

**Normas de Biossegurança do Laboratório
multiusuário Citomol - Laboratório de Citometria
de fluxo, Cultivo Celular e Biologia Molecular da
Universidade Estadual de Montes Claros**

Reitor

PROF. WAGNER DE PAULO SANTIAGO

Vice-Reitora

PROF. DALTON CALDEIRA ROCHA

Pró-Reitora de Pesquisa

PROF^a. MARIA DAS DORES MAGALHÃES VELOSO

Pró-Reitor de Pesquisa Adjunto

PROF^a. BEATRIZ REZENDE MARINHO DA SILVEIRA

**Coordenadora do Laboratório de citometria, cultivo celular e biologia molecular -
Unimontes**

PROF^a. LUCYANA CONCEIÇÃO FARIAS

Membros do Conselho Diretor do Citomol:

PROF. ALFREDO MAURÍCIO BATISTA DE PAULA

PROF. ANDRÉ LUIZ SENA GUIMARÃES

PROF. SÉRGIO HENRIQUE SOUSA SANTOS

JAMILLE FERNANDES LULA

LEANDRO DE FREITAS TELES



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Pró-Reitoria de Pesquisa



CITOMOL - Laboratório de Citometria, Cultivo Celular e Biologia Molecular

**Laboratório de Citometria, Cultivo Celular e Biologia Molecular da
Universidade Estadual de Montes Claros**

Hospital Universitário Clemente Faria

Laboratório de Pesquisa em Saúde

Av Cula Mangabeira , 562

Bairro Santo Expedito, Montes Claros, MG

cep: 39401-001

e-mail: laboratório.pesquisaensaude@unimontes.br

SUMÁRIO

1	LOCALIZAÇÃO E HORÁRIO DE FUNCIONAMENTO DO LABORATÓRIO CITOMOL.....	6
2	INSTALAÇÕES DO LABORATÓRIO CITOMETRIA DE FLUXO, CULTIVO CELULAR E BIOLOGIA MOLECULAR/Unimontes.....	7
3	NORMAS GERAIS DO LABORATÓRIO CITOMETRIA DE FLUXO, CULTIVO CELULAR E BIOLOGIA MOLECULAR/Unimontes.....	9
4	CONDUTAS E NORMAS DE BIOSSEGURANÇA PARA A REALIZAÇÃO DE EXPERIMENTOS LABORATORIAIS NO CITOMOL.....	15
5	FONTES DE RISCO.....	23
6	NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA.....	26
7	REGISTRO DE OCORRÊNCIAS.....	27
8	PROTOCOLOS E PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO.....	28
9	ASSISTÊNCIA AOS USUÁRIOS DO LABORATÓRIO MEDIANTE NECESSIDADE DE ATENDIMENTO MÉDICO DE URGÊNCIA OU EMERGÊNCIA.....	29

APRESENTAÇÃO

O ambiente laboratorial é possui riscos ocupacionais, tanto para os trabalhadores como para a natureza. Nesse sentido, é extremamente importante que os laboratórios sigam as normas estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), atendendo às exigências dos níveis de biossegurança para minimizar os riscos. As normas de segurança são fundamentais para a proteção da comunidade, dos colaboradores e do meio ambiente.

O Laboratório de Citometria, Cultivo Celular e Biologia Molecular - CITOMOL/Unimontes é um laboratório multiusuário vinculado ao Instituto de Pesquisa em Saúde onde são desenvolvidas atividades de pesquisa, ensino e extensão que envolvam biologia molecular, cultivo de células e citometria de fluxo destinados à pesquisa científica. É constituído por uma área física de tamanho e divisões adequadas, onde trabalha pessoal especializado.

O principal objetivo do CITOMOL é contribuir para o desenvolvimento e aperfeiçoamento técnico, científico e tecnológico, incluindo diversas áreas das Ciências Biológicas e da Saúde. Tem-se como valor o cumprimento dos princípios éticos e de biossegurança difundidos internacionalmente, priorizando os critérios de Boas Práticas Laboratoriais (BPLs).

Este “Manual de Normas de Biossegurança do Laboratório de citometria, cultivo celular e biologia molecular da Universidade Estadual de Montes Claros” é iniciativa do Conselho Diretor deste Laboratório. Os autores são membros da equipe do Laboratório Citomol possuem experiência teórico-prática obtida pela vivência diária associada à formação especializada na área. Estes compõem uma equipe multidisciplinar composta de biomédicos, farmacêuticos, biólogos, patologista e cirurgiões dentistas, todos estes com experiência e formação na área de citometria de fluxo, cultivo celular e biologia molecular, trazendo para o manual os diversos olhares profissionais e uma abordagem integrada.

O manual tem como objetivo informar aos colaboradores e demais usuários do laboratório quanto aos requisitos gerais de Biossegurança e a importância dos mecanismos de proteção individual e coletiva, visando à competência em realizar atividades laboratoriais de forma a prevenir, controlar, reduzir e/ou eliminar os fatores de risco inerentes aos processos de trabalho que possam afetar a saúde, o meio ambiente e a qualidade do trabalho desenvolvido esclarecendo os princípios básicos de biossegurança, bem como o correto uso dos Equipamentos de Proteção Individual (EPI) e

Equipamentos de Proteção Coletivos (EPC), além de medidas que evitem os acidentes em laboratórios.

1. LOCALIZAÇÃO E HORÁRIO DE FUNCIONAMENTO DO LABORATÓRIO DE CITOMETRIA DE FLUXO, CULTIVO CELULAR E BIOLOGIA MOLECULAR

O Laboratório de Citometria de Fluxo, Cultivo Celular e Biologia Molecular da Unimontes encontra-se localizado no Laboratório de Pesquisa em Saúde, Hospital Universidade Clemente de Faria/Unimontes, situado à Avenida Cula Mangabeira, 562, Bairro Santo Expedito, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil.

O Laboratório Citomol encontra-se em funcionamento e disponível aos discentes, docentes e/ou pesquisadores de segunda à sábado, das 7:00 às 18:00 horas. Em dias e horários excepcionais a esses, o coordenador do projeto em execução no laboratório deverá encaminhar um requerimento à coordenação, em um prazo mínimo de 24 horas de antecedência.

2. INSTALAÇÕES DO LABORATÓRIO DE CITOMETRIA DE FLUXO, CULTIVO CELULAR E BIOLOGIA MOLECULAR/UNIMONTES

O Laboratório de Citometria de Fluxo, Cultivo Celular e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Montes Claros está lotado no Laboratório de Pesquisa em Saúde, localizado em um prédio específico no Hospital Universitário Clemente de Faria/Universidade Estadual de Montes Claros sendo todas as salas de experimentação e análises contempladas com ar refrigerado e sistema de exaustão e purificação de ar, quando necessários.

Parágrafo 1 - Para atender as normas de biossegurança, o laboratório CITOMOL possui 15 áreas distintas:

I Sala de recepção: ambiente específico para recebimento de materiais, conferência e registro em planilha.

II Sala Análises Citometria: ambiente com equipamentos para serem feitos análises experimentais, nesta sala se encontra 1 citômetro de fluxo, 1 microscópio de fluorescência, um scanner de lâminas e 1 leitor de placas.

III Sala de lavagem e descarte de resíduos: Possui pia, armários e bancadas. A lavagem de materiais é realizada nesta sala. Encontra-se disponível nesta sala materiais de limpeza, sacos de lixo hospitalar e dispositivos para coleta especial de lixo.

IV Sala de esterilização dos materiais: Possui capacidade de esterilização de materiais e soluções. Possui armários e bancadas, autoclave e estufa.

V Cultivo celular Primário: Sala destinada ao cultivo de células primárias. Possui bancada, microscópio, estufa de CO₂, capela de fluxo laminar, geladeira, contador automático de células. Além de conter uma antecâmara para se fazer a paramentação.

VI Cultivo celular Secundário: Sala destinada ao cultivo de células imortalizadas. Possui bancada, pia, microscópio invertido, estufa de CO₂, capela de fluxo laminar, geladeira, contador automático de células e centrífuga. Além de conter uma antecâmara para se fazer a paramentação necessária.

CITOMOL - Laboratório de Citometria, Cultivo Celular e Biologia Molecular

VII Sala Extração de proteínas: Ambiente destinado a técnicas como eletroforese e western blotting. Possui bancada, pia, liofilizador, microondas, transblotter tubo, criostato, homogeneizador vertical de microplaca, agitador de microplaca, eletroforese e western blotting.

VIII Sala Extração DNA/RNA: Ambiente destinado à extração de material genético, conversão e análises do material. Possui bancada, capelas de fluxo laminar, centrífugas para microtubos com refrigeração, centrífuga para eppendorf, banho seco, nanodrop, Qubit 4, barcode.

IX Sala RT-PCR: Ambiente destinado às técnicas de RT-PCR. Possui bancada, termociclador, leitor de microplacas, mini centrífuga de placa, sistema de PCR em tempo real QuantStudio 6, sistema de PCR em tempo real Step One.

X Sala Imunohistoquímica: Sala utilizadas para preparo e coloração de amostras. Possui bancada, pia, dispensador de parafina, micrótomo, microscópio óptico, processador de tecidos, banho-maria.

XI Sala preparo de Mix: Possui bancada e fluxo laminar vertical utilizados apenas para o preparo de mix.

XII Sala de tratamento de água e pesagem: Sala para preparo de soluções. Possui Sistema de filtragem de água MilliQ, sistema de filtragem de água Tipo 3, balança semi-analítica, balança analítica, pHmetro, máquina de gelo, misturador automático e vidrarias.

XIII Sala de Freezers: Possui Freezers -80, Freezers -20 e geladeiras para armazenamentos de amostras.

XIV Banheiros: Possui banheiros feminino e masculino.

XV Sala DML: Possui sala para armazenamento de material de limpeza.

.Parágrafo 2 - As salas do laboratório Citomol são adequadas às normas NB2. E possui outras salas que se encontram situadas outros andares do prédio do referido Laboratório de Pesquisa em Saúde/Unimontes que é utilizada para suporte ao laboratório Citomol:

I Laboratório de Análise de imagens

II Estoque

VI Laboratório de Informática.

3. NORMAS GERAIS DO LABORATÓRIO DE CITOMETRIA DE FLUXO, CULTIVO CELULAR E BIOLOGIA MOLECULAR/UNIMONTES

- O desenvolvimento de pesquisas experimentais no Laboratório Citomol da Unimontes está vinculado ao cumprimento das seguintes condições:

3.1 CADASTRO DE PROJETOS E APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA/UNIMONTES:

Todos os projetos que envolvam experimentação humana ou animal devem ser submetidos aos comitês responsáveis da Universidade Estadual de Montes Claros/Unimontes ou de uma instituição parceira. Além disso, deve-se realizar o preenchimento de um Termo de Compromisso assinado pelo coordenador do projeto, confirmando o cumprimento de todas as normas do CITOMOL, Comitê de ética institucional, da Comissão Nacional Ética em Pesquisa (CONEP) ou do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), nesse último caso para pesquisas que utilizam animais. Somente após a aprovação do protocolo de pesquisa por comitê de ética, será permitido seu início. A partir dessa etapa, o coordenador do projeto deverá solicitar e realizar o cadastro do projeto no banco de projetos do Laboratório CITOMOL/Unimontes. Devem ser respondidas todas as questões solicitadas no formulário específico, além do envio do Protocolo de aprovação ética e Termo de compromisso assinado pelo coordenador do projeto.

3.2 TREINAMENTO DE USUÁRIOS DO LABORATÓRIO CITOMOL:

Todos os usuários, membros de projetos de pesquisa, que iniciarão seus experimentos no Laboratório de Citometria de Fluxo, Cultivo Celular e Biologia Molecular/Unimontes, deverão realizar treinamento teórico-prático. Além disso, deve-se realizar uma avaliação teórica no portal <http://www.ead.unimontes.br/ava/proreitoria> (Curso: Biossegurança em Laboratório). Os materiais para estudo encontram-se disponíveis neste sítio. Uma vez realizado a avaliação teórica, o usuário deverá enviar as seguintes informações para o e-mail laboratorio.pesquisaemsaude@unimontes.br: nota da avaliação (print da nota) e dados para cadastro da biometria, incluindo: nome, CPF, RG, endereço, telefone, e-mail, matrícula ou MASP, comprovando vínculo na Unimontes.

3.3 AGENDAMENTO DE SALAS E EQUIPAMENTOS DO LABORATÓRIO CITOMOL PARA FINS DE PESQUISA, ENSINO OU EXTENSÃO:

O agendamento das salas e equipamentos do Citomol deve ser realizado pelo coordenador do projeto ou outro pesquisador responsável pelo projeto.

Para isso, entrar em contato por email: laboratorio.pesquisaemsaude@unimontes.br

Antes de realizar o agendamento, o usuário deverá ter cadastrado o seu projeto na plataforma e ter realizado o treinamento teórico-prático.

Os seguintes ambientes encontram-se disponíveis para experimentação:

- sala de citometria e leitor de microplacas
- salas de cultivo celular (células primárias) - certificação NBII de biossegurança
- salas de cultivo celular (células imortalizadas) - certificação NBII de biossegurança
- sala de PCR em tempo real
- sala para ensaios de proteínas
- sala para extração de ácidos nucleicos
- sala de preparo de mix para PCR
- sala de pesagem de reagentes e tratamento de água ultrapura
- sala de esterilização
- sala de lavagem de materiais

Os seguintes equipamentos encontram-se disponíveis para experimentação:

- Citômetro de fluxo analisador e cell sorter (1)
- leitor multimodal de microplacas (1)
- leitores de microplacas convencionais
- freezer -20°C (2)
- ultrafreezer -80°C
- autoclave 75 litros (2)
- filtro milli Q (1)
- filtro osmose reversa (1)

- geladeiras (4)
- balança semi analítica (1)
- balança analítica (1)
- medidor de pH (1)
- centrífuga refrigerada (1)
- centrífuga comum (3)
- microscópio de fluorescência (1)
- microscópio invertido (1)
- micrótomo (1)
- processador de tecidos (1)
- máquinas para PCR em tempo real (3)
- nanodrop para quantificação de ácidos nucleicos (1)
- Qubit para análise de integridade de RNA (1)
- termocicladores (2)
- cuba e fonte para eletroforese (1)
- contador automático de células fluorescentes/Countess (2)
- capelas de fluxo laminar (5)
- banho maria (1)
- banho seco (2)
- estufa CO₂ (3)
- sistema para leitura e análise de geis de Western Blot (1)
- semi dry para Western Blot (1)
- liofilizador de amostras (1)
- microondas (1)
- estufa para esterilização e secagem (2)

CITOMOL - Laboratório de Citometria, Cultivo Celular e Biologia Molecular

Instruções gerais para reservas de horário:

- Ao realizar uma reserva de algum equipamento do Citomol, o usuário deverá ter cadastrado o seu projeto na plataforma e ter realizado o treinamento teórico-prático.
- As reservas devem ser feitas com, no máximo, duas semanas de antecedência;
- Reservas feitas com mais de duas semanas serão automaticamente canceladas;
- As reservas deverão ser de segunda à sábado, das 7:00 às 18:00 horas. Em dias e horários excepcionais a esses, o coordenador do projeto em execução no Citomol deverá encaminhar um requerimento à coordenação do Laboratório, em um prazo mínimo de 24 horas de antecedência. Não sendo permitido a utilização do espaço sem agendamento prévio. Em situações excepcionais, como falha de algum equipamento, entraremos em contato informando o ocorrido através do e-mail cadastrado no formulário preenchido;
- A utilização dos espaços e equipamentos fora do horário de funcionamento, ou seja, nos finais de semana e antes das 7:00 horas da manhã ou após às 18:00 horas da noite dos dias úteis, não será permitida para usuário discente desacompanhado;
- Caso necessite cancelar o agendamento, este deverá ser comunicado 48h antes do dia agendado (email: laboratorio.pesquisaemsaude@unimontes.br).

Observações importantes:

- É estritamente proibido o uso dos equipamentos do Citomol por pessoas não autorizadas;
- Os equipamentos só podem ser utilizados para capturar e armazenar dados temporariamente. Todos os outros tipos de arquivos serão excluídos sem aviso prévio. Nenhum programa pode ser instalado nos computadores sem permissão da coordenação do Citomol;
- Os dados serão enviados através do link do google drive. Não é permitido a utilização de pendrive ou HD externo nos equipamentos do Citomol;
- As imagens dos usuários permaneceram nos computadores utilizados somente no prazo de 72h, após este período os arquivos serão excluídos sem aviso prévio;

CITOMOL - Laboratório de Citometria, Cultivo Celular e Biologia Molecular

- O nome do “Citomol - Laboratório de Citometria, Cultivo Celular e Biologia Molecular/Unimontes” deverá ser mencionado em todas as publicações originadas de trabalhos realizados com uso dos equipamentos do nosso Laboratório.

3.4 RESPONSABILIDADE:

O coordenador do projeto é responsável pelo custeio de todos os itens necessários à realização da pesquisa, de todas as etapas experimentais, bem como pela condução da equipe de colaboradores. Além disso, este é responsável pelo cumprimento das normas de biossegurança em laboratórios, bem como as normas apresentadas no Manual de procedimento e normas de biossegurança do Laboratório de Citometria de Fluxo, Cultivo Celular e Biologia Molecular - CITOMOL/Unimontes. Tais responsabilidades serão asseguradas através do Termo de Responsabilidade assinado pelo coordenador do projeto. O termo encontra-se disponível no formulário de cadastro próprio, a ser enviado pela coordenação.

Ademais, condutas inadequadas e desrespeitosas em relação aos usuários e servidores, ou que infrinjam a biossegurança e o comprometimento dos equipamentos, o usuário poderá, observado a reincidência ou gravidade do ato:

- Ser advertido com comunicação ao docente responsável;
- Ser impedido de frequentar o local sem acompanhamento do responsável;
- Ter sua condição de usuário suspensa;
- Ser encaminhado aos órgãos competentes para medidas disciplinares.

3.5 SOBRE AS NORMAS GERAIS DE BIOSSEGURANÇA:

Os protocolos de biossegurança do Laboratório é o conjunto de ações voltadas para a preservação, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos envolvidos, orientando a manipulação e o descarte adequado de resíduos químicos, tóxicos e infectantes. Esses protocolos foram elaborados de acordo com leis nacionais e internacionais. Sendo assim, os aspectos abordados incluem: padronização dos protocolos; treinamento dos funcionários e dos usuários

CITOMOL - Laboratório de Citometria, Cultivo Celular e Biologia Molecular

(pesquisadores, técnicos, alunos de graduação e pós-graduação); uso de equipamentos de segurança individual e coletiva; validação e manutenção dos equipamentos; adequado descarte de material biológico, sendo os procedimentos criteriosamente organizados em manuais operacionais e continuamente revisados.

A responsabilidade legal pela segurança em ambientes de trabalho cabe aos administradores, no entanto, os funcionários devem incorporar em sua rotina de trabalho as Boas Técnicas e as Normas de Biossegurança.

A Norma Regulamentadora (NR-9) considera os riscos ambientais, os agentes físicos, químicos e biológicos existentes nos ambientes de trabalho que, em função de sua natureza, concentração ou intensidade e tempo de exposição, são capazes de causar danos à saúde do trabalhador.

Neste contexto, deve-se:

- Implementar as normas preconizadas em Biossegurança a fim de prevenir riscos para funcionários, alunos, pacientes e meio ambiente;
- Padronizar e normatizar procedimentos que regulamentem as normas de segurança;
- Identificar e classificar áreas de risco;
- Estabelecer programas de treinamento para prevenção de acidentes e monitorar acidentes de trabalho.

4. CONDUTAS E NORMAS DE BIOSSEGURANÇA PARA A REALIZAÇÃO DE EXPERIMENTOS LABORATORIAIS NO CITOMOL:

As atividades realizadas em laboratório demandam do profissional uma cuidadosa observância de uma série de medidas de segurança, devido aos potenciais riscos à saúde associados ao manuseio de materiais biológicos contaminados, bem como à utilização de vidrarias, equipamentos e produtos químicos. A implementação de boas práticas é essencial, uma vez que estas se referem às normas de conduta que norteiam os trabalhos laboratoriais, visando assegurar a segurança tanto individual quanto coletiva, além de garantir a reprodutibilidade da metodologia e dos resultados obtidos.

Conforme as diretrizes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), as Boas Práticas em Laboratórios (BPL) têm como finalidade avaliar o potencial de riscos e a toxicidade de produtos, com foco na promoção da saúde humana, animal e preservação do meio ambiente. Portanto, a não utilização de forma adequada das BPL, pode ocasionar riscos iminentes do âmbito laboratorial.

4.1 NORMAS GERAIS DE HIGIENE

- Manter cabelos longos presos;
- Usar exclusivamente sapatos fechados;
- O ideal é não usar lentes de contato. Se for indispensável usá-las, não podem ser manuseadas durante o trabalho e devem ser protegidas por óculos de segurança;
- Não aplicar cosméticos quando estiver na área laboratorial;
- Não usar qualquer adorno durante as atividades laboratoriais;
- Manter as unhas cortadas e limpas;
- Não levar objetos à boca;
- Lavar as mãos com água e sabão, por meio de técnica adequada (Figura 1) para a remoção mecânica de sujidades e a microbiota transitória da pele.

Notas:

1. As mãos devem ser lavadas ao entrar no laboratório, depois de manipular amostras, depois de realizar qualquer procedimento, depois de tirar luvas e jaleco e antes de sair do laboratório;
2. Após a lavagem das mãos, aplicar antissépticos, preferencialmente álcool a 70% (glicerinado ou não);
3. O uso de luvas não substitui a necessidade da LAVAGEM DAS MÃOS porque elas podem ter pequenos orifícios inaparentes ou danificar-se durante o uso, podendo contaminar as mãos quando removidas.



Figura 1 . Técnica de higienização das mãos.

4.2 NORMAS PARA ÁREA ANALÍTICA

- Não pipetar com a boca; utilizar pipetas e pipetadores próprios para experimentos laboratoriais;
- Não fumar, beber ou se alimentar;
- Não armazenar alimentos e artigos de uso pessoal no laboratório;
- Não assistir televisão e ouvir aparelhos eletrônicos, inclusive com fone de ouvido;
- Não segurar o telefone ou manipular qualquer outro objeto externo à área analítica calçando luvas;
- Não usar telefones celulares durante as atividades laboratoriais;
- Não usar equipamentos da área analítica para aquecer e preparar alimentos;
- Não utilizar refrigeradores da área analítica para armazenar alimentos ou bebidas;
- Não receber pessoas estranhas ao serviço, inclusive crianças;
- Não usar ventiladores.

4.3 DESCONTAMINAÇÃO, LIMPEZA E ESTERILIZAÇÃO

Descontaminação é processo pelo qual agentes de risco são removidos ou eliminados ou os seus efeitos adversos são neutralizados. (Resolução - RDC N° 11, de 16 de fevereiro de 2012).

Em nossa rotina a descontaminação de bancadas e equipamentos deverá ser realizada pelo aluno responsável pelo experimento conforme as seguintes orientações:

- As superfícies das bancadas de trabalho devem ser limpas e descontaminadas com álcool etílico a 70% antes e após os trabalhos e sempre após algum respingo ou derramamento, sobretudo no caso de material biológico potencialmente contaminado e substâncias químicas;
- Antes de qualquer serviço de manutenção, todo o equipamento deve ser desinfetado com álcool etílico 70%;
- A descontaminação de piso, paredes, portas será realizada semanalmente pela equipe de limpeza terceirizada conforme a programação;
- Caso seja necessário processos de autoclavagem de vidrarias, meios de cultura ou qualquer material potencialmente contaminado por agente biológico, utilizar a autoclave seguindo o manual de instruções (fixado junto ou próximo do equipamento).

4.4 DESCARTE DE RESÍDUOS

Todos os materiais gerados, limpos ou contaminados por resíduo infectante deverão ser acondicionados em recipientes com tampa, rígidos e resistentes à punctura, ruptura e vazamento que estão disponíveis no setor (figura 2).

- Colocar vidrarias, seringas, agulhas e materiais perfurocortantes ou pontiagudos em caixa com paredes rígidas específicas para perfurocortantes, devidamente identificada, e descartada como lixo infectante para serem recolhidas pela empresa contratada para descarte;
- Colocar todo o material potencialmente contaminado por agentes biológicos, utensílios descartáveis, luvas, gorros, máscaras e etc em recipientes com tampa providos de saco branco leitoso, devidamente identificados como infectantes, para serem removidos pela empresa contratada para descarte.
- Papéis e material de escritório, ou que não tiveram contato com material e superfícies infectantes, devem ser descartados em recipientes de saco preto – lixo comum.



**LIXO
INFECTANTE**



**DESCARPACK
(Perfurocortantes)**



**LIXO COMUM
(recepção/copa)**

Figura 2. Coletores específicos utilizados no ambiente laboratorial.

4.5 EQUIPAMENTOS DE SEGURANÇA

4.5.1 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL

Considera-se Equipamento de Proteção Individual - EPI, todo dispositivo ou produto, de uso individual utilizado pelo trabalhador, destinado à proteção de riscos suscetíveis de ameaçar a segurança e a saúde no trabalho. São elementos de contenção de uso individual utilizados para proteger o profissional do contato com agentes infecciosos, químicos ou físicos no ambiente de trabalho, como também servem para evitar a contaminação do material em experimento ou em produção. Os equipamentos disponíveis e /ou fornecidos em nossa unidade estão listados abaixo.

Jaleco: São de uso obrigatório para todos que trabalham nos ambientes laboratoriais onde ocorra a manipulação de microrganismos patogênicos, manejo de animais, lavagem de material, esterilização e manipulação de produtos químicos. Devem ser de mangas longas, confeccionados em algodão ou fibra sintética (não inflamável). Os descartáveis devem ser resistentes e impermeáveis.

OBSERVAÇÃO: Jalecos NUNCA devem ser colocados no armário onde são guardados objetos pessoais. Devem ser lavados separadamente da roupa da família, com desinfetante à base de cloro 1%, durante o processo de lavagem. No Citomol, encontra-se disponível um cesto para recolhimento de jalecos de tecido para lavagem no setor próprio do Hospital Universitário Clemente de Faria/Unimontes.

Luvas: As luvas devem ser usadas em atividades laboratoriais com riscos químicos, físicos (cortes, calor, radiações) e biológicos. Fornecem proteção contra dermatites, queimaduras químicas e térmicas, bem como as contaminações ocasionadas pela exposição repetida a pequenas concentrações de numerosos compostos químicos. As luvas devem ser resistentes, anatômicas, flexíveis, pouco permeáveis, oferecer conforto e destreza ao usuário, além de serem compatíveis com o tipo de trabalho executado. A seleção deve se basear nas características, condições e duração de uso nos perigos inerentes ao trabalho, por exemplo:

- Luvas de látex descartáveis, estéreis (luvas cirúrgicas) ou não (luvas de procedimento) para manuseio de material biológico;
- Luvas de proteção ao calor, geralmente em tecidos e fibras resistente a alta temperaturas; lã;

CITOMOL - Laboratório de Citometria, Cultivo Celular e Biologia Molecular

- Luvas de proteção ao frio de nylon impermeabilizado, tecido emborrachado ou luvas para manuseio de produtos químicos de borracha, PVC ou PVA.

OBSERVAÇÃO: Enquanto estiver de luvas, o trabalhador não pode manusear maçanetas, telefones fixos ou celulares, puxadores de armários e outros objetos de uso comum; NÃO usar luvas fora da área de trabalho; LAVAR INSTRUMENTOS e superfícies de trabalho SEMPRE usando luvas; NUNCA reutilizar as luvas descartáveis, DESCARTÁ-LAS de forma segura.

- **Calçados de segurança:** São destinados à proteção dos pés contra umidade, respingos, derramamentos e impactos de objetos diversos, não sendo permitido o uso de tamancos, sandálias e chinelos em laboratórios.
- **Máscaras de proteção:** As máscaras de proteção são equipamentos de proteção das vias aéreas (nariz e boca), confeccionados em tecido ou fibra sintética descartável, utilizadas em situações de risco de formação de aerossóis e salpicos de material potencialmente contaminado. As máscaras ou respiradores “bicos de pato” N95 ou PFF2 (95 e 94% de eficiência de filtração, respectivamente) possuem filtro eficiente para retenção de partículas maiores que 0,3 µm, vapores tóxicos e contaminantes presentes na atmosfera sob a forma de aerossóis, tais como o bacilo da tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) e outras doenças de transmissão aérea. Dessa forma, aumentam a proteção dos profissionais manipuladores.

OBSERVAÇÃO: Cuidados na utilização e preservação possibilitam a reutilização da máscara N95/PFF2, tais como: Não utilizar cosméticos (batons, maquiagens), pois os produtos podem manchar e obstruir os filtros das máscaras, diminuindo a eficiência de proteção; Não guardar em bolsos de jalecos, não dobrar, nem amassar. Guardá-las sempre em local seco entre folhas de papel absorvente.

- **Protetores oculares** - Servem para proteger os olhos contra impactos, respingos e aerossóis. É importante que sejam de qualidade comprovada, a fim de proporcionar ao usuário visão transparente, sem distorções e opacidade.
- **Protetores auditivos** - Usados para prevenir a perda auditiva provocada por ruídos. Devem ser utilizados em situações em que os níveis de ruído sejam considerados prejudiciais ou nocivos em longa exposição.

- **Toucas ou gorros:** dependendo da atividade desenvolvida, devem ser utilizadas toucas para proteger os cabelos de contaminação (aerossóis e respingos de líquidos) ou evitar que os cabelos contaminem uma área estéril. As toucas são confeccionadas em diferentes materiais, e devem permitir a oxigenação do couro cabeludo, podendo ser reutilizáveis. Para isso, devem ser de material de fácil lavagem e desinfecção.
- **Pró-pés:** sapatilhas esterilizadas confeccionadas em algodão (em geral) para áreas estéreis, que podem ser reutilizadas conforme o tipo de material de sua confecção e a atividade desenvolvida.
- **Dispositivos de pipetagem:** peras, pipetadores automáticos, e outros dispositivos de pipetagem também são considerados EPIs.

4.5.2 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO COLETIVA

Os equipamentos de proteção coletiva (EPC) têm a função de proteger o ambiente e a saúde dos laboratoristas, além da integridade dos mesmos; são utilizados tanto em procedimentos rotineiros como é o caso da Cabine de Segurança Biológica (CSB) como em casos de acidentes maiores como o lava olhos, extintores e o chuveiro de emergência (este ainda não tem em nossa unidade, mas está ilustrado para nosso conhecimento).

- **Lava Olhos:** Serve para eliminar ou minimizar danos causados por acidentes nos olhos e/ou face. É um dispositivo formado por dois pequenos chuveiros de média pressão, acoplados a uma bacia metálica, cujo ângulo permite direcionamento correto do jato de água. Pode fazer parte do chuveiro de emergência ou ser do tipo frasco de lavagem ocular.
- **Chuveiro de Emergência:** É imprescindível para eliminação ou minimização aos danos causados por acidentes em qualquer parte do corpo. Chuveiro de aproximadamente 30 cm de diâmetro, acionado por alavancas de mão, cotovelos ou joelhos. Deve estar localizado em local de fácil acesso.
- **Cabines de Segurança Biológica – CSB:** As CSB constituem o principal meio de contenção e são utilizadas para proteger o profissional e o ambiente laboratorial dos aerossóis ou borrifos infectantes, gerados a partir de procedimentos como centrifugação, trituração, homogeneização, agitação vigorosa e misturas, e durante a manipulação dos materiais biológicos. Protegem também o produto que está sendo manipulado, evitando a sua contaminação, com exceção da CSB classe I. As CSB são providas de filtros de alta

eficiência/HEPA.

- **Extintores:** Brigadistas, compostos por colaboradores, são treinados ANUALMENTE e/ou bombeiros devem mostrar seu uso e localização.

5. FONTES DE RISCOS

O laboratório clínico possui inúmeras situações de riscos aos profissionais, os quais podem produzir desde alterações leves a graves. Podem causar acidentes de trabalho e/ou doenças profissionais nos indivíduos a eles expostos, pois os líquidos biológicos e os sólidos manuseados nos laboratórios de análises clínicas são, quase sempre, fontes de contaminação. Além disso, devemos ficar atentos para não haver contaminação cruzada dos materiais, não contaminar o pessoal do laboratório, e da equipe de limpeza, os equipamentos e o meio ambiente através de aerossóis. Na opinião de especialistas que discutem a biossegurança, o problema crucial não está nas tecnologias disponíveis para eliminar e minimizar os riscos, mas no comportamento dos profissionais. Um profissional de saúde que não lava as mãos com a frequência adequada ou o lixo hospitalar descartado de maneira errada são práticas do dia-a-dia que também trazem riscos. Por isso a importância de normas de biossegurança em laboratórios clínicos é fundamental para a segurança dos trabalhadores, qualquer que seja a área de atuação, através de treinamentos e acesso a informações para melhoria nas condições da própria segurança.

5.1 TIPOS DE RISCOS

(Portaria do Ministério do Trabalho, MT no. 3214, de 08/06/78)

- **Risco de Acidente:** É o risco de ocorrência de um evento negativo e indesejado do qual resulta uma lesão pessoal ou dano material. Em laboratórios os acidentes mais comuns são as queimaduras, cortes e perfurações.
- **Risco Ergonômico:** Considera-se risco ergonômico qualquer fator que possa interferir nas características psicofisiológicas do trabalhador, causando desconforto ou afetando sua saúde. Pode-se citar como exemplos o levantamento e transporte manual de peso, os movimentos repetitivos, a postura inadequada de trabalho, que podem resultar em LER – Lesões por Esforços Repetitivos, ou DORT – Doenças Osteomusculares Relacionadas ao Trabalho. O ritmo excessivo de trabalho, a monotonia, longos períodos de atenção sustentada, ambiente não compatível com a necessidade de concentração, pausas insuficientes para descanso intra e interjornadas, assim como problemas de relações interpessoais no trabalho também apresentam riscos psicofisiológicos para o trabalhador.
- **Risco Físico:** Está relacionado às diversas formas de energia, como pressões anormais,

temperaturas extremas, ruído, vibrações, radiações ionizantes (Raio X, Iodo 125, Carbono 14), ultrassom, radiações não ionizantes (luz Infravermelha, luz Ultravioleta, laser, micro ondas), a que podem estar expostos os trabalhadores.

- **Risco Químico:** Refere-se à exposição a agentes ou substâncias químicas na forma líquida, gasosa ou como partículas e poeiras minerais e vegetais, presentes nos ambientes ou processos de trabalho, que possam penetrar no organismo pela via respiratória, ou possam ter contato ou ser absorvidos pelo organismo através da pele ou por ingestão, como solventes, medicamentos, produtos químicos utilizados para limpeza e desinfecção, corantes, entre outros.
- **Risco Biológico:** Refere-se à exposição a micro-organismos, como vírus, bactérias, fungos, parasitas e protozoários, que, em contato com o homem, podem provocar inúmeras doenças.

5.2 CLASSIFICAÇÃO DOS RISCOS BIOLÓGICOS (SEGUNDO NR32)

Este manual faz referência aos perigos relativos de microrganismos infecciosos, por classes de risco (Classes de Risco 1, 2, 3 e 4 da Organização Mundial da Saúde -OMS). Esta classificação só deve ser utilizada em trabalho laboratorial. A seguir descrevem-se os grupos de risco classificados segundo os seguintes critérios: Patogenicidade para o homem Virulência · Modos de transmissão · Disponibilidade de medidas profiláticas eficazes · Disponibilidade de tratamento eficaz · Endemicidade.

- **Classe de Risco 1:** baixo risco individual para o trabalhador e para a coletividade, com baixa probabilidade de causar doença ao ser humano. Ex.: *Bacillus subtilis*.
- **Classe de Risco 2:** risco individual moderado para o trabalhador e com baixa probabilidade de disseminação para a coletividade. A exposição ao agente patogênico pode provocar infecção, porém, se dispõe de medidas eficazes de tratamento e prevenção, sendo o risco de propagação limitado. Ex.: Vírus das Hepatites A, B, C, D e Ex.; Vírus da Imunodeficiência Humana; *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella Enteritidis*, *Neisseria meningitidis*, *Toxoplasma gondii*, *Schistosoma mansoni*.
- **Classe de Risco 3:** risco individual elevado para o trabalhador e com probabilidade de disseminação para a coletividade. Podem causar doenças e

infecções graves ao ser humano, para as quais nem sempre existem meios eficazes de profilaxia ou tratamento. Ex.: Culturas de Vírus das Hepatites A, B, C, D e Ex.; culturas de Vírus da Imunodeficiência Humana; Culturas de *Mycobacterium tuberculosis*.

- **Classe de Risco 4:** risco individual elevado para o trabalhador e com probabilidade elevada de disseminação para a coletividade. Apresenta grande poder de transmissibilidade de um indivíduo a outro, direta ou indiretamente. Podem causar doenças graves ao ser humano, para as quais não existem meios eficazes de profilaxia ou tratamento (NR32, Portaria n°.485 de 11.11.2005). Ex.: Vírus Ebola.

6. NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA

Os níveis de biossegurança se referem a associação entre instalações, equipamentos de segurança e práticas de laboratório. Existem quatro níveis de biossegurança em laboratórios, gerando certo grau de proteção aos laboratoristas, ao meio ambiente e à comunidade.

- **Nível de Biossegurança 1** – Onde o trabalho com microrganismos (classe de risco 1) geralmente não decorre em patologias nos seres humanos ou animais de laboratório.
- **Nível de Biossegurança 2** – Onde os procedimentos com microrganismos (classe de risco 2) são capazes de causar doenças em seres humanos ou em animais de laboratórios, porém sem apresentar risco grave aos trabalhadores, comunidade ou ambiente. Agentes não transmissíveis pelo ar.
- **Nível de Biossegurança 3** – Quaisquer procedimentos para o trabalho com microrganismos (classe de risco 3) que geralmente causam doenças em seres humanos ou em animais, e além disso, pode representar um risco se disseminado na comunidade, mas usualmente existem medidas de tratamento e prevenção. Exigem contenção para impedir a transmissão pelo ar.
- **Nível de Biossegurança 4** – Quaisquer procedimentos para o trabalho com microrganismos (classe de risco 4) que causam doenças graves ou letais em seres humanos e animais, com fácil transmissão por contato individual e casual. Não existem medidas preventivas e de tratamento para estes agentes.

7. REGISTRO DE OCORRÊNCIAS:

É essencial que todos os acidentes, incluindo contaminações com material biológico, sejam registrados. Deve-se comunicar a ocorrência, imediatamente, à coordenação e/ou responsável técnico e ao coordenador do projeto. Quando possível, o pessoal deve ser protegido por imunização com vacinas apropriadas.

Encontra-se na sala da recepção, um livro para anotações de possíveis ocorrências neste local, bem como orientações para o direcionamento para atendimento hospitalar no Hospital Universitário Clemente de Faria/Unimontes.

8. PROTOCOLOS E PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO:

O coordenador do projeto de pesquisa a ser executado no laboratório deverá apresentar ao responsável técnico do Citomol os Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) referentes às atividades específicas do projeto. No entanto, a equipe de trabalho deverá seguir os protocolos padrão do laboratório. Todas atividades devem possuir um POP individual, e o conjunto deverá ser encaminhado à coordenação do laboratório, através do email laboratório.pesquisaemsaude@unimontes.br.

Os POPs do laboratório estarão disponíveis no drive do laboratório, descrevendo todas as etapas de execução de protocolos padrão, que deverão ser seguidas por todos os usuários.

9 ASSISTÊNCIA AOS USUÁRIOS DO LABORATÓRIO MEDIANTE NECESSIDADE DE ATENDIMENTO MÉDICO DE URGÊNCIA OU EMERGÊNCIA

O Laboratório de Citometria, Cultivo Celular e Biologia Molecular da Unimontes está localizado no Instituto de Pesquisa em Saúde, em um prédio específico no Hospital Universitário Clemente de Faria/Unimontes. Dessa forma, o atendimento médico de urgência ou emergência, devido a algum acidente ou ocorrência com usuários do laboratório, será prontamente direcionado ao serviço do referido hospital, seguindo o fluxo de atendimento do referido hospital universitário.