

MANUAL DE BIOSSEGURANÇA

Laboratório de Diagnósticos Moleculares de Sete Lagoas

**Elaboração: Ana Cristina do Nascimento Pinheiro Ferreira
Gracielle Teodora Costa Pinto Coelho
Rafael Braga da Silva**

ABRIL DE 2020



Modificado do Manual de Segurança Biológica em Laboratório
Organização Mundial de Saúde
Terceira Edição
Genebra
2004

http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/

PARTE 1: RESPONSABILIDADES	5
PARTE 2: ACESSO	6
PARTE 3: PROTECÇÃO INDIVIDUAL	7
NORMAS	7
PARTE 4: ÁREAS DE TRABALHO DO LABORATÓRIO	8
CONTROLE DA SEGURANÇA BIOLÓGICA	8
PARTE 5: CONCEPÇÃO E INSTALAÇÕES DO LABORATÓRIO	9
CARACTERÍSTICAS	9
PARTE 6: EQUIPAMENTO LABORATORIAL	11
EQUIPAMENTO ESSENCIAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA	11
PARTE 7: VIGILÂNCIA MÉDICA DO PESSOAL	12
PARTE 8: FORMAÇÃO	13
PARTE 9: MANUSEIO DE RESÍDUOS	14
DESCONTAMINAÇÃO	14
NORMAS DE MANUSEIO E ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS E MATERIAIS CONTAMINADOS	14
MATERIAL CORTANTE	14
MATERIAL CONTAMINADO (POTENCIALMENTE INFECCIOSO) PARA ELIMINAÇÃO	15
PARTE 11: EQUIPAMENTOS DE PROTECÇÃO	16
PARTE 12: BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO	18
Recipientes	18
Uso de pipetas e meios de pipetar	18
Descontaminação	18
Capela de fluxo laminar	18
Evitar conato com os olhos, mucosas e pele	19
Evitar a inoculação de material infeccioso	19
Separação de soro	19
Utilização de centrífugas	20
Manutenção e utilização de frigoríficos e congeladores	20
Manipulação de amostras biológicas	21
PARTE 13: PLANOS DE EMERGÊNCIA	22
Plano de emergência	22
Medidas de emergência em laboratórios microbiológicos	22
PARTE 14: DESINFECÇÃO E ESTERILIZAÇÃO	25
Limpar materiais de laboratório	25
Germicidas químicos	26
Cloro (hipocloreto de sódio)	27
Formaldeído	27
Alcoóis	28
Descontaminação do meio ambiente local	28
Descontaminação de câmaras de segurança biológica	29
Lavagem/descontaminação das mãos	29
Desinfecção e esterilização pelo calor	29
Incineração	30
Eliminação	31
OBS: Parte 15 sobre OGM - deleta nesse manual	
PARTE 16: PRODUTOS QUÍMICOS PERIGOSOS	32
Vias de exposição	32

Armazenagem de produtos químicos	32
Regras gerais relativas a incompatibilidades químicas	32
Efeitos tóxicos dos produtos químicos	32
Produtos químicos explosivos	33
Derrames de produtos químicos	33
Gases comprimidos e liquefeitos	33
PARTE 17: OUTROS TIPOS DE RISCO EM LABORATÓRIO.....	35
Risco de incêndio.....	35
Riscos eléctricos	36
Ruído	36
PARTE 18: SEGURANÇA: ORGANIZAÇÃO E FORMAÇÃO	37
Responsável da segurança biológica e comissão de segurança biológica	37
Responsável da segurança biológica	37
PARTE 19: SEGURANÇA DO PESSOAL AUXILIAR.....	38
Serviços de manutenção de aparelhos e instalações.....	38
PARTE 20: PROGRAMAS DE FORMAÇÃO	39
PARTE 21: LISTA DE CONTROLE DE SEGURANÇA.....	41
Locais	41
Armazenamento.....	41
Saneamento e instalações para o pessoal.....	41
Aquecimento e ventilação	41
Iluminação	42
Serviços	42
Segurança	42
Prevenção e proteção contra incêndios.....	42
Armazenamento de líquidos inflamáveis	43
Gases comprimidos e liquefeitos	43
Riscos eléctricos	44
Proteção individual	44
Saúde e segurança do pessoal.....	44
Equipamento de laboratório.....	45
Materiais infecciosos	45
Produtos químicos	45

PARTE 1: RESPONSABILIDADES

A responsável legal do Laboratório de Diagnósticos Moleculares de Sete Lagoas Dra. Ana Cristina do Nascimento Pinheiro Ferreira, e o técnico principal Dr. Evanguedes Kalapothakis ficam encarregados de garantir o fiel cumprimento das normas definidas nesse manual.

PARTE 2: ACESSO

1. O símbolo e o sinal internacionais de risco biológico (Figura 1) devem estar expostos nas portas das salas onde se manuseia microrganismos do Grupo de Risco 2 ou acima.
2. Só o pessoal autorizado deve entrar nas áreas de trabalho do laboratório.
3. As portas do laboratório devem permanecer fechadas.
4. As crianças não devem entrar nas áreas de trabalho do laboratório.
5. O acesso aos compartimentos de animais requer autorização especial.
6. Nenhum animal deve entrar no laboratório, além dos que se inserem nas atividades do mesmo.



Figura 1: sinal internacional de risco biológico

PARTE 3: PROTECÇÃO INDIVIDUAL

1. Devem utilizar-se sempre jalecos nos trabalhos de laboratório.
2. Devem utilizar-se luvas apropriadas em todos os trabalhos que impliquem contato direto ou acidental com sangue, fluidos corporais, materiais potencialmente infecciosos, culturas microbiológicas ou animais infectados. Após utilização, devem tirar-se as luvas de forma asséptica, descartar como material contaminado e lavar bem as mãos.
3. O pessoal deve lavar as mãos após manusear material infeccioso e animais, e antes de sair das áreas de trabalho do laboratório.
4. Devem utilizar-se óculos de segurança, viseiras ou outros dispositivos de proteção, sempre que for necessário proteger os olhos e o rosto de salpicos, impactos de objetos e raios artificiais ultravioleta.
5. É proibido utilizar roupa de proteção laboratorial fora do laboratório (cantina, escritórios, salas do pessoal e banheiros).
6. Sandálias e chinelos não devem ser utilizados nos laboratórios.
7. É proibido comer, beber, fumar, maquilar-se e pôr lentes de contacto nas áreas de trabalho do laboratório.
8. É proibido guardar comidas e bebidas nas áreas de trabalho do laboratório.
9. A roupa de proteção laboratorial utilizada no laboratório não deve ser guardada nos mesmos escaninhos ou armários da roupa normal.
10. Normas mais rígidas para uso de equipamento de proteção individual (EPI) poderão ser adotadas. Nesse caso as orientações serão especificamente indicadas nos setores do laboratório que adotarem tais medidas.

NORMAS

1. Pipetar com a boca deve ser imperiosamente proibido.
2. Nenhum material deve ser colocado na boca. Não lamber rótulos.
3. Todos os procedimentos técnicos devem ser efetuados de forma a minimizar a formação de aerossóis e gotículas.
4. A utilização de agulhas e seringas hipodérmicas deve ser limitada; estas não devem ser utilizadas como substitutos de pipetas ou qualquer outro fim, além de injeções parentéricas ou aspiração de fluidos.
5. Qualquer derrame, acidente, exposição efetiva ou potencial a materiais infecciosos deve ser notificado ao supervisor do laboratório. Deve manter-se um registro escrito de tais acidentes e incidentes no caderno de registros de incidentes e acidentes de laboratório.
6. Devem ser seguidas as normas escritas para a limpeza destes derrames e devidamente aplicadas.
7. Os líquidos contaminados devem ser (química ou fisicamente) descontaminados antes de serem lançados nos esgotos sanitários.
8. Os documentos escritos susceptíveis de saírem do laboratório precisam ser protegidos de contaminação dentro do laboratório.

PARTE 4: ÁREAS DE TRABALHO DO LABORATÓRIO

1. O laboratório deve estar arrumado, limpo e sem materiais que não sejam pertinentes para as suas atividades.
2. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas após qualquer derrame de material potencialmente perigoso e no início e no fim de qualquer atividade e também no final de um dia de trabalho.
3. Todos os materiais contaminados, espécimes e culturas devem ser descontaminados antes de serem descartados ou limpos para reutilização.
4. A embalagem e o transporte devem obedecer aos regulamentos nacionais e/ou internacionais pertinentes.
5. Se as janelas forem de abrir, devem ter redes de proteção contra artrópodes.

CONTROLE DA SEGURANÇA BIOLÓGICA

1. O responsável técnico pelo laboratório é responsável pela elaboração e adoção de um plano de controle e segurança biológica e de um manual de segurança e de operações.
2. O técnico principal (que depende do responsável técnico do laboratório) deve assegurar-se de que o pessoal recebe uma formação regular em segurança laboratorial.
3. O pessoal deve ser alertado para os perigos e deve ler o manual de segurança e de operações e seguir as práticas e normas-padrão. O responsável técnico deve assegurar-se de que o pessoal compreende bem estas instruções. Um exemplar do manual de segurança deve estar disponível no laboratório.
4. O laboratório deve ter um programa de controle de artrópodes e roedores.
5. O pessoal deve dispor de observação médica, vigilância e tratamento adequados, sempre que necessário, devendo assegurar-se a manutenção do histórico médico.

PARTE 5: CONCEPÇÃO E INSTALAÇÕES DO LABORATÓRIO

Ao conceber um laboratório e atribuir-lhe um determinado número de atividades, deve prestar-se uma atenção especial às condições susceptíveis de provocar problemas de segurança nomeadamente:

1. Formação de aerossóis
2. Atividades com grandes volumes e/ou altas concentrações de microrganismos
3. Superlotação de pessoal e equipamento
4. Infestação de roedores e artrópodes
5. Entradas não autorizadas
6. Fluxo de trabalho: utilização de amostras e reagentes específicos.

CARACTERÍSTICAS

1. Espaço amplo para realizar as atividades laboratoriais de forma segura, bem como para a limpeza e manutenção.
2. As paredes, o teto e o pavimento devem ser lisos, fáceis de limpar, impermeáveis e resistentes a produtos químicos e desinfetantes normalmente utilizados em laboratórios. O pavimento deve ser antiderrapante.
3. As bancadas devem ser impermeáveis e resistentes a desinfetantes, ácidos, álcalis, solventes orgânicos e calor moderado.
4. A iluminação deve ser adequada a todas as atividades; devem evitar-se reflexos e brilho indesejáveis.
5. O mobiliário deve ser robusto. O espaço entre e debaixo de bancadas, câmaras e equipamentos deve ser acessível para a limpeza.
6. O espaço de armazenamento deve ser apropriado para guardar o material de uso corrente e evitar assim amontoados nas bancadas e passagens. Deve igualmente prever-se um espaço de armazenagem em longo prazo, convenientemente localizado fora da área de trabalho do laboratório.
7. Deve igualmente prever-se espaço e meios para um manuseamento seguro e armazenagem de solventes, gás comprimido e liquefeito.
8. Devem existir instalações, fora da área de trabalho do laboratório, para guardar roupas e objetos pessoais.
9. Devem igualmente existir, fora da área de trabalho do laboratório, instalações para comer, beber e descansar.
10. Em cada sala de laboratório deve preferencialmente existir um lavatório, se possível com água corrente, e de preferência perto da porta de saída.
11. As portas devem ter painéis transparentes, proteção anti-fogo adequada e de preferência um sistema de fechamento automático.
12. No Nível 2 de segurança biológica, deve existir uma autoclave ou outro meio de descontaminação, na proximidade adequada do laboratório.
13. Os sistemas de segurança devem prever o combate a incêndios, emergências elétricas, chuveiros de emergência e meios de lavagem dos olhos.
14. Devem estar previstas áreas ou salas de primeiros socorros convenientemente equipadas e facilmente acessíveis.
15. Ao planejar novas instalações, deve-se examinar a possibilidade de prever sistemas de ventilação mecânica que injetem um fluxo de ar sem recirculação. Se não houver ventilação mecânica, as janelas devem ser de abrir e estar equipadas de redes contra artrópodes.

16. É essencial dispor de um abastecimento seguro de água de boa qualidade. Não devem existir interconexões entre a água de beber e a água para o laboratório. Deve-se instalar um dispositivo anti-refluxo para proteger o sistema de abastecimento de água.

17. Deve haver um fornecimento de eletricidade adequado e de confiança e iluminação de emergência que permita uma saída segura. É desejável dispor de um gerador para apoio do equipamento essencial, como incubadoras, câmaras de segurança biológica, congeladores, etc..

18. Deve igualmente dispor-se de um fornecimento de gás adequado e de confiança. A boa manutenção do sistema é imprescindível.

PARTE 6: EQUIPAMENTO LABORATORIAL

Juntamente com as boas práticas e procedimentos, a utilização do equipamento de segurança ajudará a reduzir os riscos inerentes à segurança biológica. A escolha do equipamento deve levar em conta determinados princípios gerais:

1. Ser concebido para evitar ou limitar o contato entre o operador e o material infeccioso
2. Ser construído com materiais impermeáveis aos líquidos e resistentes à corrosão.
3. Ser fabricado sem asperidades, arestas cortantes e partes-movíveis sem proteção.
4. Ser concebido, construído e instalado de forma a facilitar o seu manuseio, manutenção, limpeza, descontaminação e testes de certificação; vidro e outros materiais quebráveis devem ser evitados, sempre que possível.

EQUIPAMENTO ESSENCIAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

1. Pipetadores automáticos – para evitar pipetar com a boca.
2. Câmaras de segurança biológica, para utilizar sempre que:
 - se manusear material infeccioso; este material pode ser centrifugado no laboratório se forem utilizados recipientes herméticos de segurança centrífuga e se forem cheios e esvaziados numa câmara de segurança biológica.
 - houver um risco acrescido de infecção por via aérea
 - forem utilizados procedimentos com alto potencial de produção de aerossóis, tais como: centrifugação, moagem, mistura, agitação, separação por ultra-sons, abertura de recipientes com material infeccioso, cuja pressão interna seja diferente da pressão ambiental, inoculação em animais e colheita de tecidos infecciosos de animais e de ovos.
3. Alças de plástico descartáveis; podem utilizar-se incineradores de espirais elétricos, dentro das câmaras de segurança biológica, a fim de reduzir a produção de aerossóis.
4. Tubos e frascos com tampa de rosca.
5. Autoclaves ou outros meios apropriados para descontaminar o material infeccioso.
6. Pipetas Pasteur de plástico, descartáveis, sempre que disponíveis, para evitar o vidro.
7. O equipamento como as autoclaves e as câmaras de segurança biológica precisa de ser validado com métodos apropriados, antes de ser utilizado. A recertificação deve ser feita a intervalos periódicos, segundo as instruções do fabricante.

PARTE 7: VIGILÂNCIA MÉDICA DO PESSOAL

A entidade empregadora, através do diretor da empresa, tem de assegurar uma vigilância apropriada da saúde do pessoal do laboratório. O objetivo desta vigilância é controlar o aparecimento de doenças do trabalho. Para o efeito deve:

1. Proceder à vacinação ativa ou passiva, sempre que pertinente
2. Facilitar a detecção precoce das infecções adquiridas no laboratório
3. Excluir as pessoas altamente susceptíveis (grávidas e imunodeficientes) de trabalhos laboratoriais de alto risco
4. Fornecer equipamento e meios de proteção pessoal eficazes.

Diretivas para a vigilância do pessoal de laboratório que manuseia microrganismos:
Nível 1 de segurança biológica.

A experiência mostra que não é provável que os microrganismos manuseados a este nível provoquem doença no homem ou doença animal de importância veterinária. Contudo, todo o pessoal de laboratório deve ser submetido a um controle de saúde pré-emprego, onde se registre a seu histórico médico. É aconselhável a notificação imediata de doenças ou acidentes laboratoriais e deve-se chamar a atenção de todo o pessoal para a importância de manter boas técnicas de microbiologia.

Diretivas para a vigilância do pessoal de laboratório que manuseia microrganismos:
Nível 2 de segurança biológica

1. É necessário um controle de saúde antes de assumir as suas funções. Deve-se registrar o histórico médico da pessoa e efetuar uma avaliação centrada na saúde ocupacional.
2. A administração do laboratório deve manter registro de doenças e ausências.
3. O pessoal feminino em idade de procriar deve ser avisado dos riscos para o feto inerentes à sua exposição a determinados microrganismos e produtos químicos. As medidas exatas a tomar para proteger o feto, variam segundo os microrganismos a que a mãe esteja exposta.

PARTE 8: FORMAÇÃO

Erros humanos e más técnicas podem comprometer as melhores salvaguardas de proteção do pessoal de laboratório. Assim, um pessoal consciente da importância da segurança, bem informado sobre a forma de reconhecer e controlar os perigos eventuais nos laboratórios é uma peça fundamental para prevenir infecções, incidentes e acidentes nos laboratórios. Por este motivo, é essencial assegurar uma formação contínua in loco sobre medidas de segurança. Um programa eficaz de segurança começa pelos responsáveis pelo laboratório que devem assegurar a integração de práticas e procedimentos laboratoriais seguros na formação básica do pessoal. A formação em medidas de segurança deve ser parte integrante da inserção de novos trabalhadores; estes devem familiarizar-se com o código de práticas e diretivas do laboratório, incluindo o manual de segurança ou de operações. Devem-se adotar medidas que assegurem que os novos componentes da equipe leram e compreenderam as diretivas, tais como assinar certas páginas. Os supervisores dos laboratórios desempenham o papel mais importante na formação do seu pessoal em boas práticas laboratoriais. O responsável pela segurança biológica pode ajudar na formação e na elaboração de material de formação e de documentação.

A formação do pessoal deve sempre incluir informação sobre métodos seguros para situações de alto risco, que o pessoal de laboratório tem frequentemente de enfrentar, nomeadamente:

1. Riscos de inalação (durante a produção de aerossóis, por exemplo) ao utilizar alças, pipetar, fazer esfregaços, abrir frascos de culturas, tirar amostras de sangue/soro, centrifugar, etc.
2. Riscos de ingestão ao manusear amostras, esfregaços e culturas.
3. Riscos de perfurações cutâneas ao utilizar seringas e agulhas.
4. Mordidas e arranhões ao manusear animais.
5. Manuseio de sangue e outros materiais patológicos potencialmente perigosos.
6. Descontaminação e eliminação de material infeccioso.

PARTE 9: MANUSEIO DE RESÍDUOS

Consideram-se como resíduos tudo aquilo que se deve jogar fora.

Nos laboratórios, a descontaminação dos resíduos e a sua eliminação final estão intimamente interligadas. O princípio dominante é que todo o material infeccioso deve ser descontaminado, esterilizado em autoclave ou incinerado no laboratório. Antes de jogar fora qualquer objeto ou material de laboratório utilizado em microrganismos ou tecidos animais potencialmente infecciosos, devemos nos assegurar:

1. Se os referidos objetos ou materiais foram bem descontaminados ou desinfetados segundo as normas em vigor.
2. Na negativa, se foram embalados segundo as normas para a incineração imediata in loco ou transferência para outras instalações com capacidade de incineração.
3. Se a eliminação dos objetos ou materiais descontaminados implica, para terceiros, qualquer outro perigo potencial, biológico ou não, fora das instalações.

DESCONTAMINAÇÃO

A esterilização pelo calor, em autoclave, é o método preferencial para todos os processos de descontaminação. O material a ser descontaminado e eliminado deve ser colocado num recipiente (ex.: sacos de plástico para autoclaves). Outros métodos só podem ser considerados se removerem e/ou matarem os microrganismos.

NORMAS DE MANUSEIO E ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS E MATERIAIS CONTAMINADOS

Deve-se adotar um sistema de identificação e separação de materiais e recipientes infecciosos. Devem-se seguir os regulamentos nacionais e internacionais, tendo em conta as seguintes categorias:

1. Resíduos não-contaminados (não-infecciosos) que podem ser reutilizados, reciclados ou eliminados como resíduos domésticos.
2. Material cortante contaminado (infeccioso) – agulhas hipodérmicas, facas e vidro partido; este material deve sempre ser arrumado em recipientes antiperfurantes, munidos de tampas, e tratado como material infeccioso.
3. Material contaminado para descontaminação em autoclave, lavagem posterior e reutilização ou reciclagem.
4. Material contaminado para descontaminação em autoclave e eliminação.
5. Material contaminado para incineração direta.

MATERIAL CORTANTE

As agulhas hipodérmicas, uma vez utilizadas, não devem ser reintroduzidas nos seus invólucros, partidas ou retiradas das seringas descartáveis. Todo o conjunto deve ser posto num recipiente para descarte. As seringas descartáveis, quer utilizadas com ou sem agulhas, devem ser colocadas em recipientes para descartáveis e incineradas, após descontaminação em autoclave, se necessário.

Os recipientes para agulhas descartáveis devem ser resistentes/antiperfurantes e não devem ser totalmente cheios; quando estiverem quase cheios (3/4 da sua capacidade) devem ser postos em contêineres para resíduos infecciosos e incinerados, após descontaminação em autoclave, se as práticas do laboratório o exigirem. Os recipientes para agulhas descartáveis não devem ser descartados em aterros. Não procurar fazer

qualquer pré-lavagem a este material. Qualquer limpeza ou reparação só pode ser feita após descontaminação em autoclave ou desinfecção.

MATERIAL CONTAMINADO (POTENCIALMENTE INFECCIOSO) PARA ELIMINAÇÃO

Com exceção das agulhas, todo o material contaminado (potencialmente infeccioso) deve ser descontaminado em autoclave, em recipientes impermeáveis, por exemplo sacos de plástico para autoclaves, antes de ser eliminado. Após a descontaminação, o material deve ser colocado em recipientes de transporte para ser levado para o incinerador. O material proveniente de atividades ligadas a cuidados de saúde não deve ser jogado em aterros, mesmo que já tenha sido descontaminado. Se o laboratório possuir um incinerador, pode omitir-se a descontaminação em autoclave, colocando os resíduos contaminados em recipientes específicos e levando-os diretamente para o incinerador. Os recipientes de transporte reutilizáveis têm de ser impermeáveis e ter tampas herméticas. Devem ser desinfetados e limpos, antes de serem enviados de volta ao laboratório.

Em todos os postos de trabalho devem ser colocados recipientes para descartáveis (baldes ou vasos) de preferência inquebráveis (ex. plástico). Os recipientes para descartáveis devem ser descontaminados e lavados, antes de serem reutilizados.

Quando se utilizam desinfetantes o material deve permanecer em contacto íntimo com o desinfetante (não protegido por bolhas de ar) o tempo apropriado, segundo o desinfetante utilizado.

A incineração de material contaminado deve ser aprovada pelas autoridades de saúde pública e ambiental.

PARTE 11: EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO

Lâmpadas ultravioleta não são necessárias nas Capelas de Fluxo Laminar (CFL). Se forem utilizadas, devem ser limpas todas as semanas, para retirar o pó e sujidade que podem bloquear a eficácia germicida dos raios. A intensidade destes deve ser verificada quando a câmara é recertificada, a fim de assegurar que a emissão de luz seja apropriada. O funcionamento e a integridade operacional das CFL devem ser certificados conformes as normas nacionais e internacionais, quando da instalação e depois periodicamente, por técnicos qualificados, de acordo com as instruções do fabricante. As CFL precisam ser descontaminadas antes de mudar filtros ou quando mudam de localização. O método de descontaminação mais comum é a fumigação com gás formaldeído. A descontaminação das câmaras deve ser efetuada por um profissional qualificado.

A superfície do material que será colocado dentro da câmara deve ser descontaminada com álcool a 70%. Todos os artigos na CFL, incluindo o equipamento, devem ser descontaminados e retirados da câmara no final das operações, dado que os meios de cultura residuais podem permitir a proliferação de micróbios. As superfícies internas das CFL devem ser descontaminadas antes e depois de cada utilização. As superfícies de trabalho e as paredes interiores devem ser esfregadas com um desinfetante que mate qualquer microrganismo que se encontre na câmara. No final do dia de trabalho, a descontaminação final da superfície deve incluir uma esfregadela geral da superfície de trabalho, das partes laterais e do fundo e do interior do vidro. Deve-se utilizar uma solução de hipoclorito de sódio ou álcool a 70%, se eficaz para os organismos visados. É necessário esfregar uma segunda vez com água esterilizada, quando se utilizar um desinfetante corrosivo como o hipoclorito de sódio. É aconselhável que a câmara continue a funcionar durante a descontaminação. Caso tenha sido desligada, deve voltar a ser ligada e funcionar durante 5 minutos para purgar o ar interior, antes de ser desligada.

Deve estar afixada no laboratório uma cópia dos procedimentos necessários em caso de derrames; Se ocorrer um derrame de material perigoso dentro de uma CFL, deve-se começar imediatamente a limpeza da mesma, continuando a câmara a funcionar. O líquido derramado deve ser contido com papel absorvente e este descartado como material contaminado. Deve-se utilizar, então, um desinfetante eficaz e aplicá-lo de forma a minimizar a produção de aerossóis. Todo o material que entrou em contacto com o produto derramado deve ser desinfetado e/ou esterilizado em autoclave.

As luvas devem cobrir os punhos da bata e não devem ficar debaixo das mangas. Podem-se utilizar mangas elásticas para proteger os pulsos do investigador. Para certos procedimentos podem ser necessárias máscaras e óculos de proteção. O equipamento e a roupa de proteção pessoal podem servir de barreira, minimizando o risco de exposição a aerossóis e inoculação accidental. Deve-se vestir roupa de proteção quando se trabalha no laboratório. Antes de sair do laboratório, deve-se tirar a roupa de proteção e lavar as mãos.

Deve-se sempre utilizar pipetadores automáticos pipetar, e a sucção com a boca deve ser rigorosamente proibida. Os perigos mais comuns ligados à utilização de pipetas são causados pela sucção bucal. Também é possível transferir agentes patogênicos para a boca quando se põe um dedo contaminado na extremidade de sucção da pipeta. Um perigo menos conhecido é a inalação de aerossóis causados pela sucção. O tampão de algodão não é um filtro eficaz de micróbios, à pressão negativa ou positiva, podendo-se sugar partículas através do mesmo. Pode mesmo ocorrer uma sucção mais violenta, se o tampão estiver muito apertado, aspirando-se o tampão, aerossóis e o próprio líquido. Só a utilização de pipetadores automáticos pode evitar a ingestão de agentes patogênicos.

Os jalecos devem ser totalmente abotoados. Contudo, jalecos de mangas compridas e de apertar atrás dão melhor proteção do que os convencionais. Deve existir uma lavanderia nas instalações ou perto delas. Tais aventais e jalecos não devem ser utilizados fora dos locais do laboratório. Jamais deve-se cheirar qualquer líquido, pó ou recipiente dentro do trabalho.

Devem tirar-se as luvas e lavar bem as mãos, após manusear materiais infecciosos, trabalhar em câmaras de segurança biológica e antes de sair do laboratório. Depois de utilizadas, as luvas descartáveis devem ser eliminadas com os resíduos infectados. Reações alérgicas como dermatite e hipersensibilidade imediata têm sido assinaladas em laboratórios e outros trabalhadores que utilizam luvas de látex, particularmente nas que contêm pó. Devem estar disponíveis alternativas às luvas de látex com pó.

PARTE 12: BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO

Recipientes

Todo material, solução e cultura deve se corretamente identificado, com rótulo ou caneta permanente.

Uso de pipetas e meios de pipetar

1. Deve-se utilizar sempre um pipetador automático. Pipetar com a boca deve ser proibido.
2. Todas as pipetas devem ter um tampão de algodão para reduzir a contaminação dos pipetadores automáticos
3. Nunca se deve soprar com a pipeta num líquido contendo agentes infecciosos.
4. Não misturar materiais infecciosos aspirando e soprando alternadamente através de uma pipeta.
5. Não soprar na pipeta para expelir os líquidos.
6. Deve-se dar preferência a pipetas graduadas que não necessitam de expulsar as últimas gotas.
7. As pipetas contaminadas devem ser imersas num desinfetante apropriado contido num recipiente inquebrável. Devem ficar no desinfetante durante o tempo que for indicado antes de serem eliminadas (por exemplo, 30 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 5%).
8. Um recipiente para as pipetas a eliminar deve ser colocado no interior e não no exterior da câmara de segurança biológica.
9. Não se devem utilizar seringas com agulha hipodérmica para pipetar.
10. Devem-se utilizar dispositivos para abrir frascos com cápsula que permitem a utilização de pipetas e evitam a utilização de seringas e agulhas hipodérmicas.
11. Para evitar a dispersão de material infeccioso caído de uma pipeta, a área de trabalho deve ser descontaminada sempre que necessário.

Descontaminação

1. Amostras e culturas para serem esterilizadas em autoclave e/ou a eliminadas devem ser colocadas em recipientes estanques, por exemplo, sacos de resíduos de laboratório.
2. As zonas de trabalho devem ser descontaminadas com um desinfetante apropriado no fim de cada período de trabalho.

Capela de fluxo laminar

1. A câmara só deve ser utilizada se estiver a funcionar corretamente.
2. O painel de vidro não deve ser aberto quando a câmara estiver em funcionamento.
3. Na câmara deve-se ter o mínimo de aparelhos e materiais para não bloquear a circulação do ar interior.
4. A passagem de pessoal por trás do operador deve ser reduzida ao mínimo.
5. O operador não deve perturbar o fluxo do ar introduzindo ou retirando os braços da câmara repetidamente.

6. As grelhas de ar não devem ser obstruídas com papéis, pipetas ou outro material pois isso interrompe o fluxo do ar causando contaminação potencial do material e exposição do operador.
7. Uma vez o trabalho terminado e no fim do dia, a superfície da câmara de segurança biológica deve ser limpa com um desinfetante apropriado.
8. O ventilador da câmara deve funcionar pelo menos durante 5 minutos antes do início do trabalho e outros 5 depois do trabalho terminado.
9. Nunca se deve colocar documentos dentro das CFL.

Evitar contato com os olhos, mucosas e pele

1. As partículas e gotículas ($>5\mu\text{m}$ de diâmetro) libertadas durante as manipulações microbiológicas depositam-se rapidamente nas áreas de trabalho e nas mãos do operador. Devem-se utilizar luvas descartáveis. O pessoal de laboratório deve evitar tocar na boca, olhos, mucosas e rosto.
2. Alimentos e bebidas não devem ser consumidos nem armazenados no laboratório.
3. No laboratório não se deve levar à boca nenhum objeto – canetas, lápis, goma de mascar.
4. Não se deve fazer a maquiagem no laboratório.
5. Durante operações que possam resultar em projeções de materiais potencialmente infecciosos, deve proteger-se a face, olhos e boca.

Evitar a inoculação de material infeccioso

1. Sempre que possível, os utensílios de vidro devem ser substituídos por utensílios em plástico.
3. Podem-se reduzir os ferimentos com agulhas: (a) limitando ao mínimo o uso de seringas e agulhas (b) utilizando dispositivos de segurança especiais quando as seringas e agulhas forem realmente necessárias.
4. As agulhas nunca devem ser reinsertadas nos seus invólucros. Os artigos descartáveis devem ser colocados em recipientes especiais imperfuráveis, providos de tampa.

Separação de soro

1. Este trabalho só deve ser realizado por pessoal devidamente formado.
2. Devem-se utilizar luvas e proteção para os olhos e mucosas.
3. Projeções e aerossóis só podem ser evitados ou minimizados com boas técnicas de laboratório.
4. O sangue e o soro devem ser pipetados cuidadosamente e não vertidos de um recipiente para outro. Pipetar com a boca deve ser proibido.
5. Depois de utilizadas, as pipetas devem ser completamente submersas num desinfetante apropriado. Devem ficar no desinfetante durante o tempo que for indicado antes de serem eliminadas ou lavadas e esterilizadas para nova utilização (por exemplo, 30 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 5%).
6. Tubos de amostras contendo coágulos de sangue, etc. destinados ao descarte devem ser tapados com as suas tampas e colocados em recipientes hermeticamente fechados apropriados para esterilização em autoclave e/ou incineração.
7. Desinfetantes adequados devem estar disponíveis para limpar salpicos e derrames

Utilização de centrífugas

1. O bom funcionamento mecânico de centrífugas de laboratório é um requisito prévio de segurança microbiológica na sua utilização.
2. As centrífugas devem ser utilizadas segundo as instruções do seu fabricante.
3. As centrífugas devem ser colocadas de maneira que os agentes possam ver o interior da cuba para colocar corretamente os recipientes e copos.
4. Os tubos e recipientes de amostras para centrifuga devem ser feitos de preferência de plástico e antes de serem utilizados devem ser inspecionados para detectar defeitos eventuais.
5. Os tubos e recipientes de amostras devem ser sempre bem tampados (se possível com tampas de rosca) para centrifugação.
6. Os copos devem ser carregados, equilibrados, fechados e abertos em CFL.
7. Os copos e os recipientes devem ser postos aos pares segundo o peso e corretamente equilibrados.
8. O espaço que deve ser deixado entre o nível do fluido e a borda do tubo de centrífuga deve estar assinalado nas instruções do fabricante.
9. Para equilibrar os copos vazios deve utilizar-se água destilada. Não se devem utilizar soluções salinas nem hipocloreto, pois corroem os metais.
10. Ao utilizar rotores angulares, é preciso assegurar-se que os tubos não estejam demasiadamente cheios pois podem vazar.
11. O interior da centrífuga deve ser inspecionado todos os dias para verificar se há manchas ou sujidades no rotor. Havendo provas de manchas ou sujidade, os protocolos de centrifugação devem ser novamente avaliados.
12. Os rotores e copos da centrífuga devem ser inspecionados todos os dias para detectar sinais de corrosão e rachas finas.
13. Copos e rotores das centrífugas devem ser descontaminados depois de cada utilização.
14. Depois de utilizados, os copos devem ser guardados invertidos para secar o líquido que serviu para equilibrar.
15. Quando as centrífugas estão a funcionar, pode haver ejeção de partículas infecciosas transportadas pelo ar. Tais partículas deslocam-se a velocidades demasiadamente grandes para poderem ser retidas pelo fluxo de ar da câmara de segurança se a centrífuga estiver colocada numa câmara de segurança biológica tradicional de abertura frontal. Contudo, uma boa técnica de centrifugação e tubos cuidadosamente tampados oferecem proteção apropriada contra aerossóis infecciosos e partículas dispersas.

Manutenção e utilização de frigoríficos e congeladores

1. Geladeiras, congeladores e baús de dióxido de carbono sólido (gelo seco) devem ser descongelados e limpos periodicamente, e ampolas, tubos, etc. quebrados durante a conservação devem ser retirados. Durante a limpeza, deve-se utilizar uma proteção facial e luvas de borracha resistentes.
2. Todos os recipientes conservados em geladeiras, etc. devem estar claramente etiquetados com o nome científico do conteúdo, a data em que foram colocados na geladeira e o nome da pessoa que o fez. Materiais sem etiqueta e antigos devem ser desinfetados em autoclave e eliminados.
3. Deve-se manter um inventário do conteúdo do congelador.
4. Não se devem guardar soluções inflamáveis numa geladeira exceto se este for à prova de explosão. Para este efeito, devem-se colocar avisos nas portas dos mesmos.

Manipulação de amostras biológicas

1. Devem-se sempre adotar as boas práticas microbiológicas e usar luvas para todas as manipulações.
2. Os tubos de amostras devem sempre ser abertos numa capela de fluxo laminar.
3. Sempre que possível, o vidro deve ser substituído por plástico. Só deve ser usado vidro resistente (borossilicato), e o material deteriorado ou rachado deve ser eliminado.

PARTE 13: PLANOS DE EMERGÊNCIA

Plano de emergência

O plano deve indicar os procedimentos operacionais:

1. Precauções contra desastres naturais, por exemplo, incêndio, inundação, tremor de terra e explosão
2. Avaliação do risco de perigo biológico
3. Medidas a tomar em caso de exposição acidental e descontaminação
4. Evacuação de emergência de pessoas e animais presentes nos locais
5. Tratamento médico de urgência de pessoas expostas e feridas
6. Vigilância médica das pessoas expostas
7. Tratamento clínico das pessoas expostas
8. Investigação epidemiológica
9. Continuação das operações depois do acidente.

Ao elaborar este plano, prever a inclusão dos seguintes pontos:

1. Identificação de organismos de alto risco
2. Localização de zonas de alto risco, por exemplo, laboratórios, zonas de armazenagem, instalações para animais
3. Identificação de pessoal e populações em risco
4. Identificação do pessoal responsável e suas obrigações, por exemplo, responsável da segurança biológica, pessoal de segurança, autoridade sanitária local, médicos, microbiologistas, veterinários, epidemiologistas, bombeiros e polícia
5. Listas de serviços de tratamento e isolamento que podem receber pessoas expostas ou infectadas
6. Transporte de pessoas expostas ou infectadas
7. Listas de fontes de soro imune, vacinas, medicamentos, material e fornecimentos especiais
8. Provisão de material de emergência, por exemplo, roupa de proteção, desinfetantes, conjuntos para derrames químicos e biológicos, material e equipamentos de descontaminação.

Medidas de emergência em laboratórios microbiológicos

Ferimentos por picadas, cortes e abrasão

A pessoa acidentada deve retirar a roupa de proteção, lavar as mãos e qualquer outra zona afetada, aplicar um desinfetante cutâneo apropriado, e se necessário consultar um médico. Deve-se notificar o responsável técnico pelo laboratório, a causa do ferimento e os organismos implicados, e manter registos médicos corretos e completos.

Ingestão de material potencialmente infeccioso

Tirar a roupa de proteção e consultar um médico. Identificar e notificar às autoridades o material ingerido e as circunstâncias do incidente, e manter registos médicos corretos e completos.

Formação de aerossóis potencialmente infecciosos (fora de uma capela de fluxo laminar)

Todas as pessoas devem evacuar a área afetada e as que tenham sido expostas devem ser encaminhadas para um médico. O supervisor do laboratório e o responsável da

segurança biológica devem ser informados imediatamente. Ninguém deve entrar na sala durante um espaço de tempo apropriado (por exemplo, 1 hora), para permitir a evacuação dos aerossóis e o depósito das partículas mais pesadas. Se o laboratório não tiver um sistema central de exaustão do ar, a entrada deve ser retardada, por exemplo, em 24 horas.

Devem colocar-se sinais indicando que a entrada é proibida. Após este prazo, a descontaminação deve continuar controlada pelo responsável da segurança biológica. Deve utilizar-se roupa de proteção apropriada e proteção respiratória.

Recipientes partidos e substâncias infecciosas derramadas

Recipientes partidos contaminados com substâncias infecciosas e substâncias infecciosas derramadas devem ser cobertos com panos ou papel absorvente. Estes são depois molhados com um desinfetante que fica a atuar durante o tempo devido. O pano ou papel e o material partido são então retirados; os fragmentos de vidro devem ser manipulados com pinças. A área contaminada deve então ser esfregada com um desinfetante. Se para retirar o material partido forem utilizados apanhadores (vassouras e pás), estes devem ser esterilizados em autoclave ou imersos num desinfetante eficaz. Panos, papéis e esfregões utilizados para limpar devem ser colocados num recipiente de resíduos contaminados. Todas estas ações devem ser efetuadas com luvas. Se formulários ou outros documentos impressos ou escritos à mão estiverem contaminados, a informação neles contida deve ser copiada e o original descartado no recipiente de resíduos contaminados.

Quebra de tubos contendo material potencialmente infeccioso dentro de centrífugas

Se ocorrer ou se suspeitar de uma quebra enquanto a máquina estiver em funcionamento, parar o motor e deixar a máquina fechada durante uns 30 minutos para permitir o depósito do material. Se a quebra for descoberta quando a máquina parou, voltar a fechar a tampa imediatamente e esperar cerca de 30 minutos. Nos dois casos, o responsável da segurança biológica deve ser informado. Para todas as operações seguintes devem utilizar-se luvas resistentes (por exemplo, de borracha espessa), cobertas, se necessário, com luvas descartáveis. Para retirar restos de vidro/plástico, devem-se utilizar pinças guarnecidas ou não de algodão. Todos os tubos partidos, fragmentos de vidro, recipientes e o rotor devem ser colocados num desinfetante não-corrosivo cuja eficácia contra o organismo implicado é conhecida. Os tubos intactos e fechados podem ser colocados em desinfetante num recipiente separado e depois recuperados. O bojo da centrífuga deve ser esfregado com o mesmo desinfetante numa diluição apropriada e esfregado de novo, lavada com água e secado. Todos os materiais utilizados na limpeza devem ser considerados como resíduos infecciosos.

Incêndio e desastres naturais

Os serviços de socorros em caso de incêndio e outros desastres devem participar à elaboração de planos de preparação para emergências. Devem ser informados antecipadamente da localização das salas que contêm materiais potencialmente infecciosos. Será benéfico organizar uma visita do pessoal desses serviços ao laboratório para conhecer o traçado dos locais e seu conteúdo.

Depois de um desastre natural os serviços de emergência locais ou nacionais devem ser prevenidos dos riscos potenciais existentes dentro e/ou perto dos edifícios do laboratório. Só devem entrar nos locais acompanhados de um membro devidamente formado do pessoal. Os materiais infecciosos devem ser recolhidos em caixas

hermeticamente fechadas ou sacos descartáveis resistentes. A equipe de segurança biológica é que deve determinar, com base em regulamentos locais, o que deve ser recuperado ou eliminado.

Serviços de emergência: quem contactar

Os números de telefone e endereços das pessoas e serviços abaixo designados devem estar afixados nas instalações de modo bem visível:

1. A própria instituição ou laboratório (a pessoa que telefona ou o serviço que recebe a chamada pode não conhecer bem o endereço e a localização)
2. O diretor da instituição ou laboratório
3. O supervisor do laboratório
4. O responsável da segurança biológica
5. Os serviços de incêndio
6. Hospitais/serviços de ambulâncias/pessoal médico (nomes de postos de saúde, departamentos, e/ou pessoal médico se possível)
7. Polícia
8. Médico
9. Técnico responsável
10. Os serviços de água, de gás e de eletricidade.

Material de emergência

O material de emergência seguinte deve estar disponível:

1. Mala de primeiros socorros incluindo antídotos universais e especiais.
2. Extintores de incêndio apropriados, cobertores para fogo.

Também se sugere o material a seguir, mas que pode variar segundo as circunstâncias locais:

1. Máscaras respiratórias completas com filtros apropriados para produtos químicos e partículas
2. Aparelhos de desinfecção das salas, por exemplo, pulverizadores e vaporizadores de formol
3. Macas
4. Utensílios, como martelos, machados, chaves-inglesas, chaves de parafusos, escadotes, cordas
5. Equipamento para marcar e sinalizar a área de perigo.

PARTE 14: DESINFECÇÃO E ESTERILIZAÇÃO

Para a segurança biológica do laboratório é crucial um conhecimento básico de desinfecção e esterilização. Como os artigos muito contaminados não podem ser desinfetados nem esterilizados prontamente, é igualmente importante compreender os fundamentos da limpeza antes da desinfecção (limpeza prévia). A este respeito os seguintes princípios gerais aplicam-se a todas as classes conhecidas de agentes patogênicos microbianos.

As exigências específicas de descontaminação dependerão do tipo de experimento e da natureza do agente ou agentes infecciosos manipulados. A informação genérica aqui fornecida pode ser utilizada para elaborar tanto procedimentos padrões como outros mais específicos para enfrentar riscos biológicos num dado laboratório. O tempo de aplicação de desinfetantes é específico a cada material e fabricante. Assim, todas as recomendações para utilização de desinfetantes devem seguir as especificações dos fabricantes.

Definições

Em desinfecção e esterilização utilizam-se os mais variados termos. Os seguintes estão entre os mais comuns em segurança biológica:

Antimicrobiano – Agente que mata microrganismos ou impede o seu desenvolvimento e multiplicação.

Anti-séptico – Substância que inibe o crescimento e desenvolvimento de microrganismos sem necessariamente os matar. Anti-sépticos são normalmente aplicados sobre superfícies do corpo.

Biocida – Termo geral para qualquer agente que mata organismos.

Germicida químico – Substância química ou mistura de substâncias químicas utilizadas para matar microrganismos.

Descontaminação – Qualquer processo de remoção e/ou eliminação de microrganismos. O mesmo termo é também utilizado para remoção ou neutralização de produtos químicos perigosos e materiais radioativos.

Desinfetante – Substância química ou mistura de substâncias químicas utilizadas para matar microrganismos, mas não necessariamente esporos. Desinfetantes são normalmente aplicados em superfícies ou objetos inanimados.

Desinfecção – Meio físico ou químico de matar microrganismos, mas não necessariamente esporos.

Esporocida – Substância química ou mistura de substâncias químicas utilizadas para matar microrganismos e esporos.

Esterilização – Processo que mata e/ou remove todas as classes de microrganismos e esporos.

Microbicida – Substância química ou mistura de substâncias químicas que matam microrganismos. O termo é muitas vezes utilizado em vez de “biocida”, “germicida químico” ou “antimicrobiano”.

Limpar materiais de laboratório

Limpar significa remover o lixo, a matéria orgânica e as manchas, e inclui escovar, aspirar, limpar a seco, lavar ou esfregar com água contendo sabão ou detergente. Lixo, terra e matéria orgânica podem servir de proteção a microrganismos e podem interferir com a ação destruidora de produtos de descontaminação (anti-sépticos, germicidas

químicos e desinfetantes). Para se conseguir uma desinfecção ou esterilização correta, é essencial proceder a uma limpeza prévia. Muitos produtos germicidas só são ativos em materiais previamente limpos. A limpeza prévia deve ser realizada com cuidado para evitar exposição a agentes infecciosos. Devem-se utilizar materiais quimicamente compatíveis com os germicidas a serem aplicados mais tarde. Não é adequado utilizar o mesmo germicida químico para limpeza prévia e desinfecção.

Germicidas químicos

Há muitos produtos químicos que podem ser usados como desinfetantes e/ou anti-sépticos. Como existe um número e variedade crescente de produtos comerciais, as composições devem ser cuidadosamente escolhidas segundo necessidades específicas. A atividade germicida de muitos produtos químicos desenvolve-se melhor e mais rapidamente com o aumento da temperatura. Contudo, temperaturas altas podem acelerar a sua evaporação e também provocar a sua degradação. Um cuidado especial é necessário para utilizar e armazenar tais produtos químicos em regiões tropicais onde a sua validade pode ser mais curta devido às altas temperaturas ambientais.

Muitos germicidas podem ser nocivos para os seres humanos ou para o meio ambiente. Devem ser escolhidos, armazenados, manipulados, utilizados e eliminados com cuidado, respeitando as instruções dos fabricantes. Para proteção pessoal, recomenda-se a utilização de luvas, aventais e proteções oculares durante a preparação de diluições de germicidas químicos.

Para a limpeza regular de solos, paredes, materiais e mobiliário não se exige geralmente germicidas químicos. Contudo, o seu uso pode ser apropriado em certos casos de controlo de surtos. A utilização correta de germicidas químicos contribuirá para segurança no local de trabalho, reduzindo ao mesmo tempo o risco de agentes infecciosos. Tanto quanto possível, o número de germicidas químicos a utilizar deve ser limitado por razões económicas e de controlo de inventário, e para limitar a poluição ambiental. Descreve-se a seguir classes de germicidas químicos normalmente utilizados, com informações genéricas sobre as suas aplicações e perfis de segurança. Se não houver outras indicações, as concentrações de germicida são dadas em peso/volume (w/v). O Quadro 12 resume as diluições recomendadas de compostos que libertam cloro.

Quadro 12. Diluições recomendadas de compostos libertando cloro

	SITUAÇÃO « LIMPA » ^a	SITUAÇÃO « SUJA » ^b
Cloro activo necessário	0,1% (1 g/l)	0,5% (5 g/l)
Solução de hipocloreto de sódio (5% de cloro activo)	20 ml/l	100 ml/l
Solução de hipocloreto de cálcio (70% de cloro activo)	1,4 g/l	7,0 g/l
Pó de dicloroisocianureto de sódio (60% de cloro activo)	1,7 g/l	8,5 g/l
Comprimidos de dicloroisocianureto de sódio (1,5 g de cloro activo/comprimido)	1 comprimido/l	4 comprimidos/l
Cloramina (25% de cloro activo) ^c	20 g/l	20 g/l

^a Depois do lixo mais importante ter sido removido.

^b Para deitar directamente, por exemplo, sobre o sangue ou antes do lixo mais importante ter sido removido.

^c Ver texto.

Cloro (hipocloreto de sódio)

O cloro é um germicida químico de ampla ação. É vendido normalmente em solução aquosa de hipoclorito de sódio (NaOCl) que pode ser diluída com água resultando em várias concentrações de cloro ativo. O cloro é muito alcalino e pode corroer os metais. A sua atividade é fortemente reduzida pela matéria orgânica (proteína). Reservas ou soluções armazenadas em recipientes abertos, especialmente a altas temperaturas, libertam gás cloro o que enfraquece o seu potencial germicida. A frequência com que se devem mudar as soluções para trabalhar depende da sua concentração inicial, tipo (por exemplo, com ou sem tampa) e tamanho dos recipientes, frequência e natureza da utilização e condições ambientes. De uma maneira geral, as soluções destinadas a materiais com altos níveis de matéria orgânica utilizadas várias vezes ao dia, devem ser mudadas pelo menos diariamente, enquanto as utilizadas com menos frequência podem durar uma semana.

Um desinfetante geral deve ter uma concentração de 1 g/l de cloro ativo. Para o caso de derrames que representem riscos biológicos e na presença de grandes quantidades de matéria orgânica recomenda-se uma solução mais forte contendo 5 g/l de cloro ativo. As soluções de hipoclorito de sódio contêm 50 g/l de cloro ativo e devem por isso ser diluídas a 1:50 ou 1:10 para se obter concentrações finais de 1 g/l e 5 g/l respectivamente. As soluções industriais têm uma concentração de hipoclorito de sódio de cerca de 120 g/l e devem ser mais diluídas para se obter os níveis acima indicados.

O hipoclorito de sódio não é aconselhado como anti-séptico, mas pode ser utilizado como desinfetante universal e para mergulhar materiais contaminados que não contenham metal. Em casos de emergência, o hipoclorito também pode ser utilizado para desinfetar a água de beber, com uma concentração final de 1–2 mg/l de cloro ativo.

O gás de cloro é muito tóxico e por isso a solução deve ser armazenada e utilizada unicamente em áreas bem ventiladas. Também não deve ser misturada com ácidos para evitar a libertação rápida de gás de cloro. Muitos produtos derivados de cloro podem ser nocivos para os humanos e o meio ambiente, e assim deve ser evitado o uso indiscriminado de desinfetantes baseados em cloro.

Formaldeído

O formaldeído (HCHO) é um gás que mata todos os microrganismos e esporos a temperaturas superiores a 20°C. O formaldeído atua lentamente e necessita de um nível de umidade relativa de cerca de 70%. É comercializado sob a forma de polímero sólido, o paraformaldeído, em flocos ou comprimidos, ou como formalina, uma solução do gás em água de cerca de 370 g/l (37%) contendo metanol (100 ml/l) como estabilizador. Ambas as formas são aquecidas para libertação do gás que é utilizado para descontaminação e desinfecção de espaços fechados tais como câmaras e salas de segurança. O formaldeído (5% de formalina em água) pode ser utilizado como desinfetante líquido.

Suspeita-se que o formaldeído seja cancerígeno. É um gás perigoso, irritante, com um odor forte e cujos gases podem irritar os olhos e as membranas mucosas. Assim, deve ser armazenado e utilizado em salas com chaminé ou bem ventiladas. Devem-se respeitar os regulamentos nacionais sobre segurança química.

Alcoóis

O etanol (álcool etílico, C_2H_5OH) e o 2-propanol (álcool isopropílico, $(CH_3)_2CHOH$) têm propriedades desinfetantes similares. São ativos contra bactérias vegetativas, fungos e vírus lipídicos, mas não contra esporos. A sua ação sobre vírus não-lipídicos é variável. Para a maior eficácia devem ser utilizados em concentrações próximas de 70% (v/v) em água: pode acontecer que concentrações mais altas ou mais baixas não tenham um poder germicida tão elevado. Uma vantagem importante das soluções aquosas de alcoóis é não deixar resíduos nos objetos tratados.

Misturas com outros agentes são mais eficazes do que unicamente álcool, por exemplo, álcool a 70% (v/v) com 100g/l de formaldeído, e álcool contendo 2 g/l de cloro ativo. Uma solução aquosa a 70% (v/v) de etanol pode ser utilizada sobre a pele, em superfícies de trabalho e CFL, e como banho para pequenas peças de instrumentos cirúrgicos. Como o etanol pode secar a pele, é muitas vezes misturado com emolientes. Para a descontaminação de mãos pouco sujas em situações onde a lavagem destas é inconveniente ou impossível, recomenda-se esfregar as mãos com produtos à base de álcool. Contudo, não se deve esquecer que o etanol é ineficaz contra esporos e pode não matar todos os tipos de vírus não lipídicos.

Os alcoóis são voláteis e inflamáveis e não devem ser utilizados perto de chamas. As soluções de trabalho devem ser armazenadas em recipientes apropriados para evitar a evaporação. Os alcoóis podem endurecer a borracha e dissolvem certos tipos de cola. É muito importante que o inventário e o armazenamento de etanol no laboratório sejam corretos, para evitar que seja utilizado para outros fins além de desinfecção. Picetas com soluções contendo álcool devem ser claramente etiquetadas para evitar a desinfecção em autoclave.

Descontaminação do meio ambiente local

A descontaminação do ar, mobiliário e equipamento de laboratório exige uma combinação de desinfetantes líquidos e gasosos. Para superfícies pode-se utilizar uma solução de hipoclorito de sódio ($NaOCl$); uma solução contendo 1 g/l de cloro ativo pode estar indicada para a salubridade geral do meio ambiente, mas recomendam-se soluções mais fortes (5 g/l) para situações de grande risco. Para descontaminação do meio ambiente, soluções contendo 3% de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) são substitutos apropriados do hipoclorito.

As salas e o equipamento podem ser descontaminados por meio de fumigação com gás de formaldeído, quer aquecendo paraformaldeído, quer fervendo formol. Estes são processos muito perigosos que exigem pessoal especialmente treinado. Todas as aberturas da sala (janelas, portas, etc.) devem ser hermeticamente fechadas com fita colante ou outro meio semelhante antes de iniciar a produção de gás. A fumigação deve ser realizada a uma temperatura ambiente de pelo menos $21^\circ C$ e umidade relativa de 70%. Depois da fumigação, a sala deve ser muito bem ventilada antes que seja permitida a entrada de pessoal. Qualquer pessoa que entre na sala antes da ventilação deve usar máscara respiratória apropriada. Para neutralizar o formaldeído pode-se utilizar bicarbonato de amônio gasoso. A fumigação de espaços menores com vapor de peróxido de hidrogênio é também eficaz mas necessita de equipamento especializado para gerar o vapor.

Descontaminação de câmaras de segurança biológica

Sempre que for necessário, descontaminar a capela com solução de álcool 70% ou hipoclorito de sódio 5%. Caso se use o hipoclorito, enxaguar com água destilada. Colocar na capela todo o material necessário à atividade. Ligar a luz ultravioleta por um período ininterrupto de 20 minutos. É recomendável não permanecer na sala durante a esterilização. Antes de iniciar a atividade, desligar a luz ultravioleta. Ao final da atividade, caso seja necessário, ligar novamente a luz ultravioleta por um período ininterrupto de 20 minutos, antes de descontaminar a capela com solução de álcool 70% ou hipoclorito de sódio 5%.

Lavagem/descontaminação das mãos

Sempre que possível, devem-se utilizar luvas apropriadas para manipular materiais que apresentem riscos biológicos. Contudo, isto não elimina a necessidade do pessoal de laboratório lavar as mãos regularmente e corretamente. As mãos devem ser lavadas depois de trabalhar com materiais apresentando riscos biológicos, animais e antes de sair do laboratório. Na maioria dos casos, lavar bem as mãos com água e sabão é suficiente para descontaminá-las, mas em situações de grande risco recomenda-se a utilização de sabões germicidas. As mãos devem ser completamente cobertas de espuma de sabão e esfregadas durante pelo menos 10 segundos, as unhas também devem ser esfregadas, de preferência com uma escovinha própria ao final, enxaguar com água limpa e secar utilizando um papel ou toalha limpos. Recomendam-se torneiras acionadas com o pé ou cotovelo. Não havendo, deve-se utilizar papel/toalha para fechar a torneira com o fim de evitar voltar a contaminar as mãos lavadas. Tal como já mencionado, pode-se esfregar as mãos com produtos à base de álcool se estas estão ligeiramente sujas e não se dispõe de meios apropriados para as lavar.

Desinfecção e esterilização pelo calor

O calor é o agente físico mais vulgarmente utilizado para a descontaminação de agentes patogênicos. O calor seco, que é totalmente não corrosivo, é utilizado para tratar muitos objetos de laboratório que podem suportar temperaturas de 160°C ou superiores durante 2–4 horas. Combustão ou incineração é também uma forma de calor seco. O calor úmido é muito eficaz quando utilizado em autoclave. A fervura não mata necessariamente todos os microrganismos e/ou agentes patogênicos, mas pode ser utilizada como tratamento mínimo para desinfecção quando outros métodos (desinfecção química ou descontaminação, desinfecção em autoclave) não forem aplicáveis ou não estiverem disponíveis. Os artigos esterilizados devem ser manuseados e armazenados de forma a não se contaminarem até serem utilizados de novo.

Esterilização em autoclave

A esterilização por vapor saturado sob pressão (autoclave) é o meio mais eficaz e seguro de esterilizar materiais de laboratório. Na maior parte dos casos, os ciclos a seguir indicados assegurarão a esterilização de materiais corretamente carregados em autoclave: **Durante 20 minutos a 120°C**

Autoclaves do tipo panela de pressão por aquecimento exterior. São carregadas por cima e aquecidas a gás, eletricidade ou outro tipo de combustível. O vapor é obtido aquecendo a água contida na base do aparelho, e o ar é deslocado para cima através de um tubo de escape. Uma vez todo o ar removido, a válvula do tubo de escape é fechada e o calor reduzido. A pressão e a temperatura aumentam até que a válvula de segurança comece a funcionar a um nível pré-estabelecido. É a partir deste momento que se conta

o tempo de espera. No fim do ciclo, desliga-se a fonte de calor e deixa-se a temperatura descer para 80°C ou menos, antes de abrir a tampa.

Carregamento de autoclaves

Os materiais a esterilizar não devem ficar muito juntos uns aos outros para facilitar a circulação do vapor e a remoção do ar. Os sacos devem estar abertos para que o vapor possa atingir o seu conteúdo.

Precauções na utilização de autoclaves

As regras apresentadas a seguir podem minimizar os perigos inerentes à utilização de aparelhos sob pressão.

1. A responsabilidade pela utilização e cuidados de rotina deve ser atribuída a pessoal devidamente formado.
2. Um programa de manutenção preventiva deve incluir inspeção regular, por pessoal qualificado, da câmara, juntas da porta e todas as válvulas e instrumentos de controle.
3. O vapor deve estar saturado e sem produtos químicos (por exemplo, inibidores de corrosão) que possam contaminar os materiais a esterilizar.
4. Todos os materiais a esterilizar em autoclave devem estar dispostos em recipientes que permitam rápida remoção do ar e boa penetração do calor; a câmara não deve ficar demasiado carregada para que o vapor atinja bem toda a carga.
5. Se a autoclave não tiver um dispositivo de segurança que impeça a abertura da porta quando a câmara está sob pressão, é preciso que a principal válvula de vapor esteja fechada e que a temperatura baixe para menos de 80°C antes de abrir a porta.
6. É necessário utilizar um processo de evacuação lenta para esterilizar líquidos em autoclave pois estes podem transbordar ao ser retirados devido ao superaquecimento.
7. Os utilizadores da autoclave devem utilizar luvas e viseiras apropriadas como proteção para abrir a autoclave, mesmo quando a temperatura baixa para menos de 80°C.
8. Em qualquer controle de rotina do funcionamento da autoclave, devem-se colocar no centro de cada carga, indicadores biológicos ou termopares. É fortemente aconselhado o controle regular com termopares e dispositivos de registro numa situação de pior carga possível para determinar ciclos de funcionamento corretos.
9. O filtro de esvaziamento da câmara (se existir) deve ser tirado e limpo todos os dias.
10. Deve-se ter o cuidado de assegurar que as válvulas de escape de autoclaves tipo panela de pressão não ficam obstruídas com papéis, etc. contidos na carga.

Incineração

A incineração é útil para eliminar carcaças de animais assim como outros resíduos de laboratório, com ou sem descontaminação prévia. A incineração de materiais infecciosos só é uma alternativa a esterilização em autoclave se o incinerador estiver sob controle laboratorial.

Uma incineração correta exige meios eficientes de controle de temperatura e uma câmara de combustão secundária. Muitos incineradores, especialmente os que têm uma única câmara de combustão, são inadequados para tratar materiais infecciosos, carcaças de animais e plásticos. A destruição de tais materiais pode não ser completa e o efluente que sai da chaminé pode poluir a atmosfera com microrganismos, produtos químicos tóxicos e fumos. Contudo, existem muitas configurações satisfatórias para câmaras de combustão. O ideal é que a temperatura na câmara primária seja pelo menos de 800°C e na segunda pelo menos de 1000°C.

Mesmo se previamente descontaminados, os materiais para incineração devem ser transportados para o incinerador em sacos, de preferência de plástico. O pessoal encarregado do funcionamento do incinerador deve receber instruções apropriadas sobre

o carregamento e o controle da temperatura. Também é preciso notar que o funcionamento eficiente de um incinerador depende da mistura correta de materiais nos resíduos a tratar.

Eliminação

A eliminação de resíduos médicos e de laboratório é regida por vários regulamentos regionais, nacionais e internacionais, cujas versões mais recentes devem ser consultadas antes de elaborar e implementar um programa de manuseamento, transporte e eliminação de resíduos apresentando riscos biológicos. Em geral, cinzas resultantes de incineração podem ser tratadas como resíduos domésticos normais e removidas pelas autoridades locais.

Todo resíduo após ser descontaminado e autoclavado será encaminhado para incineração por meio da empresa INCA, atualmente contratada para este fim. A coleta dos resíduos será realizada mensalmente e o transporte será realizado pela própria empresa em bombonas hermeticamente fechadas até o local de incineração.

PARTE 16: PRODUTOS QUÍMICOS PERIGOSOS

O pessoal de laboratórios de microbiologia está não só exposto a microrganismos patogénicos como a produtos químicos perigosos. Assim, é importante que conheça bem os efeitos tóxicos de tais produtos, as vias de exposição e os riscos que possam estar associados à sua manipulação e armazenagem. Os fabricantes e/ou fornecedores de produtos químicos fornecem folhas de dados sobre a segurança do material ou outras informações sobre riscos químicos. Tais folhas devem estar disponíveis em laboratórios onde estes produtos químicos são utilizados, por exemplo, como parte de um manual de segurança ou de operações.

Vias de exposição

A exposição a produtos químicos pode ocorrer por:

1. Inalação
2. Contato
3. Ingestão
4. Picadas de agulhas
5. Cortes na pele.

Armazenagem de produtos químicos

No laboratório só devem ser armazenadas as quantidades de produtos químicos necessárias para uso diário. Os estoques devem ser armazenados em salas ou edifícios especialmente destinados para tal fim.

Os produtos químicos não devem ser armazenados em ordem alfabética.

Regras gerais relativas a incompatibilidades químicas

Para evitar incêndios e/ou explosões, as substâncias mencionadas na coluna da esquerda do Quadro 13 devem ser armazenadas e manipuladas de maneira a não entrarem em contacto com as substâncias da coluna da direita.

Quadro 13. Regras gerais sobre incompatibilidades químicas

CATEGORIA DA SUBSTÂNCIA	SUBSTÂNCIAS INCOMPATÍVEIS
Metais alcalinos como sódio, potássio, célio e lítio	Dióxido de carbono, hidrocarbonetos clorados, água
Halogéneos	Amoníaco, acetileno, hidrocarbonetos
Ácido acético, sulfito de hidrogénio, anilina, hidrocarbonetos, ácido sulfúrico	Agentes oxidantes como ácido crómico, ácido nítrico, peróxidos, permanganatos

Efeitos tóxicos dos produtos químicos

Certos produtos químicos são nocivos para a saúde das pessoas que os manipulam ou que inalam os seus vapores. Além dos venenos notórios, um certo número de produtos químicos possuem vários efeitos tóxicos. O sistema respiratório, o sangue, os pulmões, o fígado, os rins e o sistema gastrointestinal, assim como outros órgãos e tecidos, podem ser afetados ou gravemente danificados. Certos produtos químicos têm propriedades cancerígenas ou teratogénicas conhecidas. Certos vapores de solventes são tóxicos

quando inalados. Além dos efeitos mais graves acima assinalados, a exposição pode provocar danos que não mostram efeitos imediatos na saúde, mas que podem incluir perda da coordenação, sonolência e sintomas semelhantes, o que aumenta o risco de acidentes. A exposição prolongada ou repetida à fase líquida de muitos solventes orgânicos pode resultar em lesões cutâneas o que pode ser devido a um efeito de dissolução das gorduras, mas também pode provocar sintomas alérgicos e corrosivos.

Produtos químicos explosivos

A azida, muitas vezes utilizada em soluções antibacterianas, não deve entrar em contato com o cobre ou o chumbo (por exemplo, em canalizações), pois estas podem explodir violentamente quando sujeitas mesmo a um impacto ligeiro. Os éteres que envelheceram e secaram em cristais são extremamente instáveis e potencialmente explosivos. O ácido perclórico quando seca sobre madeira, tijolo ou tecido, explode e inflama-se sob o efeito de um impacto. O ácido pícrico e os picratos explodem sob o efeito do calor e de choques.

Derrames de produtos químicos

A maior parte dos fabricantes de produtos químicos utilizados em laboratório fornece instruções sobre a maneira de proceder em caso de derrame. Instruções e material a utilizar em tais casos também se encontram no comércio. Nos laboratórios, estas instruções devem ser colocadas bem à vista. Deve igualmente estar disponível o seguinte material:

1. Conjuntos de material para derrames
2. Roupa de proteção, como por exemplo, luvas de borracha espessa, proteções de sapatos ou botas de borracha, respiradores
3. Pás e apanhadores
4. Pinças para apanhar estilhaços de vidro
5. Esfregões, panos e papel absorvente
6. Baldes
7. Soda calcinada (carbonato de sódio, Na_2CO_3) ou bicarbonato de sódio (NaHCO_3) para neutralizar ácidos e produtos químicos corrosivos
8. Areia ou vermiculita (para cobrir derrames alcalinos).
9. Detergente não inflamável.

No caso de derrame importante de produtos químicos, proceder da seguinte maneira:

1. Notificar o responsável da segurança.
2. Evacuar da zona o pessoal não essencial.
3. Prestar cuidados às pessoas que possam ter sido contaminadas.
4. Se o material derramado é inflamável, apagar todas as chamas vivas, desligar o gás na sala e nas zonas vizinhas, abrir as janelas (se possível), e desligar da corrente o equipamento elétrico que possa produzir faíscas.
5. Evitar respirar os vapores produzidos pelo material derramado.
6. Ligar o exaustor se tal operação não representar perigo.
7. Arranjar o material necessário para limpar o derrame (ver mais acima).

Gases comprimidos e liquefeitos

O Quadro 14 fornece informações sobre a armazenagem de gases comprimidos e liquefeitos.

Quadro 14. Armazenagem de gases comprimidos e liquefeitos

RECIPIENTES	INFORMAÇÕES SOBRE ARMAZENAGEM E MANUSEAMENTO
Cilindros de gás comprimido e recipientes de gás liquefeito ^{a,b}	<ul style="list-style-type: none">• Devem ser solidamente presos (por exemplo, com uma corrente) à parede ou a uma estrutura sólida para que não possam ser deslocados inadvertidamente• Devem ser transportados numa carreta com rodas, bem tapados com as tampas protectoras.• Devem ser armazenados em conjunto num outro edifício a certa distância do laboratório. Essa zona deve ser fechada à chave e devidamente identificada.• Não devem ser colocados perto de radiadores, chamas vivas ou outras fontes de calor, equipamento eléctrico que produza faíscas ou directamente expostos ao sol.
Pequenas botijas de gás de uso único ^{a,b}	<ul style="list-style-type: none">• Não devem ser incineradas.

^a A principal válvula de alta pressão deve ser fechada quando o equipamento não está a ser utilizado e quando a sala não está ocupada.

^b As salas onde se utilizam e/ou se armazenam cilindros de gás inflamável devem estar devidamente assinaladas com avisos nas portas.

PARTE 17: OUTROS TIPOS DE RISCO EM LABORATÓRIO

O pessoal de laboratório pode ser exposto a riscos ligados a certas formas de energia e nomeadamente a fogo, eletricidade e barulho. Neste capítulo apresentam-se informações básicas sobre cada um deles.

Risco de incêndio

Uma colaboração estreita entre os responsáveis da segurança e os responsáveis locais da prevenção de incêndios é essencial. Além dos riscos de natureza química, deve-se levar em conta os efeitos de um incêndio numa disseminação eventual de material infeccioso. Isto pode determinar se é preferível extinguir o incêndio ou circunscrevê-lo. É desejável pedir a colaboração de responsáveis locais da prevenção de incêndios para formar o pessoal de laboratório em prevenção e ação imediata em caso de incêndio, e utilização de material de luta contra incêndios. Cartazes com instruções sobre a maneira de proceder em caso de incêndio e que indiquem as saídas de socorro devem estar bem visíveis nas salas, corredores e vestiários.

As causas mais correntes de incêndio em laboratório são:

1. Circuito elétrico sobrecarregado
2. Má manutenção do sistema elétrico, por exemplo, isolamento de cabos defeituosa ou em mau estado
3. Tubos de gás ou fios elétricos demasiado longos
4. Equipamento deixado ligado desnecessariamente
5. Equipamento que não foi concebido para trabalho em laboratório
6. Chamas vivas
7. Tubos de gás deteriorados
8. Erros na manipulação e armazenagem de materiais inflamáveis ou explosivos
9. Erros na separação de produtos químicos incompatíveis
10. Aparelhos que produzem faíscas na proximidade de substâncias ou vapores inflamáveis
11. Ventilação mal adaptada ou insuficiente.

O material de combate a incêndios deve ser colocado perto das portas das salas e em pontos estratégicos de corredores e salas. Tal material deve incluir mangueiras, baldes (de água ou areia) e extintores. Os extintores devem ser objeto de inspeção e manutenção periódicas e devem estar dentro do prazo de validade. O Quadro 15 apresenta diversos tipos de extintores e sua utilização.

Quadro 15. Tipos de extintores e sua utilização

TIPO	UTILIZADO PARA	NÃO UTILIZADO PARA
Água	Papel, madeira, tecido	Fogos de origem eléctrica, líquidos inflamáveis, metais incandescentes
Gases extintores de dióxido de carbono (CO ₂)	Líquidos e gases inflamáveis, fogos de origem eléctrica	Metais alcalinos, papel
Pó	Líquidos e gases inflamáveis, metais alcalinos, fogos de origem eléctrica	Material e instrumentos reutilizáveis pois os resíduos são muito difíceis de eliminar
Espuma	Líquidos inflamáveis	Fogos de origem eléctrica

Riscos eléctricos

É essencial que todas as instalações e equipamentos eléctricos sejam verificados e controlados regularmente, incluindo os sistemas de ligação à terra. Disjuntores e interruptores diferenciais devem ser instalados nos circuitos eléctricos de laboratório. Os disjuntores não protegem as pessoas; destinam-se a proteger os circuitos de uma sobrecarga eléctrica e assim evitar incêndios. Os interruptores diferenciais protegem as pessoas de choques eléctricos. Todos os aparelhos eléctricos de laboratório devem estar ligados à terra, de preferência com tomadas tripolares. Todos os aparelhos e circuitos eléctricos de laboratório devem estar em conformidade com os padrões e normas nacionais de segurança eléctrica.

Ruído

Os efeitos de uma exposição a ruído excessivo são, com o decorrer do tempo, insidiosos. Alguns aparelhos de laboratório, como por exemplo, centrífugas, capelas, shakers, instalações para animais, podem expor os trabalhadores a um ruído considerável. Para determinar o risco de exposição a ruído podem-se fazer medições acústicas. Quando justificado pelos dados obtidos, podem-se tomar certas medidas, como a colocação de vedações ou barreiras anti-ruído em volta do equipamento ruidoso ou entre as zonas ruidosas e outras zonas de trabalho. Quando não é possível baixar o nível de ruído e o pessoal de laboratório está permanentemente exposto a um ruído excessivo, deve ser instituído um programa de proteção auditiva incluindo a utilização de protetores auriculares para os trabalhos em ambiente ruidoso e um controle médico para determinar o efeito do ruído sobre o pessoal.

PARTE 18: SEGURANÇA: ORGANIZAÇÃO E FORMAÇÃO

Responsável da segurança biológica e comissão de segurança biológica

É indispensável que todos os laboratórios tenham uma política de segurança global, um manual de segurança e programas para a sua implementação. A responsabilidade pertence normalmente ao diretor ou responsável técnico pelo laboratório, o qual poderá delegar certas tarefas ao responsável da segurança ou outros membros competentes do pessoal. A segurança em laboratório é igualmente da responsabilidade de todos os supervisores e empregados, e cada trabalhador é responsável pela sua própria segurança e pela segurança dos seus colegas. Espera-se que os empregados desempenhem o seu trabalho segundo as regras de segurança e que comuniquem ao seu supervisor qualquer ato, condição ou incidente que comportem riscos. É desejável executar inspeções periódicas das condições de segurança.

Responsável da segurança biológica

Sempre que possível, deve-se nomear um responsável pela segurança biológica encarregado de assegurar que as políticas e programas de segurança biológica sejam respeitados sistematicamente em todo o laboratório. Este responsável executa estas tarefas em nome do diretor do instituto ou laboratório. Em unidades pequenas, o responsável da segurança biológica pode ser um microbiologista ou um membro do pessoal técnico que poderá desempenhar tais tarefas numa base determinada a tempo parcial. Seja qual for o grau de participação na segurança biológica, a pessoa designada deve possuir a competência profissional necessária para sugerir, examinar e aprovar atividades específicas que respeitem procedimentos apropriados de contenção e segurança biológicas. O responsável da segurança biológica deve aplicar as regras, regulamentos e diretivas nacionais e internacionais pertinentes, assim como ajudar o laboratório a elaborar normas de trabalho padrão. Esta pessoa deve ter uma formação técnica em microbiologia e bioquímica com conhecimentos básicos em ciências físicas e biologia. O conhecimento de práticas laboratoriais, clínicas e de segurança, incluindo material de contenção e princípios técnicos relacionados com a concepção, o funcionamento e a manutenção dos serviços, é muito desejável. O responsável pela segurança biológica também deve ser capaz de comunicar-se eficazmente com o pessoal administrativo, técnico e auxiliar. O responsável da segurança biológica deve:

1. Participar em reuniões técnicas sobre segurança biológica, proteção biológica e observância de técnicas.
2. Organizar auditorias periódicas internas de segurança biológica sobre métodos técnicos, práticas e protocolos, agentes biológicos, materiais e equipamento.
3. Examinar com as pessoas implicadas as violações de protocolos ou procedimentos de segurança biológica.
4. Verificar se todo o pessoal recebeu formação apropriada em questões de segurança biológica.
5. Assegurar formação contínua em segurança biológica.
6. Investigar incidentes que impliquem a fuga eventual de material potencialmente infeccioso ou tóxico, e notificar as conclusões e recomendações ao diretor do laboratório e à comissão de segurança biológica.
7. Cooperar com o pessoal médico em relação a eventuais infeções adquiridas em laboratório.
8. Assegurar a descontaminação apropriada após derrames ou outros incidentes com material infeccioso.

9. Assegurar o processamento apropriado dos resíduos.
10. Assegurar a descontaminação apropriada de qualquer aparelho antes de uma reparação ou um controlo.
11. Informar-se sobre as atitudes da comunidade em relação a questões de saúde e meio ambiente.
12. Estabelecer medidas apropriadas para a entrada/saída de material patogênico, de acordo com os regulamentos nacionais.
13. Analisar os aspectos de segurança biológica de todos os planos, protocolos e procedimentos operacionais do trabalho de investigação que envolvem agentes infecciosos, antes da implementação de tais atividades.
14. Estabelecer um sistema para enfrentar emergências.

PARTE 19: SEGURANÇA DO PESSOAL AUXILIAR

O bom funcionamento e a segurança de um laboratório dependem muito do pessoal de manutenção e de limpeza, e é essencial que tal pessoal receba formação adequada sobre segurança.

Serviços de manutenção de aparelhos e instalações

Os engenheiros e os operários qualificados responsáveis pela manutenção e reparação das instalações e equipamento, devem ter certos conhecimentos sobre a natureza do trabalho realizado no laboratório e os regulamentos e procedimentos de segurança. A experimentação de aparelhos após a sua revisão, por exemplo, verificação da eficácia das câmaras de segurança biológica depois da instalação de novos filtros, deve ser realizada pelo responsável da segurança ou sob o seu controlo. Os laboratórios ou instituições que não tenham os seus próprios serviços técnicos devem ter boas relações com os fornecedores locais desses serviços e familiarizá-los com o equipamento e o trabalho do laboratório.

PARTE 20: PROGRAMAS DE FORMAÇÃO

Uma formação contínua no local de trabalho é essencial para manter o pessoal do laboratório e o pessoal auxiliar sensibilizados para o problema da segurança. Os chefes de laboratório, com a ajuda do responsável da segurança biológica e outras pessoas competentes, desempenham o papel principal na formação do pessoal. A eficácia desta formação, assim como qualquer formação em saúde e segurança, depende do empenho da direção, de fatores de motivação, boa formação profissional inicial, boa comunicação e por fim as metas e objetivos da organização. Os elementos a seguir apresentados são vitais para um programa eficaz de formação em segurança biológica.

1. **Avaliar as necessidades.** Este processo inclui a definição das tarefas a desempenhar, a ordem de importância (em termos de frequência, necessidade e complexidade) e detalhes das medidas necessárias para as realizar.

2. **Estabelecer objetivos de formação.** São comportamentos observáveis que se espera que o pessoal adotar no trabalho, depois da formação. Estes objetivos podem levar em conta as condições em que decorrem certas atividades ou comportamentos e o nível de competência exigido.

3. **Especificar o conteúdo da formação e os meios utilizados.** O conteúdo representa os conhecimentos ou competências que a pessoa deve conhecer a fundo para poder atingir os objetivos de comportamento. O conteúdo do programa de formação em segurança biológica é normalmente definido pelas pessoas que conhecem melhor o trabalho e as suas exigências. Outras abordagens utilizadas podem concentrar-se nos resultados de exercícios de resolução de problemas ou na concepção de medidas de aprendizagem para corrigir erros cometidos ao utilizar uma dada técnica. Não está provado que um determinado método pedagógico (conferências, ensino através da televisão, ensino por computador, vídeo interativo, etc.) seja superior a um outro. Tudo depende das necessidades específicas de formação, da composição do grupo em formação, etc.

4. **Levar em conta as capacidades individuais para aprender.** Uma formação eficaz deve levar em conta as características ou atributos das pessoas em formação. Indivíduos e grupos podem diferir em aptidões, grau de instrução, cultura, maneira de se exprimir e níveis de competência antes da formação. A abordagem adotada poderá ser ditada pela maneira como as pessoas em formação vêem o programa em termos de melhoria da sua competência profissional ou da sua segurança pessoal. Certas pessoas aprendem de uma maneira mais visual ou prática, enquanto outras preferem documentos escritos. Também se deve levar em consideração qualquer necessidade especial do pessoal, como, por exemplo, adaptar os cursos para as pessoas com problemas de audição. Além de levar em conta todos estes elementos, recomenda-se a todas as pessoas que preparem programas de formação em segurança que se familiarizem com os princípios de formação de adultos.

5. **Especificar as condições de aprendizagem.** O meio de instrução (por exemplo, curso, videocassete, documentos escritos, etc.) não deve inibir nem estar em contradição ou sem relação com a aprendizagem da técnica ou tópico ensinado. Por exemplo, se a instrução tem por objetivo desenvolver aptidões em técnicas de resolução de problemas, a abordagem pedagógica deve privilegiar a reflexão e a dialética mais do que a simples memorização. A formação prestada deve exigir comportamentos produtivos e/ou

resultados apropriados (positivos, exatos, críveis). Por outro lado, todos os elementos da formação que forneçam oportunidades para aplicação prática em condições análogas às do trabalho reforçarão a transferência da competência para o trabalho efetivo.

6. **Avaliação da formação.** Esta componente fornece informações que ajudam a determinar se a formação atingiu o objetivo esperado. Esta avaliação faz-se geralmente de quatro formas:

- medindo a reação dos participantes à formação prestada
- medindo a memorização e/ou os resultados dos participantes
- avaliando as alterações de comportamento no posto de trabalho
- medindo os resultados tangíveis em termos dos objetivos ou metas da organização.

A avaliação mais completa de uma ação de formação inclui avaliações de cada uma das quatro áreas.

7. **Revisão da formação.** As avaliações de uma formação raramente indicam se um programa de formação teve êxito ou um fracasso total dado que para medir os resultados se utilizam múltiplos critérios. Geralmente, os dados indicam que certas partes do curso foram mais bem compreendidas, memorizadas ou aplicadas do que outras. Depois da formação, variações ou lacunas nos conhecimentos ou competências desejadas podem refletir a necessidade de prolongar a formação, de mudar as técnicas pedagógicas ou de recrutar instrutores mais competentes. A OMS fornece vários meios para formação em segurança microbiológica.

PARTE 21: LISTA DE CONTROLE DE SEGURANÇA

Esta lista de controle destina-se a facilitar a avaliação do grau de segurança e de proteção microbiológicas de laboratórios.

Locais

1. Os locais estão geralmente em ordem e sem obstruções?
2. Os locais estão limpos?
3. O espaço de trabalho é adequado para trabalhar sem perigo?
4. Os espaços de circulação e os corredores são adequados para o movimento de pessoas e de grandes aparelhos?
5. As bancadas de trabalho, o mobiliário e as instalações estão em boas condições?
6. As superfícies de trabalho são resistentes a solventes e produtos químicos corrosivos?
7. Há um lavatório em cada sala do laboratório?
8. A construção e a manutenção das instalações impedem a entrada e refúgio de animais roedores e artrópodes?
9. O laboratório dispõe de gerador para o caso de falta de energia?
10. O acesso aos locais do laboratório pode ser limitado ao pessoal autorizado?
11. Foi feita uma avaliação dos riscos para assegurar que o laboratório dispõe de equipamento e instalações apropriadas para a execução do trabalho a que está destinado?

Armazenamento

1. As instalações de armazenamento, prateleiras, etc. estão arranjadas de maneira que o material armazenado não possa escorregar, desabar nem cair?
2. As instalações de armazenamento não têm acumulação de lixo, materiais inúteis e objetos nos quais se pode tropeçar e que representem perigo de incêndio, de explosão ou de abrigo de animais nocivos?
3. Os congeladores e os locais de armazenagem podem ser fechados à chave?

Saneamento e instalações para o pessoal

1. Os locais são mantidos em boas condições de limpeza, ordem e higiene?
2. Dispõem de água potável?
3. Têm instalações sanitárias limpas e corretas para homens e mulheres separadamente?
4. Dispõem de água quente e fria, sabão e toalhas para mãos?
5. Têm vestiários separados para homens e mulheres?
6. Os membros do pessoal dispõem de armários (por exemplo, escaninhos) onde podem deixar a sua própria roupa?
7. O pessoal dispõe de uma sala para almoçar, etc.?
8. O nível sonoro é aceitável?
9. O sistema de recolha e eliminação do lixo corrente é satisfatório?

Aquecimento e ventilação

1. A temperatura do local de trabalho é agradável?
2. As janelas viradas para o sol têm persianas?
3. A ventilação é adequada, por exemplo, ar renovado pelo menos seis vezes por hora, especialmente nas salas com ventilação mecânica?
4. O sistema de ventilação está munido de filtros HEPA?

5. A ventilação mecânica compromete os fluxos de ar no interior e à volta das CFL e câmaras de ventilação?

Iluminação

1. A iluminação geral é adequada?
2. As bancadas de trabalho têm iluminação própria?
3. Todas as áreas estão bem iluminadas sem cantos sombrios nas salas e corredores?
4. As lâmpadas fluorescentes estão paralelos às superfícies de trabalho?
5. As lâmpadas fluorescentes têm um espectro de cores equilibrado?

Serviços

1. Cada sala de laboratório está equipada com um número suficiente de torneiras de água e de gás e tomadas elétricas para trabalhar sem perigo?
2. Existe um programa adequado de inspeção e manutenção de fusíveis, lâmpadas, cabos, canalizações, etc.?
3. As avarias são reparadas num espaço de tempo razoável?
4. Existem serviços técnicos e de manutenção internos, com engenheiros e operários competentes com alguns conhecimentos da natureza dos trabalhos efetuados no laboratório?
5. O acesso do pessoal técnico e de manutenção a várias áreas do laboratório é controlado e registrado?
6. Não existindo serviços técnicos e de manutenção internos, engenheiros e construtores locais foram contactados e familiarizados com o equipamento e o trabalho do laboratório?
7. O laboratório dispõe de serviços de limpeza?
8. Existem serviços de informática e estão protegidos?

Segurança

1. Foi feita uma avaliação qualitativa de riscos e ameaças possíveis para definir os riscos que o sistema de segurança deve controlar?
2. Foram definidos os riscos aceitáveis e os parâmetros de planificação da resposta a incidentes?
3. Quando não está ninguém no edifício, fica este fechado com segurança?
4. As portas e as janelas podem resistir a atos de vandalismo?
5. As salas onde se encontram materiais perigosos e equipamento caro ficam fechadas à chave quando não há ninguém dentro?
6. O acesso a tais salas, ao equipamento e aos materiais é devidamente controlado e registrado?

Prevenção e proteção contra incêndios

1. Existe um sistema de alarme de incêndio?
2. As portas anti-fogo estão em boas condições?
3. O sistema de detecção de incêndios está em boas condições de funcionamento e é regularmente verificado?
4. Os postos de alarme de incêndio são acessíveis?
5. Todas as saídas estão marcadas com sinais luminosos adequados?
6. O acesso às saídas está indicado quando não é imediatamente visível?
7. As saídas não estão obstruídas com decorações, móveis ou equipamento, nem fechadas quando o edifício está ocupado?

8. O acesso às saídas está organizado de maneira que, para fugir, não seja necessário passar através de uma área de alto risco?
9. Todas as saídas dão para o exterior?
10. Os corredores, passagens e áreas de circulação estão livres e não obstruídos de maneira a permitir movimentos de pessoal e de material de combate a incêndios?
11. O material e o equipamento de combate a incêndios é facilmente identificável graças a um código de cores apropriado?
12. Os extintores portáteis estão sempre cheios, em bom estado e colocados nos lugares previstos?
13. As salas de laboratório onde existem riscos potenciais de incêndio estão equipadas com extintores e/ou cobertores anti-fogo para casos de emergência?
14. Se numa sala se utilizam líquidos e gases inflamáveis, a ventilação mecânica é suficiente para remover os vapores antes que estes atinjam uma concentração perigosa?
15. O pessoal está formado para responder a casos de incêndio?

Armazenamento de líquidos inflamáveis

1. As reservas de líquidos inflamáveis são armazenadas num local separado do edifício principal?
2. O local está claramente identificado como área de risco de incêndio?
3. Tal local está equipado de um sistema de ventilação natural ou mecânica distinto do sistema do edifício principal?
4. Os interruptores da luz são estanques ou estão colocados no exterior do edifício?
5. O sistema de iluminação interior está protegido para impedir a inflamação dos vapores ao contacto de faíscas?
6. Os líquidos inflamáveis estão armazenados em recipientes apropriados e ventilados, feitos de materiais não combustíveis?
7. O conteúdo dos recipientes está corretamente indicado nas etiquetas?
8. Há extintores e/ou cobertores anti-fogo apropriados colocados no exterior mas perto do armazém de líquidos inflamáveis?
9. Há cartazes “Proibido fumar” bem visíveis no interior e no exterior do armazém de líquidos inflamáveis?
10. A quantidade de substâncias inflamáveis conservadas nas salas de laboratório é a mínima possível?
11. Tais substâncias estão armazenadas em armários devidamente fabricados para conter produtos inflamáveis?
12. Tais armários estão devidamente etiquetados com avisos “Líquido inflamável – Perigo de incêndio”?
13. O pessoal foi preparado para utilizar e transportar corretamente líquidos inflamáveis?

Gases comprimidos e liquefeitos

1. Cada bujão de gás portátil é claramente etiquetado indicando o seu conteúdo e o respectivo código de cor?
2. Os cilindros de gás comprimido e as suas válvulas reguladoras de pressão são regularmente verificadas?
3. A manutenção de tais válvulas é feita regularmente?
4. Quando se utiliza um cilindro, liga-se ao mesmo um dispositivo de redução da pressão?
5. Quando os cilindros não estão a ser utilizados ou são transportados, estão fechados com as tampas de proteção?

6. Todos os cilindros de gás comprimido estão arrumados de maneira a não cair, especialmente no caso de catástrofe natural?
7. Os cilindros e reservatórios de gás de petróleo líquido estão colocados longe de fontes de calor?
8. O pessoal foi formado para utilizar e transportar corretamente gases comprimidos e liquefeitos?

Riscos eléctricos

1. Todas as instalações novas e todas as substituições, modificações ou reparações são feitas e mantidas segundo as normas nacionais de segurança eléctrica?
2. A instalação eléctrica interior está ligada à terra (por exemplo, um sistema de três fios)?
3. Todos os circuitos do laboratório têm disjuntores e fios de terra?
4. Todos os aparelhos eléctricos foram aprovados por um laboratório de testes?
5. Os cabos de ligação flexíveis de todos os aparelhos são tão curtos quanto possível, estão em boas condições, e não estão gastos, estragados ou emendados?
6. Cada tomada só é utilizada para um aparelho (sem qualquer adaptador)?

Proteção individual

1. Para o seu trabalho normal, todos os membros do pessoal dispõem de roupa de proteção com modelos e tecidos aprovados tais como batas, jalecos, aventais, luvas?
2. Para trabalhar com produtos químicos perigosos e substâncias cancerígenas o pessoal dispõe de roupa de proteção suplementar tal como aventais e luvas de borracha para limpar derrames, e luvas resistentes ao calor para esvaziar autoclaves e fornos?
3. O pessoal dispõe de óculos de proteção e viseiras?
4. Existem locais para lavagem dos olhos?
5. Existem chuveiros de emergência?
6. O laboratório dispõe de máscaras respiratórias que são regularmente limpas, desinfetadas, verificadas e guardadas em condições de limpeza e higiene?
7. Tais máscaras são providas de filtros apropriados, por exemplo, filtros HEPA para retenção de microrganismos e filtros especiais para gases e partículas?
8. As máscaras são bem adaptadas aos utilizadores?

Saúde e segurança do pessoal

1. Existe um serviço de saúde ocupacional?
2. Há caixas de primeiros socorros em locais estratégicos?
3. O laboratório dispõe de socorristas qualificados?
4. Tais socorristas estão formados para enfrentar emergências próprias ao laboratório, como por exemplo, contato com produtos químicos corrosivos, ingestão acidental de venenos e material infeccioso?
5. O pessoal que não trabalha no laboratório (de limpeza e administrativo) está informado dos riscos potenciais que podem provir do laboratório e dos materiais nele manipulados?
6. Há avisos afixados de maneira visível com informações claras sobre a localização dos postos de primeiros socorros, os números de telefone de serviços de emergência, etc.?
7. As mulheres em idade de reprodução são informadas das consequências possíveis do trabalho com certos microrganismos, agentes cancerígenos, mutagênicos e teratogênicos?

8. Diz-se às mulheres em idade de reprodução que se estão ou suspeitam estar grávidas, devem informar o membro indicado do pessoal médico/científico para que, se necessário, se tomem medidas alternativas para o seu trabalho?
9. Existe um programa de vacinação pertinente com o trabalho do laboratório?
10. Há disponibilidade de testes cutâneos e/ou exames radiológicos para o pessoal que trabalha com material eventualmente infectado com bacilos tuberculosos ou outros materiais que exijam tais medidas?
11. Existem registros seguros de doenças e acidentes?
12. Utilizam-se sinais de alerta e de prevenção de acidentes para reduzir os acidentes de trabalho?
13. O pessoal está formado para adotar práticas apropriadas de segurança biológica?
14. O pessoal de laboratório é encorajado a assinalar riscos de exposição?

Equipamento de laboratório

1. Todos os aparelhos estão certificados como seguros?
2. Existem protocolos para descontaminação do material antes da manutenção?
3. As CFL e as câmaras de exaustão são regularmente verificadas?
4. As autoclaves e outros aparelhos que funcionam sob pressão são regularmente inspecionados?
5. Os rotores de centrifugação são regularmente inspecionados?
6. Os filtros HEPA são mudados regularmente?
7. Utilizam-se pipetas em vez de agulhas hipodérmicas?
8. Os objetos de vidro que estejam rachados e lascados são sempre descartados e nunca reutilizados?
9. Existem recipientes seguros para vidros partidos?
10. Quando possível, utiliza-se plástico em vez de vidro?
11. Existem recipientes especiais para objetos cortantes e são realmente utilizados?

Materiais infecciosos

1. As amostras são recebidas em boas condições de segurança?
2. Conservam-se registros dos materiais que chegam?
3. As amostras são desembaladas em CFL com cuidado e atenção para o caso de eventuais quebras ou derrames?
4. Utilizam-se luvas e outra roupa de proteção para desembalar amostras?
5. O pessoal foi formado para expedir substâncias infecciosas segundo os regulamentos nacionais e/ou internacionais em vigor?
6. As bancadas de trabalho são mantidas limpas e arrumadas?
7. Os resíduos de material infeccioso são removidos diariamente ou com mais frequência e eliminados segundo as normas de segurança?
8. Todos os membros do pessoal sabem como proceder em caso de quebra e derrame de culturas e materiais infecciosos?
9. O funcionamento dos esterilizadores é controlado por meio de indicadores químicos, físicos e biológicos apropriados?
10. Existem procedimentos para descontaminar as centrífugas regularmente?
11. Utilizam-se desinfetantes apropriados? São utilizados corretamente?

Produtos químicos

1. Os produtos químicos incompatíveis são efetivamente armazenados ou manipulados separadamente?
2. Todos os produtos químicos são corretamente etiquetados com nomes e advertências?

3. Os avisos de risco químico estão bem visíveis?
4. São fornecidos conjuntos para limpeza de derrames?
5. O pessoal está preparado atuar em caso de derrames?
6. Os produtos inflamáveis estão armazenados corretamente, em segurança e em pequenas quantidades em armários aprovados?
7. Existem carrinhos para transportar bujões?