



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL-CTDR**

MANUAL DE SEGURANÇA LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

VERSÃO N° 01/2014

REVISÃO N° 01/2014 – EM 05/11/2014

Coordenador: Prof. Fábio de Melo Resende, DSc.

Técnicas Responsáveis:

Larissa Farias Feitosa

Wilma C de Freitas

Polyana Barbosa

João Pessoa (PB), Novembro de 2014

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	4
2.	REGRAS GERAIS	4
3.	DESINFECÇÃO DO LABORATÓRIO	6
4.	MATERIAIS USADOS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA	7
4.1	VIDRARIAS	7
4.2	EQUIPAMENTOS UTILIZADOS	10
5.	SOLUÇÕES	14
6.	LIMPEZA E DESCONTAMINAÇÃO DE VIDRARIAS	14
7.	PRIMEIROS SOCORROS EM LABORATÓRIO	16
8.	NORMAS UTILIZADAS PARA OPERAÇÃO E CONTROLE DE AUTOCLAVES	25
9.	ANEXOS	26
10.	ANEXO 1- MATERIAIS DISPONÍVEIS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DO CTDR	26
11.	ANEXO 2- ANÁLISES REALIZADAS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DO CTDR	29
12.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1. INTRODUÇÃO

Em um laboratório de microbiologia as condições de higiene e limpeza devem ser rigorosas, para evitar possíveis fontes de contaminações, que constituam um risco em potencial para todos os envolvidos no trabalho e manuseio. Todo e qualquer trabalho a ser desenvolvido dentro de um laboratório apresenta riscos físico, químico, mecânico e biológico, que pode resultar em danos materiais ou acidentes pessoais. O laboratório de microbiologia é, com frequência, um ambiente singular de trabalho que pode expor as pessoas próximas a ele, ou que nele trabalham, a riscos de doenças infecciosas identificáveis.

Pensando nisto, elaboramos este Manual de Segurança, contendo as principais medidas que se fazem necessárias para melhor utilização dos laboratórios do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional-CTDR, tais como:

- Armazenamento apropriado de reagentes e resíduos laboratoriais;
- Formas adequadas de descarte de resíduos laboratoriais;
- Formas de prevenção de acidentes;
- Metodologias das análises realizadas;
- Utilização correta de equipamentos, como microscópios e balanças;
- Utilização de extintores;
- Procedimentos gerais recomendados em casos de acidentes.

O trabalho com calma, cautela, dedicação e bom senso, seguindo sempre as recomendações aqui descritas, ajuda a prevenir e/ou minimizar os efeitos nefastos resultantes dos possíveis acidentes.

2. REGRAS GERAIS

Apesar de cada laboratório ser voltado para uma área específica, são normas básicas que envolvem disciplina e responsabilidade.

1. Apenas é permitida a entrada de pessoas autorizadas nos laboratórios ou salas de preparo.
2. Nunca trabalhar sozinho no laboratório. É conveniente fazê-lo durante o período de aula ou na presença do técnico e/ou professor.
3. Usar o jaleco de mangas compridas, sempre que estiver dentro de um laboratório, mesmo que não esteja trabalhando.

4. Utilizar os equipamentos de proteção individual (luvas, touca, máscara, etc) de acordo com a orientação do professor, técnico e/ou monitor.
5. Não é permitido beber, comer, fumar ou aplicar cosméticos dentro do laboratório, em decorrência do alto risco de contaminação.
6. Utilizar roupas e calçados adequados que proporcionem maior segurança, tais como:
Calça comprida e sapato fechado.
7. Tomar cuidado com os cabelos, mantendo-os presos e/ou uso de touca.
8. Ler sempre o procedimento experimental com a certeza de ter entendido todas as instruções. Em caso de dúvidas, ou se algo anormal tiver acontecido, chame o professor, técnico ou monitor imediatamente.
9. Para utilizar os produtos químicos ou qualquer equipamento, é necessário auxílio e autorização de professores, técnicos ou monitores.
10. Manter sempre limpo o local de trabalho, evitando obstáculos que possam dificultar as análises.
11. Não trabalhar com material imperfeito, principalmente vidros que tenham arestas cortantes. Todo material quebrado deve ser desprezado.
12. Não deixar sobre a bancada, vidros quentes e frascos abertos.
13. Utilizar óculos de segurança quando se fizer necessário.
14. Usar luvas apropriadas durante a manipulação de objetos quentes e de substâncias que possam ser absorvidas pela pele (corrosivas, irritantes, cancerígenas, tóxicas ou nocivas).
15. Caso você tenha alguma ferida exposta, esta deve estar devidamente protegida.
16. Em caso de acidentes, avise imediatamente o professor, técnico ou monitor responsável.
17. Cada equipe é responsável pelo seu material, portanto, ao término de uma aula prática, **tudo o que você usou deverá ser limpo** e guardado em seus devidos lugares.
18. Quando houver quebra ou dano de materiais ou aparelhos, comunique imediatamente aos professores, técnico ou ao monitor responsável.
19. Na falta de algum material, a equipe ficará responsável pela sua reposição.
20. Não utilizar o material de outra equipe.
21. Não fazer uso de materiais ou equipamentos que não fazem parte da aula prática.
22. O material disponível no laboratório é de uso exclusivo para as aulas práticas, por isso não promova brincadeiras com ele.
23. Os materiais deveram ser emprestados, somente com a autorização do coordenador do laboratório ou técnico, mediante assinatura do termo de responsabilidade.
24. Laboratório é local de trabalho sério e não fuga de aulas teóricas, por isso desenvolva a responsabilidade e o profissionalismo.
25. O não cumprimento destas normas poderá acarretar punição ao aluno ou à equipe

3. DESINFECÇÃO DO LABORATÓRIO

A limpeza num laboratório deve ser rigorosa, uma vez que qualquer matéria estranha pode ser uma fonte de contaminação.

É de fundamental importância manter uma atenção diária em relação à desinfecção do laboratório de Microbiologia. Esta visa eliminar qualquer interferência externa que possa influir na qualidade dos trabalhos desenvolvidos, assim como proteger o pessoal envolvido de qualquer contaminação ambiental.

É muito importante que se determine periodicamente, o índice de contaminação do laboratório. No início e término de cada trabalho prático, a superfície da bancada deve ser desinfetada. Podem ser usadas soluções de álcool 70% (m/m) ou álcool 70% (m/m)+Iodo 0,25% (m/v), solução de hipoclorito de sódio, etc.

O chão deve ser esfregado todos os dias, com pano molhado em um desinfetante.

Em caso de acidentes provocados por respingos, quebras de frascos, tubos e placas que contenham materiais contaminados, deve-se proceder imediatamente à desinfecção.

Todo material contaminado antes de ser lavado, deve passar pelo processo de esterilização, para que toda a sua flora microbológica seja completamente destruída, evitando-se que o mesmo seja uma fonte de contaminação.

Nunca se deve deixar sobre a bancada de trabalho, lâminas retiradas do microscópio. Este material deve ser colocado em recipiente contendo uma solução desinfetante adequada.

Todo material que deve ser esterilizado e/ou lavado (tubos, pipetas, placas, frascos, etc.) deverá ser colocado em lugar indicado, ao final de cada atividade desenvolvida no laboratório.

As alças e as agulhas inoculadas, após o uso, devem ser esterilizadas à chama. O autoclave, que é um equipamento usado nas atividades rotineiras do laboratório, deve ser inspecionado e verificado quanto à eficiência de esterilização periodicamente.

Deve-se ter sempre o cuidado de lavar e realizar a antissepsia das mãos, antes e após o término dos trabalhos realizados no laboratório.

Soluções químicas devem ser pipetadas com auxiliar de pipetagem (como a pêra de borracha) e as pipetas químicas devem estar separadas das microbiológicas.

4. MATERIAIS USADOS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

Esses materiais podem ser enumerados da seguinte forma:

Conjunto de uso do Aluno (a)

- Vidrarias

- Acessórios
- Equipamentos

Faz-se necessário conhecer suas utilidades, características específicas e seu manuseio, para utilizá-los de maneira correta no controle microbiológico.

Cada aluno deve portar uma bata (avental/ jaleco), uma caneta marcadora para vidraria (caneta para retroprojeto pode substituir), um auxiliar de pipetagem (pêra, de borracha) e um caderno de laboratório para anotações dos experimentos. A bata não deve ser de material semi-sintético (bastante inflamável) e sim de algodão. Na etapa de aprendizado o aluno deve preferir bata de manga curta, para evitar risco de acidentes com a chama do bico de Bünsen.

4.1 VIDRARIAS:

Tubo de cultura

São tubos de vidro, sem borda ou com tampa de plástico rosqueável. Seu tamanho pode variar de acordo com o trabalho a ser realizado. São utilizados no cultivo de microrganismos em pequeno volume de meio de cultura, trazendo a vantagem de economizar meio e espaço físico.

Placas de Petri

São recipientes redondos, de vidro ou plástico, com tampa rasa. Geralmente é recomendado determinar-se o seu diâmetro e altura, de acordo com o tipo de trabalho a ser realizado. As mais usadas medem cerca de 100 mm de diâmetro por 10 mm de altura. Servem para conter meio de cultura sólido; Sua superfície extensa facilita o isolamento de espécies microbianas distintas.

Pipetas graduadas (sorológicas)

São utilizadas para diluições, inoculações, distribuições de meio, etc. Em microbiologia estas pipetas devem ser esterilizadas com uma porção de algodão hidrófobo na parte superior. Estas pipetas podem ser sopradas, pois não se requer muita precisão. As pipetas para uso com substâncias químicas devem ser separadas das microbiológicas (usar auxiliar de pipetagem de 3 vias). As pipetas microbiológicas são usadas com dispensadores automáticos.

Pipetas de Pasteur

São tubos de vidro ou polipropileno, não graduados, estirados em capilar. Servem para transferência de pequenos volumes de líquidos. Podem ser usadas com uma pequena pêra de borracha na extremidade superior.

Alça de Drigalsky

É obtido pela manipulação de uma vareta de vidro à chama do maçarico. Serve para espalhar suspensões de microrganismos na Placa de Petri contendo meio de cultura sólido. Deve ser flambada à chama antes e após o uso.

Lâminas de vidro

São de vidro claro e transparente, com formato retangular. São utilizadas para exame dos microrganismos em microscópio óptico. Geralmente são armazenadas em caixa de vidro contendo álcool 95%.

Lâminas escavadas

É uma lâmina específica, que serve ao chamado “ensaio em gota pendente”, ou seja, o material é observado suspenso em uma gota de líquido. Muito utilizada na observação da mobilidade dos microrganismos.

Lamínulas

São pequenas lâminas de vidro transparente, quadradas, finas, destinadas a cobrir as preparações contidas nas lâminas, nos ensaios a fresco. Também são usadas para o preparo de lâminas fixadas para uso por longos períodos.

Hematocítômetro de Newbauer:

Também denominada lâmina de contagem ou câmara de Newbauer. São escavadas, milimetradas e permitem contar o número de células contidas em um volume determinado de suspensão microbiana.

Frascos de Cultivo Microbiano:

De vidro borossilicato e tampa rosqueada de polipropileno, autoclavável. São vidrarias utilizadas para análises de água e alimentos.

Tubos de Durham:

São tubos de vidro pequenos e cilíndricos. Servem para captar o gás formado em uma fermentação.

Termômetros:

São utilizados em estufas microbiológicas, de secagem e esterilização, banhos de água (banhos-maria), etc. Deve-se prezar por termômetros calibrados pela Rede Brasileira de Calibração – RDC (INMETRO), cujas incertezas sejam conhecidas. Deve-se dar preferência a termômetros de álcool (bulbo vermelho).

Balão de fundo plano (chato) e Erlenmeyer

São utilizados em Microbiologia para armazenar quantidades maiores de meio de cultura. O erlenmeyer é uma vidraria muito utilizada também na multiplicação celular de microrganismos em meio de cultura líquida com agitação ou aeração.

Bico de Bünsen (a) e de Meker (b)

É um aquecedor a gás com chama, cuja temperatura varia de acordo com a regulagem. É suprido com gás liquefeito de petróleo (GLP) e proporciona uma chama que permite a realização da manipulação das análises microbianas. Deve-se verificar com frequência se não há vazamentos de gás nas conexões.

Cabo de Kolle

É um cilindro metálico, contendo um material isolante térmico na extremidade, usado para manipulação microbiana da alça de platina (ou níquel-cromo). Na outra extremidade metálica há um orifício onde é colocada a alça ou agulha que são fixadas mediante encaixe rosqueável, utilizado como suporte para este fim.

Alça de Platina e agulhas

É um fio de platina ou outra liga metálica, medindo aproximadamente cinco centímetros, recurvado em uma de suas extremidades. É adaptado ao cabo de Kolle. Este material é utilizado para transferir inóculos sólidos ou em suspensão. A agulha é um fio de platina ou de outra liga, que fixado ao cabo de Kolle, é utilizada para semear meio sólido em profundidade.

Espátulas e pinças:

Estes utensílios são normalmente produzidos em aço inoxidável. A espátula é utilizada para pesagem de pequenas massas, enquanto a pinça para manipulação de lâminas, lamínulas, etc...

4.2 EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

Agitador do tipo rotatório (Shaker)

É munido de uma plataforma onde os recipientes contendo o meio líquido são fixados. O mesmo gira de modo circular, agitando o meio continuamente durante a incubação e também expondo maior superfície do meio à fase gasosa.

Contador de colônias

É utilizado para contagem de colônias em Placa de Petri. É constituído de um suporte onde é colocada a placa e acima desta, em distância definida, situa-se uma lente (lupa) que possibilita o aumento de 1,5 vezes. Pode acompanhar uma caneta para contagem. Quando o equipamento está funcionando, a placa é iluminada, permitindo assim maior nitidez e realce das linhas que subdividem o suporte.

Estufa incubadora (Microbiológica)

É um tipo específico de estufa que apresenta além da porta metálica, uma porta de vidro. Apresenta um sistema de aquecimento controlado por resistência elétrica. O aquecimento é controlado através de um termostato e a temperatura acompanhada com termômetro analógico ou digital.

A temperatura não deve ter uma variação superior à $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Para determinar a temperatura, coloca-se um termômetro com o bulbo submerso em líquido (glicerina, água, etc.) para maior homogeneidade da medida.

Esse equipamento é utilizado como auxiliar no crescimento e reprodução dos microrganismos, uma vez que fornece a temperatura adequada a cada espécie microbiana.

Incubadora de banho de água (banho-maria)

É um equipamento indispensável para realizações dos ensaios de coliformes termotolerantes ($44,5^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$). O mesmo é dotado de um termômetro, termostato e tampa para o controle de temperatura do banho.

Estufa de Esterilização

É um tipo específico de estufa que apresenta um sistema de aquecimento controlado por resistência elétrica, é munida de termostato e termômetro para o controle de temperatura. Em geral este equipamento é utilizado para esterilizar vidrarias.

Potenciômetro

É um equipamento muito utilizado no laboratório de Microbiologia para se determinar o pH dos diferentes tipos de meios de culturas e soluções tampão. É constituído por eletrodos, botões de ajuste e é dotado de um sistema eletrônico capaz de fornecer leituras diretas com exatidão de $\pm 0,1$ unidades de pH.

Verifica-se a exatidão do aparelho pelo menos duas vezes ao dia, usando-se soluções-padrão tamponadas.

Há medidores portáteis de fácil uso.

Balanças

São destinadas a pesagens das diferentes substâncias usadas no preparo dos vários tipos de meios de cultura, soluções e corantes. Podem ser analógicas ou digitais. As balanças devem ser mantidas sobre uma base sólida protegidas de vibrações, e também de umidade e mudanças bruscas de temperatura.

Autoclave

É um equipamento destinado à esterilização pelo calor úmido (vapor d'água sob pressão). Normalmente, são utilizados para esterilizar águas de diluições, meios de cultura que suportem temperaturas elevadas (115-120°C), materiais contaminados que vão ser descartados e outros. O autoclave de laboratório pode ser do tipo horizontal ou vertical, contendo os seguintes acessórios: caldeira cilíndrica hermeticamente fechada por uma tampa de bronze ou cobre, dotada de manômetro, válvula de escape de ar e de segurança. Em seu interior existe uma cesta metálica (móvel) onde são colocados todos os materiais a serem esterilizados.

Sensor de Eletrodo de Temperatura

É empregado o uso de bioindicadores ou fitas de controle para se testar a eficiência deste equipamento.

Geladeiras e Congeladores (Freezers)

As geladeiras são utilizadas para a conservação de meios de cultura estéreis, soluções e amostras de contra-prova. As culturas microbianas e soluções não devem ser colocados no mesmo equipamentos que as amostras. Jamais poderá guardar refeições, lanches, bebidas ou qualquer outro alimento que irá ser consumido. Se contiver material com risco biológico deverá ser identificada com o pictograma adequado. Culturas vivas não devem ser congeladas. A verificação diária da temperatura é regra geral de controle destes equipamentos.

Agitador Magnético

É munido de uma plataforma metálica onde o recipiente contendo o meio líquido e uma barra magnética revestida de material inerte é colocado. O mesmo gira a barra magnética de modo circular, agitando o meio continuamente durante a incubação e também expondo maior superfície do meio à fase gasosa.

Microscópio Ótico

Equipamento utilizado para o estudo dos microrganismos. Os equipamentos mais usados permitem o aumento de até 1.250 vezes e podem ser monocular ou binocular. Deve-se ter cuidado para não utilizar preparações a fresco com a objetiva de imersão.

Auxiliar de Pipetagem (pipeting aide)

Equipamento utilizado para pipetar líquidos viscosos tais como meios de cultura e culturas microbianas. As pipetas devem ter uma proteção de algodão hidrófobo para proteger o auxiliar de possíveis contaminações.

Cabines de Fluxo Laminar Horizontal e Vertical

As cabines de fluxo horizontal se prestam para a manipulação de materiais estéreis como meios de cultura esterilizados e amostras de materiais estéreis (soluções injetáveis, nutrição parenteral, etc). Não devem ser usadas para materiais muito contaminados ou culturas puras de microrganismos, pois o fluxo de é direcionado no sentido do operador.

5. SOLUÇÕES

Soluções Desinfetantes

As soluções desinfetantes são utilizadas para antissepsia das mãos (álcool 70% m/m), ou desinfecção das bancadas (hipoclorito de sódio 2,5%, álcool 70% m/m ou álcool 70% m/m+ Iodo 0,1-0,5% m/v), ou ainda para descarte de resíduos líquidos e de pipetas contaminadas (não usar solução inflamável com álcool 70%). Antes de iniciar qualquer atividade as bancadas devem ser desinfetadas e providenciado recipiente com solução de hipoclorito de sódio para descarte das pipetas. As soluções podem ser armazenadas em pissetas plásticas.

Soluções Corantes

As soluções corantes são utilizadas para preparação de microrganismos para a observação microscópica.

6. LIMPEZA E DESCONTAMINAÇÃO DE VIDRARIAS

É de fundamental importância em um laboratório de Microbiologia a limpeza e as condições de higiene. Estes fatores devem sempre prevalecer para se ter um ambiente de trabalho isento de possíveis contaminações. Para a limpeza de vidrarias em uso corrente, devemos executar as seguintes etapas:

Os materiais quando novos e também usados (previamente esterilizados) porém sem elevada contaminação, são lavados com solução detergente e passados sob água corrente (5 a 8 enxagues), e em seguida enxaguados com porções pequenas de água destilada (03 enxagues). Deixa-se escorrer, coloca-se em estufa com uma temperatura controlada em torno de 70°C para secagem.

Materiais usados em análises e culturas microbianas, isto é, com culturas desenvolvidas e que vão ser descartadas, devem ser autoclavadas durante 30 minutos, a uma temperatura de 121°C. Desta forma ficam isentos de contaminações e são manuseados sem nenhum risco de contaminar o operador e também as pias e materiais de limpeza.

Após a esterilização do material contaminado os meios de cultura ainda não solidificados são colocados no lixo comum e a vidraria lavada com água corrente e deixada durante 12 horas em solução de detergente. Em seguida procede-se a lavagem como descrito anteriormente.

Lâminas e lamínulas quando retiradas do microscópio são colocadas em uma solução desinfetante (hipoclorito de sódio) e deixadas submersas por 24 horas antes de serem lavadas com água corrente e com água destilada. Após a limpeza são acondicionadas em frascos com boca larga contendo álcool 96°GL.

7. PRIMEIROS SOCORROS EM LABORATÓRIO

É muito importante que sejam conhecidos os procedimentos de segurança que devem ser usados quando ocorrem determinados acidentes. Por esse motivo enumeraremos aqui os acidentes que podem ocorrer com maior frequência em laboratórios e quais as providências que devem ser tomadas imediatamente.

É de vital importância conhecer a localização das pessoas e equipamentos necessários quando o acidente exigir assistência especializada. Números de telefones, como os de ambulância, bombeiros,

posto médico, hospital e médico mais próximos, devem estar visíveis e facilmente acessíveis ao responsável pelo laboratório.

Queimaduras

Pessoas com queimaduras profundas podem correr sério risco de vida. Quanto maior a extensão, maiores os perigos para a vítima. Existem diferentes graus de lesão. Leve em conta que uma pessoa pode apresentar, ao mesmo tempo, queimaduras de terceiro, segundo e primeiro grau - e cada tipo de lesão pede um socorro específico. É proibido passar gelo, manteiga ou qualquer coisa que não seja água fria no local, em qualquer caso. Também não se deve estourar bolhas ou tentar retirar a roupa colada à pele queimada.

Primeiro grau

As queimaduras deste tipo atingem apenas a epiderme, que é a camada mais superficial da pele. O local fica vermelho, um pouco inchado, e é possível que haja um pouco de dor. É considerada queimadura leve, e pede socorro médico apenas quando atinge grande extensão do corpo.

1. Use água, muita água. É preciso resfriar o local. Faça isso com água corrente, um recipiente com água fria ou compressas úmidas. Não use gelo.
2. Depois de cinco minutos, quando a vítima estiver sentindo menos dor, seque o local, sem esfregar.
3. Com o cuidado de não apertar o local, faça um curativo com uma compressa limpa.
4. Em casos de queimadura de primeiro grau - e apenas nesse caso - é permitido e recomendável beber bastante água e tomar um remédio que combata a dor.

Segundo grau

Já não é superficial: epiderme e derme são atingidas. O local fica vermelho, inchado e com bolhas. Há liberação de líquidos e a dor é intensa. Se for um ferimento pequeno, é considerada queimadura leve. Nos outros casos, já é de gravidade moderada. É grave quando a queimadura de segundo grau atinge rosto, pescoço, tórax, mãos, pés, virilha e articulações, ou uma área muito extensa do corpo.

1. Use água, muita água. É preciso resfriar o local. Faça isso com água corrente, um recipiente com água fria ou compressas úmidas. Não use gelo.
2. Depois de cinco minutos, quando a vítima estiver sentindo menos dor, seque o local, sem esfregar.
3. Com o cuidado de não apertar o local, faça um curativo com uma compressa limpa.
4. Em casos de queimadura de primeiro grau - e apenas nesse caso - é permitido e recomendável beber bastante água e tomar um remédio que combata a dor.

Terceiro grau

Qualquer caso de queimaduras de terceiro grau é grave: elas atingem todas as camadas da pele, podendo chegar aos músculos e ossos. Como os nervos são destruídos, não há dor - mas a vítima pode reclamar de dor devido a outras queimaduras, de primeiro e segundo grau, que tiver. A aparência deste tipo de ferimento é escura (carbonizada) ou esbranquiçada.

1. Retire acessórios e roupas, porque a área afetada vai inchar. Atenção: se a roupa estiver colada à área queimada, não mexa!
2. É preciso resfriar o local. Faça isso com compressas úmidas. Não use gelo.
3. Nas queimaduras de terceiro grau pequenas (menos de cinco centímetro de diâmetro) - só nas pequenas! - você pode usar água corrente ou um recipiente com água fria.
Cuidado com o jato de água - ele não deve causar dor nem arrebentar as bolhas.
4. Atenção: a pessoa com queimadura de terceiro grau pode não reclamar de dor e, por isso, se machucar ainda mais - como dizer que o jato de água não está doendo, por exemplo.
5. Se a queimadura tiver atingido grande parte do corpo, tenha o cuidado de manter a vítima aquecida.
6. Com o cuidado de não apertar o local, faça um curativo com uma compressa limpa. Em feridas em mãos e pés, evite fazer o curativo você mesmo, porque os dedos podem grudar um nos outros. Espere a chegada ao hospital.
7. Não ofereça medicamentos, alimentos ou água, pois a vítima pode precisar tomar anestesia e, para isso, estar em jejum.
8. Não perca tempo em remover a vítima ao hospital. Ela pode estar tendo dificuldades para respirar.

Ferimentos com materiais perfuro cortantes e fraturas

Se a hemorragia decorrente de um ferimento qualquer é intensa, deve ser interrompida imediatamente. O estancamento de hemorragia pode ser feito aplicando-se uma compressa ao ferimento com pressão direta. Se for possível, o local afetado deve ser elevado até que se controle a hemorragia.

Tratando-se de corte leve, a hemorragia não é grande. Nestes casos, deve-se remover todo material estranho que se encontre no ferimento, lavando-se cuidadosamente a região com sabão e água corrente e limpa. A seguir, deve ser aplicado anti-séptico em todas as partes do ferimento até aproximadamente 2 cm da pele ao redor do corte. Não se deve nunca remover materiais estranhos que estejam muito profundos nos ferimentos. Em todos os tipos de ferimentos as bandagens devem ser firmes, nunca apertadas.

Em casos de ferimentos por perfuração a vítima deve ser enviada a um hospital, pois há perigo da existência de materiais estranhos no corte e a impossibilidade de se alcançar o fundo do ferimento com anti-sépticos.

Sintomas como dor, inchaço e deformação são típicos em casos de fraturas. A vítima não deve ser removida do local do acidente a menos que vapores, fumaça ou fogo assim o determinem. Os ossos fraturados devem ser mantidos imóveis, assim como as juntas adjacentes. A hemorragia e o estado de choque devem ser tratados. Quando se torna absolutamente necessário o transporte da vítima deve ser improvisada uma tala suporte para impedir que a fratura se agrave durante o trânsito.

Deve ser utilizado material rígido, almofada ou cobertor para apoiar a região e entalar como estiver.

Intoxicação por gases ou vapores

O socorrista deve tomar todas as precauções, como o uso dos devidos equipamentos de proteção individual, para entrar na área do acidente.

- Remover o acidentado do local do acidente para local arejado e afrouxar as vestes, principalmente próximas ao pescoço.
- Manter o acidentado deitado e moderadamente aquecido.
- Praticar respiração artificial boca-a-boca, a não ser que se trate de substâncias do tipo gás cloro, SO₂, inalado para os pulmões.
- Aplicar ressuscitação cardiorespiratória, se necessário.
- Solicitar assistência médica urgente.

Ingestão oral de agentes químicos

Normalmente, quando certas soluções são ingeridas deve-se induzir o vômito. A melhor maneira para provocá-los é a excitação mecânica da garganta. Em alguns casos, o vômito não deve ser

provocado, como nas intoxicações em consequência da ingestão de substâncias cáusticas e derivados de petróleo.

- Conservar o corpo aquecido pela aplicação de cobertores. Evitar calor externo.
- Guardar o tóxico suspeito no recipiente original e colocar qualquer material vomitado num recipiente limpo. Levar os espécimes, com o paciente, para possível identificação.
- Providenciar assistência médica imediata, levando junto o recipiente original do produto e a Ficha de Informação da Segurança do Produto (FISP).

Choques elétricos

A vítima que sofreu um acidente por choque elétrico não deve ser tocada até que esteja separada da corrente elétrica. Esta separação deve ser feita empregando-se luva de borracha especial. A seguir deve ser iniciada imediatamente a respiração artificial, se necessário. A vítima deve ser conservada aquecida com cobertores ou bolsas de água quente.

Estado de choque

O estado de choque pode ocorrer em todos os casos de lesões graves ou hemorragias. Existem outras situações que podem causar estado de choque, como queimaduras e ferimentos graves ou extensos, esmagamentos, perda de sangue, cidentes por choque elétrico, envenenamento por produtos químicos, ataque cardíaco, exposição a extremos de calor ou frio, dor aguda, infecções, intoxicações alimentares e fraturas. A gravidade do choque varia de indivíduo para indivíduo, podendo às vezes provocar a morte.

Alguns sintomas facilmente reconhecíveis caracterizam bem o estado de choque, assim como palidez com expressão de ansiedade; pele fria e molhada; sudação na frente e nas palmas das mãos; náusea e vômitos; respiração ofegante, curta rápida e irregular; frio com tremores; pulso fraco e rápido; visão nublada e perda total ou parcial de consciência. Diante desse quadro, enquanto se espera a chegada do recurso médico ou se providencia o transporte, a vítima, depois de rapidamente inspecionada, deve ser colocada em posição inclinada, com a cabeça abaixo do nível do corpo. A causa do estado de choque deve ser combatida, evitada ou contornada, se possível. No caso de Ter sido provocada por hemorragia, controle-a imediatamente.

A roupa do acidentado deve ser afrouxada no pescoço, no peito e na cintura e retirada da boca dentaduras, gomas de mascar, etc. O aparelho respiratório superior da vítima deve ser conservado totalmente desimpedido. Caso a vítima vomite, sua cabeça deve ser virada para o lado. As pernas do acidentado devem ser elevadas, caso não haja fratura. Mantenha-o agasalhado, utilizando cobertores e

mantas. Se não houver hemorragia, as pernas e os braços deve ser friccionados para restauração da circulação.

Não devem ser ministrados :estimulantes, até que a hemorragia esteja controlada; bebidas alcoólicas, em nenhuma hipótese; líquidos a uma pessoa inconsciente ou semi-consciente; ou líquidos, caso suspeite de uma lesão abdominal.

Respiração ausente

Ao socorrer um acidentado cuja respiração esteja ausente, irregular ou com muito esforço, será necessário à respiração artificial. O objetivo da respiração artificial é desobstruir e manter livres as vias respiratórias, provocando o aumento e a diminuição do volume torácico.

Deve-se puxar o maxilar inferior para frente e inclinar a cabeça para trás. Fechar as narinas da vítima. Soprar ar para o interior dos pulmões pela boca da vítima. Afastar a boca e deixar a vítima respirar o ar. Repetir a operação de 15 a 20 vezes por minuto.

Incêndios e uso de extintores

Um incêndio é um processo no qual se desenrola uma reação de combustão, que, para iniciar e se propagar, precisa de três componentes: energia ou calor, combustível e comburente. O comburente natural do ambiente é o oxigênio do ar. Os combustíveis podem ser materiais sólidos, tais como: tecidos, plásticos, madeiras ou produtos químicos inflamáveis.

Os acidentes mais comuns em laboratórios envolvem roupas e reagentes. Veja a seguir, portanto, os procedimentos mais utilizados para estes casos:

- Roupas em chama: evitar correr, ventilando as chamas. O método mais eficiente é tentar abafar as chamas, deitando no chão e envolvendo a pessoa com panos úmidos.
- Reagentes em chama: fechar o gás e os interruptores de todas as chapas quentes ao redor. Remover tudo que entrar em ignição.

O controle do fogo vai depender do tamanho e da espécie. Um fogo pequeno (de um líquido em um béquer, por exemplo) pode ser extinto cobrindo a abertura do frasco com um pano limpo e úmido ou pelo uso do extintor de incêndio. O fogo geralmente se extingue na ausência do ar. Para fogo maior, pode ser empregada areia seca, ao ainda utilizar extintor adequado ao fogo.

Classificação internacional de incêndio

Dependendo do material e do combustível, os incêndios são classificados em:

- Classe A: materiais sólidos inflamáveis, tais como: madeira, papelão, chapas e tecidos;
- Classe B: líquidos inflamáveis, tais como: álcoois, cetonas e derivados do petróleo;
- Classe C: em equipamentos elétricos energizados;
- Classe D: com materiais pirofosfóricos.

Para prevenir ou extinguir um incêndio, devemos eliminar um dos três componentes: Os extintores baseiam-se neste princípio. Os extintores atuam por resfriamento (extintores de água) ou eliminação do oxigênio de contato com o combustível, como os extintores base de CO₂ ou espuma mecânica, que produzem um tipo de camada de proteção no local do incêndio, impedindo o contato com o oxigênio do ar e extinguindo, desta forma, as chamas.

Tipos de extintores de incêndio

Pó químico ou seco com carga à base de bicarbonato de sódio e monofosfato de amônia. Indicados para incêndios classe B (inflamáveis) e C (equipamentos elétricos energizados). b. Espuma mecânica age formando uma película aquosa sobre a reiginação. Indicados para incêndios classe B e classe A, **NUNCA DEVEM SER UTILIZADOS EM INCÊNDIOS CLASSE C**. c. Extintores de CO₂ Atuam recobrando o material em chamas com uma camada gasosa, isolando o oxigênio e extinguindo o incêndio por abafamento. São indicados para incêndios de classe B ou C.

Produtos de risco

A definição inclui:

- Produtos tóxicos: por ação tóxica imediata ou mais lenta sobre o organismo e o meio ambiente;
- Produtos inflamáveis: materiais que podem pegar fogo e manter a combustão;
- Corrosivos: substâncias ácidas ou básicas que provocam queimaduras;
- Reativos: materiais que explodem ou reagem de forma violenta;
- Outros materiais, como os gases comprimidos (nitrogênio, oxigênio, entre outros) e o nitrogênio líquido.

Derramamentos acidentais de produtos químicos

Embora não sejam freqüentes algumas precauções fazem-se necessárias, principalmente quando se trabalha com produtos de alta toxidez.

Em caso de um derrame, recomenda-se:

- Isolar a área e comunicar todos que estão no laboratório;

- Comunicar o responsável pela segurança;
- Proteger-se com máscaras de respiração, luvas, óculos e outros EPIs (equipamentos de proteção individual) adequados;
- Desligar os aparelhos, aquecedores elétricos, estufas e muflas;
- Apagar as chamas;
- Permitir ventilação ou exaustão no ambiente;
- Adicionar um absorvente neutralizante, quando em caso de derramamento de ácidos ou bases;
- Utilizar carvão ativo para o caso de solventes orgânicos;
- Remover com uma pá a massa resultante em sacos plásticos ou recipientes metálicos convenientes, caso o produto reaja com plástico;
- Providenciar a limpeza do local e deixar ventilar até não se ter mais vapores residuais no ar.

Todo frasco de reagente deve conter no seu rótulo o boletim de garantia específico, condições de manuseio e classe de perigo. Existem símbolos que identificam a periculosidade do produto, tais como:

Descarte de resíduos químicos

Assim como a produção industrial, o laboratório gera resíduo proveniente dos restos de amostras analisadas, como líquidos aquosos orgânicos, sólidos, além de gases e vapores das reações.

Deve-se procurar reduzir ao mínimo a geração de lixo. Cada usuário deve estar preocupado com os impactos que suas ações podem causar no meio ambiente. Sabe-se que a agressão zero é algo impossível, no entanto, é dever de todos tomar as devidas precauções para que o impacto ambiental seja o menor possível.

Para que os resíduos de laboratório possam ser eliminados de forma adequada, é necessário ter-se à disposição recipientes de tipo e tamanho adequados para recolhê-los.

Os recipientes coletores devem ter alta vedação e ser de material estável. Deve-se armazenar os frascos bem fechados e em local ventilado para evitar, ao máximo, danos à saúde, principalmente quando há solvente em processo de evaporação.

Como proceder com os seguintes resíduos:

Gases ou vapores

Trabalhando corretamente, os gases ou vapores devem ser gerados dentro de capelas e, uma vez captados pelo sistema, são conduzidos pela tubulação até a atmosfera externa do laboratório.

Descarte de líquidos

Considerando os laboratórios químicos, clínicos e microbiológicos, em geral, são gerados:

- Líquidos aquosos _ acertar o pH entre 5 e 9, diluir e descartar no esgoto;
- Líquidos contendo fluoreto _ precipitar com cálcio e filtrar. O sólido deve ser acumulado e, posteriormente, enviado para aterro sanitário. O filtrado vai para o esgoto;
- Líquidos contendo metais pesados _ devem ser descartados em recipiente próprio que se encontra no laboratório. Requerem, estes, tratamentos especiais devido à alta toxidez e rigidez da legislação vigente.

Os principais metais pesados são: arsênio, bário, cádmio, cobre, chumbo, mercúrio, níquel, selênio e zinco.

O mercúrio metálico deve ser armazenado em recipiente próprio. Em caso de derramamento de mercúrio, deve-se providenciar ventilação exaustiva na sala, usar máscaras respiratórias, óculos de proteção e luvas. Remover o mercúrio fazendo mistura com limalha ou fio de cobre. Recolher e colocar num frasco com água para evitar a evaporação. Encaminhar para empresas que fazem o processo de reciclagem.

Borra de metais pesados

Dependendo do seu valor comercial, poderá ter os seguintes destinos:

- Reciclagem no laboratório;
- Venda para empresas que fazem reciclagem;
- Aterro sanitário.

Solventes orgânicos clorados e não-clorados

Os laboratórios que trabalham com solventes orgânicos não-clorados (tipo ésteres, álcoois, aldeídos e hidrocarbonetos leves) devem armazenar estes líquidos em contêineres apropriados e podem ser destinados para reciclagem em empresas que executam este trabalho.

Os solventes clorados devem ser armazenados em separado, também em contêineres especiais, pois, em caso de queima, produz fosgênio, um gás altamente tóxico que pode causar edema pulmonar como efeito retardado, 5 a 6 horas após a aspiração.

Resíduos sólidos

São resíduos provenientes de:

- Vidrarias quebradas e frascos de reagentes ou amostras;
- Restos de amostras e análises.
- Deve-se ter um recipiente forrado com saco plástico para armazenagem de vidros destinados à reciclagem.

- Os frascos de reagentes ou produtos tóxicos devem ser lavados para evitar acidentes em depósitos de lixo.
- Os resíduos sólidos de amostras podem ser:
 1. Sólidos de baixa toxidez _ devem ser destinados à reciclagem ou aterros sanitários;
 2. Sólidos não-biodegradáveis tipo plástico _ devem destinar-se à reciclagem ou incineração;
 3. Sólidos considerados perigosos de acordo com a norma NBR-10004/ ABNT (com alguma das seguintes propriedades: inflamabilidade, corrosividade, toxicidade, atogenicidade ou reatividade) _ devem ser embalados e transportados com cuidados especiais a empresas especializadas pelo seu transporte.

Descarte de resíduos biológicos

Primeiramente, deve-se identificar, de maneira correta, os materiais a serem eliminados. Pode-se fazer a seguinte divisão de categorias:

1. Dejetos não-contaminados

Os dejetos não-contaminados podem ser eliminados diretamente no lixo do laboratório normal (sacos plásticos pretos).

2. Objetos perfurantes e cortantes

Não se devem encapar as seringas hipodérmicas usadas, nem mesmo cortar ou retirar as agulhas descartáveis. As seringas e agulhas devem ser colocadas em um recipiente de paredes rígidas (DESCARTEX). Em seguida encaminhadas para empresa responsável pelo destino final do material.

O coletor deve ser colocado próximo ao local onde o procedimento é realizado para evitar que o usuário circule com os perfuro-cortantes nas mãos ou bandejas.

3. Material contaminado

São classificados como materiais contaminados resíduos biológicos, tais como: cultura inócua, mistura de microorganismos, meio de cultura inoculado, vacina vencida ou inutilizada, sangue e hemoderivados, tecido, órgãos, peças anatômicas e animais contaminados.

Os dejetos contaminados deverão ser eliminados em sacos plásticos brancos leitosos, com espessura respeitando as exigências legais preconizadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), NBR 9091 e com o símbolo de substância Se o material contaminado for reutilizado, é necessário, primeiramente, sua descontaminação por meio da autoclavagem, antes de qualquer limpeza ou reparo.

8. NORMAS UTILIZADAS PARA A OPERAÇÃO E CONTROLE DE AUTOCLAVES

- Verificar o nível da água, e completar se necessário, até atingir o nível adequado (cobrir as resistências elétricas).
- Acondicionar o material de modo que o vapor circule livremente e sem que se encoste às paredes do cesto metálico.
- Fechar a tampa apertando cuidadosamente os parafusos diametricamente opostos, deixando aberta à válvula de escapamento de ar.
- Deixar expulsar todo o ar de seu interior. Fechar a válvula de escape de ar quando o vapor sair num jato contínuo.
- Esperar o manômetro atingir a pressão interna desejada (em geral 1,1 atm ou 1,1 Kgf/cm²) o que corresponde à temperatura de 121°C.
- Regular o aquecimento da autoclave de modo a permanecer na temperatura desejada durante o tempo necessário.
- Ao término do tempo necessário, desligar o aquecimento e, com a válvula de escapamento aberta, deixar a pressão cair lentamente até o ponto zero.
- Abrir num movimento rápido a tampa e deixar escapar os vapores.
- Retirar o material e esperar esfriar.

TESTE DE EFICIÊNCIA DE AUTOCLAVES E ESTUFAS DE ESTERILIZAÇÃO

É de fundamental importância em um laboratório de Microbiologia demonstrar o controle e a eficiência da esterilização. Para esta avaliação são realizados monitoramentos mecânicos (controle e registro do tempo, temperatura e pressão durante a esterilização) e utilizados indicadores físicos ou biológicos. Como indicador físico é bastante utilizado a fita indicadora de temperatura e como teste biológico para estufas (calor seco) e autoclaves (calor úmido) esporos de *Bacillus subtilis var. niger* (fitas) e *Bacillus stearothermophilus* (ampolas), respectivamente.

ANEXOS

ANEXO 1

Materiais disponíveis no laboratório de microbiologia do CTRD

Materiais				
LABORATÓRIO DE MICRO		Data	24/04/2013	
Quantidade	Equipamentos			
1	Balança Modelo BL 3200H Shimadzu			
1	Microscópio Modelo XSP 303D/MBB 200 Instrutherm			
1	Agitador Vortex Modelo EEQ9033B/ 220			
2	Agitador com aquecimento Solab			
2	Banho maria Solab			
1	Barriquete			
2	Mesa agitadora - modelo SL 180/A			
2	Autoclaves Primatec			
1	pHmetro			
1	BOD			
Quantidade	Vidraria			
70	Pipeta graduada (1 mL)			
40	Pipeta graduada (10 mL)			
10	Tela de amianto			
50	tubos de ensaio sem tampa (15 x 150)			
200	tubos de ensaio sem tampa (15 x 100)			
4	Termômetros			
132	tubos de ensaio com tampa rosquedas			
435	Tubos de Duhran			
5	Provetas de vidro (100 mL)			
2	Provetas de vidro (1000 mL)			
5	Proveta de vidro (500 mL)			272
1	Proveta de plástico (500 mL)			120
1	Proveta de plástico (250 mL)			462
3	Proveta de vidro (10 mL)			
25	Placas de petri (10 x 40)			

600	tubos de ensaio de vidro com tampa rosqueada (13 x 100)			41
200	tubos de ensaio de vidro com tampa rosqueada (16 x 150)			
3	estantes para tubos de plástico			
8	pincetas			
6	espátulas			
3	alças de platinas			
330	swabs			
132	tampas para tubos de ensaio			
1	pinça grande			
2	Pipetadores Pump			
6	suportes para placa petri (grande)			
8	suportes para placa petri (pequeno)			
86	seringas descartáveis			
5	pêras			
294	Pipetas Pasteur			
3	recipientes plásticos com tampa			
462	placas de petri			
135	pontes de plásticos			
5	suportes			
10	balões de vidro (50 mL)			
13	Béqueres vidro (1000 mL)			
5	Béqueres vidro (600 mL)			
4	Béqueres vidro (2000 mL)			
1	cesto de lixo			
1	escorredor de plástico			
1	lixeira para pia de plástico			
1	rôdo de pia			
Quantidade	Meios de Cultura	Marca	Validade	
1	Ágar Lisina Ferro (LIA)	Merck	mar/16	
1	Ágar XLD	Merck	mar/16	
1	Ágar Bismuto sulfito (validade vencida)	Merck	set/12	
1	Ágar Sugar Iron (TSI)	Merck	set/15	
1	Caldo RP Vassilis	Merck	jul/16	
1	Caldo Lactose	Merck	jul/15	
1	Caldo Tetrionato	Merck	mar/16	

1	Caldo BHI	Merck	jul/16	
1	Peptona	HIMedia	nov/15	
1	Ágar Eosina Azul metileno	Micro Med	Out/2015	
3	Ágar bacteriológica	Micro Med	mar/15	
1	Ágar base sangue	Micro Med	dez/15	
1	Ágar casoy	Micro Med	dez/15	
1	Ágar TSC	Micro Med	set/14	
1	Ágar Glicosado	Micro Med	dez/15	
1	Caldo Tioglicolato	Micro Med	dez/15	
1	Caldo Rapparport (RP)	Micro Med	dez/14	
1	Caldo Lactose	Micro Med	dez/14	
1	Caldo EC	Micro Med	dez/15	
1	Solução Tampão 7 (validade vencida)	Instrutherm	mar/11	
1	Solução Tampão 4 (validade vencida)	Instrutherm	mar/11	
1	Caldo bile verde brilhante		mai/16	
1	Caldo Lauril Triptose		mai/16	

ANEXOS 2

Análises realizadas no laboratório de microbiologia do CTDR

1. Contagem total de aeróbios mesófilos, psicrófilos e termófilos (contagem padrão em placas) ou heterotróficos;
2. Contagem de coliformes totais e termotolerantes pelo método do Número Mais Provável (NMP) e *E. coli*;
3. Contagem de bolores e leveduras;
4. Contagem de *Staphylococcus aureus*;
5. Pesquisa de *Salmonella*.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRANCO, B. G. M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, ed. Atheneu, 1999

JAMES, M. J. **Microbiologia moderna de los alimentos**. Zaragoza(Espana): Acribia, 4º ed.1994.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A. ;SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**, São Paulo, Varela, 1997.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods** 3º ed. New York: Vanderzant, 1992.