, provenientes de pacientes que não apresentem relevância epidemiológica e risco de disseminação, ou microrganismo causador de doença emergente. Recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, que não contenha sangue ou líquidos corpóreos na forma livre. Peças anatômicas (órgãos e tecidos) e outros resíduos provenientes de procedimentos cirúrgicos ou de estudos anatomo-patológicos ou de confirmação diagnóstica. Carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais não submetidos a processos de experimentação com inoculação de microrganismos, bem como suas forrações. Bolsas transfusionais vazias ou com volume residual pós-transfusão.</p>
Substâncias infectantes - A5	<p>Órgãos, tecidos, fluidos orgânicos, materiais perfurocortantes ou escarificantes e demais materiais resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais, com suspeita ou certeza de contaminação com príons.</p>

### **10.2. 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.

### **10.3. Acondicionamento**

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

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 sacos resistentes à ruptura e vazamento e impermeáveis, de acordo com a NBR 9191/2000 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Deve ser respeitado o limite de peso de cada saco, além de ser proibido o seu esvaziamento ou reaproveitamento.

Colocar os sacos em coletores de material lavável, resistente ao processo de descontaminação utilizado pelo laboratório, com tampa provida de sistema de abertura sem contato manual, e possuir cantos arredondados.

#### 10.4. Identificação

Esta etapa do manejo dos resíduos permite o reconhecimento dos resíduos contidos nos sacos e recipientes, fornecendo informações ao correto manejo dos resíduos.

Os sacos de acondicionamento, os recipientes de coleta interna e externa, os recipientes de transporte interno e externo, e os locais de armazenamento devem ser identificados de tal forma a permitir fácil visualização, de forma indelével, pode-se utilizar símbolos, cores e frases, atendendo aos parâmetros referendados na norma NBR 7.500 da ABNT.

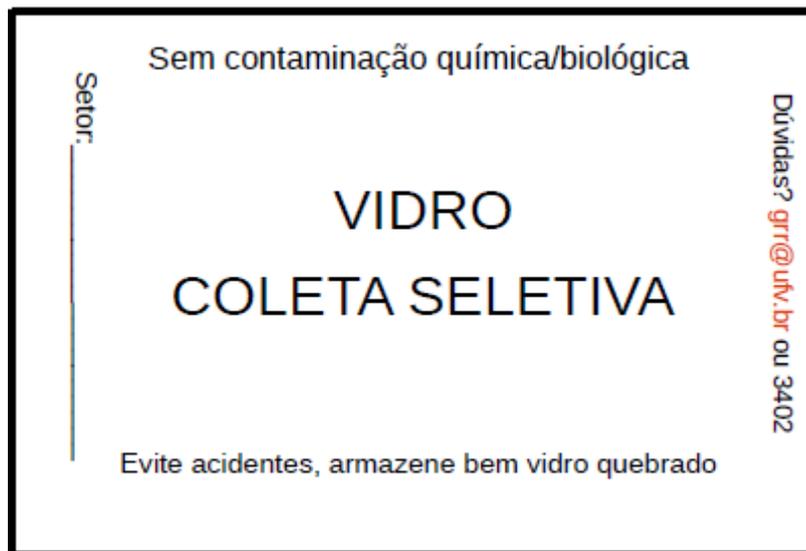
A UFV dispõe de uma rotulagem padrão oferecida pela pró-reitoria de administração no setor de gerenciamento de resíduos (GRR). Este padrão é o recomendado para ser utilizado no laboratório.

Abaixo seguem os modelos de etiquetas padrão para identificação dos resíduos armazenados oferecidos pelo GRR.

- Modelo de rótulo de coletores do tipo frasco e sacos:

		<b>UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA</b> <b>PRÓ-REITORIA DE ADMINISTRAÇÃO</b> <b>GERÊNCIA DE RESÍDUOS E REJEITOS</b>		Data: / /
		Unidade Geradora/Departamento	Laboratório	
Responsável				
Composição principal				
Quantidade		Observações: Evitar misturas complexas; Os frascos devem ser preenchidos até 2/3 de sua capacidade.		

- Modelo de rótulo para coleta de vidro:



### **10.5. Transporte Interno de Resíduos**

Esta etapa consiste no traslado dos resíduos dos pontos de geração até local destinado ao armazenamento temporário ou armazenamento externo com a finalidade de apresentação para a coleta.

### **10.6. 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. Não pode ser feito armazenamento temporário com disposição direta dos sacos sobre o piso, sendo obrigatória a conservação dos sacos em recipientes de acondicionamento.

O armazenamento temporário pode ser dispensado nos casos em que a distância entre o ponto de geração e o armazenamento externo justifique.

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 12235 da ABNT.

### **10.7. Tratamento**

O tratamento preliminar consiste na descontaminação dos resíduos (desinfecção ou esterilização) por meios físicos ou químicos, realizado em condições de segurança e eficácia comprovada, no local de geração, a fim de modificar as características químicas, físicas ou biológicas dos resíduos e promover a redução, a eliminação ou a neutralização dos agentes nocivos à saúde humana, animal e ao ambiente.

Os sistemas de tratamento térmico por incineração devem obedecer ao estabelecido na Resolução CONAMA nº. 316/2002.

### **10.8. 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. Neste local não é permitido a manutenção dos sacos de resíduos fora dos recipientes ali estacionados.

### **10.9. Coleta e Transporte Externo**

É proibido o descarte de qualquer tipo de material sem que o mesmo seja descontaminado. Materiais que não possuem protocolo para descontaminação no laboratório devem ser armazenados e identificados de acordo com a necessidade para cada reagente (as informações podem ser obtidas junto à folha de dados que acompanha o reagente ou na GRR da UFV). A própria GRR é a responsável por realizar o correto descarte desses materiais. Abaixo segue a ficha de solicitação de coleta fornecida pela GRR, que está disponível no link: [http://www.ppo.ufv.br/wp-content/uploads/2014/01/Solicitacao\\_Coleta\\_Residuos\\_GRR\\_preenchimento.pdf](http://www.ppo.ufv.br/wp-content/uploads/2014/01/Solicitacao_Coleta_Residuos_GRR_preenchimento.pdf)

Após o preenchimento correto, a ficha deve ser salva e enviada para o e-mail:

[grr@ufv.br](mailto:grr@ufv.br)

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA PRO-REITORIA DE ADMINISTRAÇÃO DIRETORIA DE LOGÍSTICA E SEGURANÇA	Programa de Gerenciamento de Resíduos Perigosos
		Solicitação de Coleta nº: _____

Coleta de Resíduos e Resíduos Tóxicos - gr@ufv.br - (31) 3899-2402 e (31) 3899-1022

Identificação do Solicitante	
Solicitante:	Matrícula:
Telefone:	Data da Solicitação:    /    /
Existe um horário preferencial de coleta?	
<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Manhã <input type="checkbox"/> Tarde <input type="checkbox"/> Específico:	
Unidade Geradora de Resíduos	
Local:	
Responsável:	Matrícula:
Informações sobre o Resíduo	
Tipo:	<input type="checkbox"/> Químico <input type="checkbox"/> Biológico <input type="checkbox"/> Filhas/Baterias <input type="checkbox"/> Lâmpadas <input type="checkbox"/> Vidros <input type="checkbox"/> Perfurocortantes Outros: _____
Principais componentes (listar os principais componentes presentes no resíduo)	
	Quantidade
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	

Observação: Não preencher. Para uso dos responsáveis pela coleta.

Campo destinado aos responsáveis por efetuar a coleta do resíduo	
Data de encaminhamento do pedido de coleta ao Corpo de Bombeiros:    /    /	
Ocorreram problemas durante a coleta? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Se sim, quais?	
A quantidade recolhida foi a mesma que a solicitada?	
<input type="checkbox"/> Sim. <input type="checkbox"/> Não, foi maior que a solicitada. <input type="checkbox"/> Não, foi menor que a solicitada.	
Todos os frascos coletores estavam devidamente identificados? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Outros comentários:	
Data da coleta:    /    /	
Assinatura do Responsável/Solicitante	Assinatura do Coletor

PPC096/02/14

# 11 Referências Bibliográficas

BAHIA. Secretaria da Saúde. Superintendência de Vigilância e Proteção da Saúde. Diretoria de Vigilância e Controle Sanitário. BRASIL. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Manual de Biossegurança. Salvador. 2001.

Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia/ editado por Jonathan Y. Richmond, Robert w. McKinney; organizado por Ana Rosa dos Santos, Maria Adelaide Millington, Mário Cesar Althoff. - Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2000.

FIOCRUZ, **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde.** Capítulo 5 - Cultivo Celular. Emanuele Amorim Alves e Anna Christiana Rosa Guimarães. p. 215-1253.

Gerência de Resíduos e Rejeitos Tóxicos - GRR UFV  
<http://www.pad.ufv.br/>

Manual de Biossegurança - Boas práticas nos laboratórios de aulas práticas da área básica das ciências biológicas e da saúde. Disponível em: <http://www.unp.br/arquivos/pdf/institucional/docinstitucionais/manuais/manualdebiosseguranca.pdf>>. Acesso em 11 de junho de 2014.

Manual de biossegurança em laboratórios da Embrapa Florestas [recurso eletrônico] / Juliana Degenhardt-Goldbach [et al.]. Dados eletrônicos - Colombo: Embrapa Florestas, 2010.

Manual de Biossegurança Instituto Octávio Magalhães Fundação Ezequiel Dias. Disponível em: <http://funed.mg.gov.br/wp-content/uploads/2012/07/Manual-de-Biosseguran%C3%A7a-Funed-rev-01.pdf>>. Acesso em 11 de junho de 2014.

Manual de Biossegurança Laboratório Central de Saúde Pública (Lacen). Disponível em: <http://lacen.saude.sc.gov.br/arquivos/MBS01.pdf>>. Acesso em 11 de junho de 2014.

Manual de Biossegurança Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp). Disponível em: <http://www.cro-rj.org.br/biosseguranca/manual%20biosseguranca%20praticas%20corretas.pdf>>. Acesso em 11 de junho de 2014.

WHO Library Cataloguing-in-Publication Data World Health Organization. Laboratory biosafety manual. - 3rd ed. 1.Containment of biohazards - methods 2.Laboratories - standards 3.Laborator

yinfection - prevention and control 4.Manuals I.Title. ISBN 92 4  
154650 6 (LC/NLM classification: QY 25) WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11.