



BioTécnica

BIOTECNOLOGIA AVANÇADA

Procedimento Operacional Padrão

BIOSSEGURANÇA



Índice

Introdução	1
Definições	1
Treinamentos / Informações	2
Vigilância médica e de saúde	2
Normas de vigilância sanitária de funcionários que têm contato com microorganismos da classe de risco 2	2
EPIs de uso obrigatório	2
Cuidados gerais durante procedimentos em laboratórios	3
Nível de biossegurança 2 – NB2	3
Recebimento / Transporte	4
Transporte seguro de amostras e materiais infecciosos	4
Documentação e embalagem	4
Recebimento de material potencialmente infectante	4
Higienização de superfícies e equipamentos	5
Procedimentos usuais de desinfecção	6
Álcool a 70% (etanol ou isopropílico)	6
Hipoclorito de sódio 1%	7
Processo de esterilização: Autoclavação	7
Descarte	7
Condutas em derramamentos e acidentes laboratoriais com material potencialmente infectante	7
Acidentes ocupacionais	8
Vias de infecções	8
Procedimento pós exposição a materiais biológicos	8
Avaliação do risco de exposição em caso de acidentes	9

1 Introdução

Materiais biológicos manuseados em laboratórios são, quase sempre, fontes de contaminações. As Boas Práticas em Laboratório, seguindo as regras da Biossegurança devem ser adotadas para minimizar a ocorrência de eventuais acidentes, contaminações ambientais e do corpo técnico operacional.

De acordo com os critérios de patogenicidade os microrganismos podem ser classificados com base no seu potencial patogênico, para o homem e para os animais, a saber:

- Classe de risco 2- (risco individual moderado e risco limitado para a comunidade) – patógeno capaz de causar doença ao homem ou aos animais, mas que não consiste em sério risco a quem manipula, à comunidade, aos seres vivos e ao meio ambiente quando manipulado em condições de contenção.
- Classe de risco 3- (elevado risco individual e risco limitado para a comunidade) - patógeno que geralmente causa doenças graves ao homem ou aos animais e pode representar sério risco a quem o manipula.

Os laboratórios, de um modo geral, podem ser classificados no nível 2 de biossegurança, mas trabalhamos com materiais biológicos que podem conter microrganismos classificados nos níveis 3, e por esta razão necessitamos de procedimentos adequados para o trabalho no laboratório.

As exposições laboratoriais podem causar contaminações, mas a existência de medidas eficazes de tratamento e prevenção limita os riscos.

2 Definições

Aerossóis: Gotas de líquido dispersas no ar.

Amostras biológicas para diagnóstico: são materiais de origem humana ou animal para análise (como excrementos, secreções, sangue e derivados, tecidos e líquidos orgânicos) com fins diagnóstico.

Anti-séptico: Agente químico ou físico utilizado para desinfecção de tecido vivo, capaz de destruir ou inibir o crescimento de micro-organismos na área aplicada.

Descontaminação: Destruição ou remoção (total ou parcial) de microorganismos dos artigos e superfícies.

Desinfecção: Destruição ou inibição do crescimento de microorganismos patogênicos não esporulados ou em estado vegetativo, de superfícies.

EPIs: Equipamento de proteção individual.

Esterilização: Processo de destruição de todos os microorganismos, incluindo os esporos.

Limpeza: Processo de remoção de sujidade.

Sanitização: Processo destinado à redução da maioria das bactérias patogênicas presentes.

Substâncias infectantes: são apresentações que contêm microrganismos viáveis (tais como bactérias, vírus, riquetsias, parasitas, fungos ou microrganismos recombinante, híbrido ou mutante) sabidamente capazes de provocar doença ao homem ou animais.

3 Treinamentos/Informações

Funcionários e pessoas que têm acesso a área laboratorial estão sujeitos à exposição ocasional e acidental a microorganismos que pertencem a grupos de risco mais elevados, portanto, se faz necessária a adoção de planos e normas de segurança, na prevenção de acidentes e minimização de exposições.

3.1 Vigilância médica e de saúde

São objetivos da vigilância médica e de saúde do pessoal que trabalha em áreas de risco por exposição a agentes biológicos:

- ❑ prevenir o aparecimento de doenças profissionais em indivíduos saudáveis, através de exames regulares;
- ❑ programar, orientar e verificar a realização de imunizações ativas ou passivas para prevenção e minimização de risco de infecção, quando houver ;
- ❑ providenciar o diagnóstico precoce dos casos de infecção ocupacional;
- ❑ avaliar a eficácia de equipamentos e de medidas de proteção e prevenção.

3.2 Normas de vigilância sanitária de funcionários que têm contato com microrganismos da classe de risco 2

- ❑ É obrigatória a realização de exames de saúde clínico e laboratorial pré-admissionais.
- ❑ É recomendada a coleta de amostra sorológica para análise comparativa imediatamente após a exposição.
- ❑ É necessário manter registro de casos de doenças e faltas.
- ❑ O funcionário e/ou seu médico têm a responsabilidade de informar a empresa sobre todas as faltas decorrentes por doenças.
- ❑ Mulheres em idade fértil precisam ser informadas sobre os riscos de exposição profissional a microrganismos patógenos. Informar o responsável pelo laboratório, imediatamente quando estiver gestante e/ou amamentando, para tomada de medidas preventivas contra possíveis infecções por exposição desnecessária (que coloquem em risco a saúde da mãe e da criança). Medidas preventivas a serem tomadas para a proteção do feto variam de acordo com os patógenos aos quais a gestante está exposta.

4 EPIs de uso obrigatório

Nas áreas restritas é obrigatório o uso de:

- ❑ Máscaras e óculos: na realização de procedimentos em que haja possibilidade de respingos de sangue ou outros fluidos corpóreos, nas mucosas da boca, nariz e olhos.
- ❑ Luvas, aventais de manga longa;
- ❑ Calçados fechados de boa aderência ao solo.

5 Cuidados gerais durante procedimentos em laboratórios

- ❑ Ter a máxima atenção durante a realização dos procedimentos.
- ❑ É proibida a pipetagem com a boca.
- ❑ Nestas áreas é proibido comer, beber, fumar, guardar alimentos ou aplicar produtos cosméticos.
- ❑ É proibido levar quaisquer materiais a boca e língua.
- ❑ Manter as áreas de trabalho limpa, organizada e livre de materiais que não são usados durante a atividade em execução.
- ❑ As superfícies de trabalho precisam ser desinfetadas após qualquer derramamento de material potencialmente perigoso, bem como ao final do expediente.
- ❑ É obrigatório lavar as mãos antes e após cada manuseio de material químico e biológico, bem como antes de saírem do laboratório e áreas de produção.
- ❑ Todos os processos técnicos devem ser realizados de forma a reduzir ao mínimo o perigo de formação de aerossóis ou de gotículas. Quando houver técnicas de maiores riscos de formação destes, conduzir o procedimento em capela.
- ❑ Durante o trabalho no laboratório, a equipe usará aventais próprios, de uso restrito nestas áreas. As roupas contaminadas precisam ser desinfetadas com técnica adequada.
- ❑ A indumentária para proteção dentro do laboratório não pode ser guardada no mesmo armário com objetos e vestuário pessoais.
- ❑ Os óculos de segurança e os protetores de face (visores), assim como outros dispositivos de proteção, devem ser usados sempre que forem indicados para a proteção de olhos e face contra os salpicos ou contra o impacto de objetos.
- ❑ Nas áreas de serviço onde há risco de exposição a agentes infectantes e químicos, somente será permitida a entrada de pessoas devidamente alertadas sobre os eventuais perigos e que preencham determinadas condições (vacinações, por ex.).
- ❑ Durante o trabalho, as portas destas áreas permanecerão fechadas. O acesso de crianças e animais é proibido.
- ❑ Manter programa de controle de artrópodes e roedores.
- ❑ Luvas adequadas ao trabalho serão usadas em todas as atividades que possam resultar em contato direto com material biológico e químico. Depois de usadas, as luvas serão removidas em condições assépticas e descartadas em lixo para plásticos classe 1. Em seguida, lavar as mãos.
- ❑ *Todo lixo classe 1 segue para autoclavação para posterior descarte.*
- ❑ Todo e qualquer derramamento de material, acidente, exposição efetiva ou possível a materiais infecciosos precisam ser levados imediatamente ao conhecimento do responsável pelo laboratório.
- ❑ As áreas de trabalho e armazenamento precisam ser adequadas para acesso a materiais de modo a evitar o congestionamento de mobiliário, equipamentos e objetos.
- ❑ É proibida a colocação de vasos de plantas ornamentais nestes ambientes.
- ❑ Todo e qualquer agente desinfetante e anti-séptico utilizado precisa ser registrado na ANVISA e conferido quanto à data de validade.

5.1 Nível de Biossegurança 2 – NB2:

Áreas de manuseio de materiais biológicos são classificadas em Nível de Biossegurança 2, onde há necessidade de algumas providências preventivas à saber:

- ❑ Portas de acesso áreas onde ocorra manuseio de material potencialmente infectante precisam ter Sinalizações com Risco Biológico - Área Restrita.

- ❑ O acesso ao laboratório deve ser limitado ou restrito de acordo com a definição do responsável, quando estiver sendo realizado experimento ou procedimentos que acarretem em risco de exposição.
- ❑ As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas ao menos uma vez ao dia ou sempre que ocorrer derramamento de material potencialmente infectante.
- ❑ Todo resíduo líquido ou sólido contaminado deve ser descontaminado ou inativado antes de ser descartado, assim como todo material ou equipamento que esteve em contato com agente contaminante.
- ❑ Deve-se utilizar dispositivo mecânico para pipetagem, pois é impróprio e arriscado pipetar com a boca.
- ❑ Pessoal do laboratório e áreas produtivas, que impliquem em risco de contaminação, precisam ter treinamento técnico específico no manejo de agentes patogênicos e ser supervisionados por profissionais de competência técnica.
- ❑ Procedimentos nos quais exista possibilidade de formação de aerossóis infecciosos devem ser conduzidos em cabines de segurança biológica ou outro equipamento de contenção física.
- ❑ O responsável tem o dever de limitar o acesso ao laboratório. Cabe a ele a responsabilidade de avaliar cada situação de risco e autorizar quem poderá ter acesso às áreas de acesso restrito.
- ❑ Todo o lixo do laboratório deve ser adequadamente descontaminado ou inativado.
- ❑ Uma autoclave precisa estar disponível para descontaminação no interior ou próximo às áreas de risco de modo a permitir a descontaminação de material biológico previamente de descarte de material classe 1.

6 Recebimento/Transporte

6.1 Transporte Seguro de Amostras e Materiais Infecciosos

É proibida a remessa de substâncias de potencial infectante não identificáveis ou não marcadas como tais. Tal procedimento pode acarretar perigo para os o serviço de transporte, e a quem recebe a remessa.

O responsável pela remessa precisa ser treinado, de forma a garantir o manuseio dentro das normas de biossegurança, bem como acondicionar e identificar o material evitando eventuais acidentes.

6.2 Documentação e embalagem

A documentação que acompanha as remessas de amostras biológicas potencialmente infectante devem conter: informações de origem, destino, cuidados de manuseio, alerta de risco e procedimento de emergência em caso de acidente.

A embalagem de transporte precisa ser impermeável, conter material absorvente envolvendo o recipiente em contato direto com a amostra, envolto em saco plástico.

6.3 Recebimento de material potencialmente infectante

O responsável pelo recebimento de tais materiais precisa ser treinado quanto à procedimentos de biossegurança.

O recipiente de transporte somente deve ser aberto para conferência e manuseio de seu conteúdo em ambiente laboratorial, por profissional paramentado.

Verificar ocorrência de possível vazamento e/ou quebra, para realização de procedimento de descontaminação e desprezo.

7 Higienização de Superfícies e Equipamentos:

O quê?	Quando	Com o que?	Como
Chuveiros e lava-olhos	semanalmente	Água e sabão Água corrente Álcool 70%	Limpeza; Ligar o sistema e deixar água limpa correndo por 3 minutos Passar sobre a superfície e deixar solução em contato por 15 minutos
Aparelhos	Semanalmente	Pano ou papel descartável;	Remover a contaminação;
	Após exposição à material biológico	Água e sabão; Álcool a 70%.	Limpeza; Passar sobre a superfície e deixar solução em contato por 15 minutos, depois secar com papel absorvente seco
Autoclave	Semanalmente	Água e Sabão	Limpeza mecânica
Banho-maria	Semanalmente	Água e sabão; Álcool a 70%.	Retirar a água; Limpeza; Passar sobre a superfície e deixar solução em contato por 15 minutos, depois secar com papel absorvente seco
Centrífugas	Após utilização	Álcool a 70%	Passar sobre a superfície e deixar solução em contato por 15 minutos, depois secar com papel absorvente seco
	Após contaminação com material biológico		
Estufa	Mensalmente	Água e sabão;	Limpeza;
	Após contaminação com material biológico	Álcool a 70%.	Passar sobre a superfície e deixar solução em contato por 15 minutos, depois secar com papel absorvente seco
Cabine de	Diariamente	Água e sabão;	Limpeza mecânica;

Fluxo laminar	Antes e após o uso	Álcool a 70%.	Passar sobre a superfície e deixar solução em contato por 15 minutos, depois secar com papel absorvente seco
Filtro de ar condicionado	Mensalmente	Água e sabão; Solução de hipoclorito 1%	Retirar o filtro; Limpeza; Deixar de molho em solução por 30 minutos, enxaguar, fazer leve compressão para remover excesso de água Recolocar o filtro.
Freezer	Mensalmente	Água e sabão	Transferir o conteúdo para outro freezer; Degelar; Limpeza.
Geladeiras	Mensalmente	Água e sabão	Transferir o conteúdo para outro freezer; Degelar; Limpeza.
Bancadas	Diariamente ou após contaminação com material biológico	Pano ou papel descartável; Álcool a 70%.	Remover a contaminação; Passar sobre a superfície e deixar solução em contato por 15 minutos, depois secar com papel absorvente seco
Paredes	Trimestralmente	Água e sabão.	Limpeza.
Pias	Diariamente	Água e sabão.	Limpeza.
Pisos	Diariamente ou após contaminação com material biológico	Pano ou papel; Água e sabão; Solução de hipoclorito 1%	Remover a contaminação; Limpeza; Passar pano embebido na solução e aguardar 30 minutos para secagem com pano seco
Lixeiras	Semanalmente	Água e sabão; Solução de hipoclorito 5%	Limpeza; Deixar de molho em solução por 30 minutos, enxaguar, secar com material absorvente.

7.1 Procedimentos usuais de desinfecção:

7.1.1 Álcool a 70%(etanol ou isopropílico):

O álcool a 70% (v/v) é um dos desinfetantes mais empregados no laboratório.

*Utilização: para desinfecção da pele, bancada e equipamentos.

*Procedimento: Após a limpeza com água e sabão deve-se esfregar um pano ou algodão embebido com a solução de álcool a 70%.

*Tempo de inativação: deixar a superfície a ser descontaminada em contato com a solução por no mínimo 15 minutos.

*Preparo do Álcool a 70% (v/v):

Etanol a 95° (p/v).....73,7ml
Água destilada q.s.p.....100 ml

7.1.2 Hipoclorito de sódio 1%:

*Utilização: descontaminação de pisos, vidrarias, inativação química de material biológico.

*Procedimento: Após a limpeza com água e sabão deve-se passar pano ou material absorvente com a solução de hipoclorito 5% no piso, ou submergir vidraria em solução, garantindo que a solução esteja em contato com toda parede do objeto a ser descontaminado.

Atenção, para descontaminação de resíduos líquidos e semi-sólidos, colocar hipoclorito concentrado na proporção de 1 para 19 partes do resíduo em descontaminação.

*Tempo de inativação: deixar em contato a superfície a ser descontaminada por no mínimo 30 minutos.

7.2 Procedimento usual de esterilização

7.2.1 Autoclavação

Procedimento de inativação com calor úmido à alta pressão.

*Utilização: descontaminação de utensílios laboratoriais, bem como descontaminação de material para descarte.

*Procedimento: 121°C, 1 atm (vide instrução operacional do equipamento).

*Tempo de inativação: mínimo de 15 minutos.

8 Descarte

Materiais que estiveram em contato com amostras potencialmente infectantes devem ser descontaminados antes de saírem da área de trabalho onde foram manipulados.

Todo material pérfuro-cortante, mesmo que estéril, deve ser desprezado em recipientes resistentes à perfuração com tampa.

Todos materiais e amostras contaminados precisam ser desinfetados, antes de serem descartados ou limpos para uso posterior. Devem ser colocados em sacos plásticos à prova de vazamento e identificados, antes de serem autoclavados. Esses sacos devem ser mantidos em vasilhames de paredes rígidas, laváveis e identificados, colocados em área restrita.

9 Condutas em derramamentos e acidentes laboratoriais com material potencialmente infectante

□ Em caso de derramamento de material biológico, o local precisa ser imediatamente identificado com alerta de RISCO e isolado;

□ Cobrir a área de derramamento completamente com material absorvente e aplicar solução de hipoclorito concentrado. Após 30(trinta) minutos, deve ser iniciado o procedimento de limpeza. Utilize material absorvente descartável (toalhas de papel, compressas de gaze, panos de limpeza) para absorver o derramamento. Se o volume

derramado for grande, pode ser usado material absorvente granulado para absorver o líquido;

- ❑ Use luvas (resistentes), avental e proteção facial, proteger os calçados com material impermeável e descartável;
- ❑ Se o derramamento contiver vidro quebrado ou outros objetos, esses devem ser descartados sem contato manual direto. Podem ser usadas folhas rígidas de cartão ou pás de lixo plásticas, dotadas de dispositivo para impulsionar os detritos em um recipiente para os recolher; ou usar pinças. Estas deverão ser descartadas juntamente com os objetos num recipiente apropriado para material com risco biológico e à prova de perfurações;
- ❑ Se houver a possibilidade de formação de gotas, ex: quebra dentro da centrífuga, o equipamento deve permanecer fechado durante pelo menos meio hora a fim de permitir que as gotas assentem, antes de se iniciar a descontaminação;
- ❑ Absorver a maior parte do líquido antes da limpeza;
- ❑ Enxágüe o local do derramamento com água a fim de remover produtos químicos nocivos ou odores.
- ❑ Seque o local do derramamento para prevenir escorregões.
- ❑ Todo material descartável utilizado na descontaminação precisa ser esterilizado antes de ser descartado.

10 Acidentes ocupacionais

10.1 Vias de Infecções:

Via aérea: Inalação de aerossóis com soluções ou partículas infectantes que podem se formar durante a remoção de tampas de tubos de ensaio ou frascos, em pipetagem rápida, por centrifugação de tubos destampados e/ou por aquecimento rápido.

Oral: Geralmente ocorre por pipetagem com a boca ou o ato de levar a mão ou objetos contaminados à boca.

Inoculação direta: Picadas acidentais de agulhas, lancetas, cacos de vidro, arranhões ou cortes podem ser facilmente contaminados por contato com amostras biológicas infectantes.

Mucosas: Contato direto ou indireto de agente infectante com as mucosas da boca e olhos.

10.2 Procedimento pós exposição a materiais biológicos

- ❑ Comunicar imediatamente um representante da comissão de Biossegurança ou responsável pela célula.
- ❑ Aplicar solução anti-séptica sobre a região exposta ao agente potencialmente infectante percutânea ou cutânea (PVPI, álcool iodado ou álcool 70%) e na mucosa oral (clorexidina a 4%), deixando em contato por um tempo mínimo de 15 minutos;
- ❑ Nas exposições de mucosas e olhos, deve-se lavar exaustivamente com água ou solução fisiológica;
- ❑ Atenção: a utilização de soluções irritantes como éter, hipoclorito de sódio ou glutaraldeído são contra-indicados.

10.3 Avaliação do Risco de Exposição em caso de acidentes:

Cabe ao responsável e/ou à Comissão de Biossegurança avaliar e classificar a cada caso de acidente ocorrido em particular o grau de risco e medidas a serem tomadas, com base em informações técnicas científicas e relato dos envolvidos.

Para a tomada de decisões, é preciso reunir a maior quantidade de informações possíveis, como:

- ❑ Definição do tipo de material biológico envolvido;
- ❑ Gravidade e tipo da exposição;
- ❑ Identificação ou não do paciente-fonte e de sua condição sorológica anti-HIV, hepatites, dentre outros;

Os acidentes mais graves, geralmente, são os que envolvem:

- a) Maior volume de sangue: Lesões profundas provocadas por material perfuro-cortante, com presença de sangue visível no instrumento, acidentes com agulhas previamente utilizadas na veia ou artéria do paciente e acidentes com agulhas de grosso calibre;
- b) Maior inoculo viral: representado por pacientes-fonte com infecção pelo HIV/aids em estágios avançados da doença ou com infecção aguda pelo HIV. São situações que apresentam viremias elevadas.

Esquemáticamente, os aspectos iniciais da exposição e riscos são avaliados a partir das informações levantadas:

✓	Tipo de exposição Percutânea Mucosa Pele não-integra Mordedura humana
✓	Tipo e quantidade do material biológico (líquido, tecidos) Sangue Material biológico contendo sangue Líquidos e tecidos potencialmente infectantes (sêmen, secreção vaginal, líquor, líq sinovial, líq pleural, líq peritoneal, líq pericárdico, líq amniótico) Contato direto com material contendo vírus em grande quantidade
✓	Situação infeccioso da fonte Presença de HBsAg Presença de anti-VHC Presença de anti-HIV
✓	Susceptibilidade do profissional exposto Situação quanto à vacina contra hepatite B e resposta vacinal Situação infecção HIV / HBV / HCV

Fonte: CDC, 2001.

Elaboração: Comissão de Biossegurança BioTécnica:
Adelaine França de A. Lorién – Agda Andrade – Baby Maria Ferreira – Roscelli Sette
Silva Maiolini – Shauma Gustavon
Farmacêuticas Bioquímicas

Referências Bibliográficas

- Biossegurança em laboratório biomédicos e de microbiologia / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 2 ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.
- MACHADO, C.M. Rotinas de limpeza, Laboratório de Virologia do IMISP – FMUSP, SP, 2001.
- Manual de Biossegurança dos Ambulatórios da Faculdade de Odontologia da PUCRS. Comissão de biossegurança, Porto Alegre, 2006.
- Ministério da Saúde. Coordenação de controle de infecção
- Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimento de Saúde – 2 ed. – Brasília, 1994
- SOUZA, M.M. Biossegurança no laboratório clínico. Ed. Eventos, RJ, 1998