

# Segurança e Controle de Qualidade no Laboratório de Microbiologia Clínica

**Módulo II**

## ÍNDICE

<b>1. Regulamento Técnico para laboratórios Clínicos.....</b>	<b>1</b>
Consulta Pública nº 50, de 05 de agosto de 2004.....	1
D.O.U de 06/08/2004 .....	1
Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº. 302, de 13 de Outubro de 2005.....	1
Anexo - Regulamento técnico para funcionamento de laboratórios clínicos.....	2
Histórico .....	2
Objetivo .....	2
Abrangência .....	2
Definições.....	2
Condições gerais.....	5
Processos operacionais .....	8
Registros .....	11
Garantia da qualidade.....	12
Controle da qualidade.....	12
Disposições transitórias.....	13
Referências normativas e bibliográficas .....	13
<b>2. Requisitos básicos para laboratório de MICROBIOLOGIA.....</b>	<b>16</b>
Introdução .....	16
Infra-Estrutura Física .....	16
Biossegurança e controle de Qualidade.....	17
<b>3. classificação dos laboratórios segundo o nível de biossegurança .....</b>	<b>19</b>
Nível 1 de Biossegurança (NB-1) ou proteção básica (P1).....	19
Nível 2 de Biossegurança (NB-2) ou (P2) .....	19
Nível 3 de Biossegurança (NB-3) ou (P3) .....	19
Nível 4 de Biossegurança (NB-4) ou (P4) .....	20
Classificação do organismo segundo seu potencial patogênico.....	20
Classificação dos Organismos Geneticamente Modificados .....	21
<b>4. Laboratórios NB-1, NB-2 e NB-3 .....</b>	<b>22</b>
Design e infra-estrutura laboratoriais .....	22
Acesso .....	23
Equipamentos e acessórios laboratoriais .....	23
Gestão de segurança .....	25
Saúde Ocupacional .....	26
Áreas de trabalho.....	27
Proteção Pessoal .....	27
Segurança nos procedimentos laboratoriais.....	28
Descontaminação e descarte de resíduos .....	30
MEDIDAS RELATIVAS À ACIDENTE e derramamento.....	31
<b>5. Precauções quanto à contaminação .....</b>	<b>32</b>
Cuidados relativos aos riscos de contaminação biológica .....	32
Cuidados relativos aos riscos de contaminação química.....	33
<b>6. Controle de qualidade no laboratório .....</b>	<b>35</b>
Introdução .....	35
Objetivo .....	35
Ensaio de Proficiência.....	35
Parâmetros do controle de qualidade.....	35
Controle de qualidade de Equipamentos .....	36
Controle de qualidade de meio de cultura, REAGENTES e kits comerciais .....	38
Controle de Qualidade de Funcionários .....	40
<b>7. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>41</b>

# **1. REGULAMENTO TÉCNICO PARA LABORATÓRIOS CLÍNICOS**

---

## **CONSULTA PÚBLICA Nº 50, DE 05 DE AGOSTO DE 2004. D.O.U DE 06/08/2004**

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o art. 11, inciso IV, do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, c/c o § 1º do art. 111 do Regimento Interno aprovado pela Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000, em reunião realizada em 3 de agosto de 2004, adota a seguinte Consulta Pública e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Fica aberto, a contar da data de publicação desta Consulta Pública, o prazo de 60 (sessenta) dias para que sejam apresentadas críticas e sugestões relativas à minuta de Resolução, que define o Regulamento Técnico para fixar os requisitos mínimos exigidos para o Funcionamento dos Laboratórios Clínicos, em anexo.

Art. 2º Informar que o texto da proposta de Resolução de que trata o artigo 1º estará disponível na íntegra, durante o período de consulta, no endereço eletrônico [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) e que as sugestões deverão ser encaminhadas por escrito para o seguinte endereço: Agência Nacional de Vigilância Sanitária – GGES/GTOSS - SEPN 515, Bloco "B" Ed. Omega, 4º andar, Asa Norte, Brasília-DF, CEP 70.770.502, ou E-mail: [gtoss@anvisa.gov.br](mailto:gtoss@anvisa.gov.br).

Art. 3º Findo o prazo estipulado no art 1º a Agência Nacional de Vigilância Sanitária articular-se-á com os Órgãos e Entidades envolvidos e aqueles que tenham manifestado interesse na matéria, para que indiquem representantes nas discussões posteriores, visando a consolidação do texto final.

## **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº. 302, DE 13 DE OUTUBRO DE 2005.**

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o art.11, inciso IV, do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto 3.029, de 16 de abril de 1999, c/c o § 1º do art.111 do Regimento Interno aprovado pela Portaria nº. 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000, em reunião realizada em 10 de outubro de 2005;

considerando as disposições constitucionais e a Lei Federal nº. 8080 de 19 de setembro de 1990 que trata das condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, como direito fundamental do ser humano;

considerando a necessidade de normalização do funcionamento do Laboratório Clínico e Posto de Coleta Laboratorial;

considerando a relevância da qualidade dos exames laboratoriais para apoio ao diagnóstico eficaz, adota a seguinte Resolução da Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente substituto, determino a sua publicação:

Art. 1º Aprovar o Regulamento Técnico para funcionamento dos serviços que realizam atividades laboratoriais, tais como Laboratório Clínico, e Posto de Coleta Laboratorial, em anexo.

Art. 2º Estabelecer que a construção, reforma ou adaptação na estrutura física do laboratório clínico e posto de coleta laboratorial deve ser precedida de aprovação do projeto junto à autoridade sanitária local em conformidade com a RDC/ANVISA nº. 50, de 21 de fevereiro de 2002, e RDC/ANVISA nº. 189, de 18 de julho de 2003 suas atualizações ou instrumento legal que venha a substituí-las.

Art. 3º As Secretarias de Saúde Estaduais, Municipais e do Distrito Federal devem implementar os procedimentos para adoção do Regulamento Técnico estabelecido por esta RDC, podendo adotar normas de caráter suplementar, com a finalidade de adequá-lo às especificidades locais.

Art. 4º O descumprimento das determinações deste Regulamento Técnico constitui infração de natureza sanitária sujeitando o infrator a processo e penalidades previstas na Lei nº. 6437, de 20 de agosto de 1977, suas atualizações, ou instrumento legal que venha a substituí-la, sem prejuízo das responsabilidades penal e civil cabíveis.

Art. 5º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

FRANKLIN RUBINSTEIN

## **ANEXO**

# **REGULAMENTO TÉCNICO PARA FUNCIONAMENTO DE LABORATÓRIOS CLÍNICOS**

### **1 HISTÓRICO**

O Regulamento Técnico de Funcionamento do Laboratório Clínico foi elaborado a partir de trabalho conjunto de técnicos da ANVISA, com o Grupo de Trabalho instituído pela Portaria nº. 864, de 30 de setembro 2003. Este Grupo de Trabalho foi composto por técnicos da ANVISA, Secretaria de Atenção a Saúde (SAS/MS), Secretaria de Vigilância a Saúde (SVS/MS), Vigilâncias Sanitárias Estaduais, Laboratório de Saúde Pública, Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, Provedores de Ensaio de Proficiência e um Consultor Técnico com experiência na área.

A proposta de Regulamento Técnico elaborada pelo Grupo de Trabalho foi publicada como Consulta Pública nº. 50 em 6 agosto de 2004 e ficou aberta para receber sugestões por um prazo de 60 (sessenta) dias, os quais foram prorrogados por mais 30 (trinta) dias.

As sugestões recebidas foram consolidadas pelos técnicos da Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde - GGTES/ANVISA, pelos componentes do Grupo de Trabalho juntamente com o Consultor. Após discussões, as sugestões pertinentes foram incorporadas ao texto do Regulamento Técnico, sendo produzido o documento final consensual sobre o assunto.

O presente documento é o resultado das discussões que definiram os requisitos necessários ao funcionamento do Laboratório Clínico e Posto de Coleta Laboratorial.

### **2 OBJETIVO**

Definir os requisitos para o funcionamento dos laboratórios clínicos e postos de coleta laboratorial públicos ou privados que realizam atividades na área de análises clínicas, patologia clínica e citologia.

### **3 ABRANGÊNCIA**

Esta Resolução de Diretoria Colegiada é aplicável a todos os serviços públicos ou privados, que realizam atividades laboratoriais na área de análises clínicas, patologia clínica e citologia.

### **4 DEFINIÇÕES**

4.1 Alvará sanitário/Licença de funcionamento/Licença sanitária: Documento expedido pelo órgão sanitário competente Estadual, Municipal ou do Distrito Federal, que libera o funcionamento dos estabelecimentos que exerçam atividades sob regime de vigilância sanitária.

4.2 Amostra do paciente: Parte do material biológico de origem humana utilizada para análises laboratoriais.

4.3 Amostra laboratorial com restrição: Amostra do paciente fora das especificações, mas que ainda pode ser utilizada para algumas análises laboratoriais.

4.4 Amostra controle: Material usado com a finalidade principal de monitorar a estabilidade e a reprodutibilidade de um sistema analítico nas condições de uso na rotina.

4.5 Analito: Componente ou constituinte de material biológico ou amostra de paciente, passível de pesquisa ou análise por meio de sistema analítico de laboratório clínico.

4.6 Biossegurança: Condição de segurança alcançada por um conjunto de ações destinadas a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam comprometer a saúde humana, animal e o meio ambiente.

4.7 Calibração: Conjunto de operações que estabelece, sob condições especificadas, a correspondência entre valores indicados por um instrumento, sistema de medição ou material de referência, e os valores correspondentes estabelecidos por padrões.

4.8 Coleta laboratorial domiciliar: Realização da coleta de amostra de paciente em sua residência.

4.9 Coleta laboratorial em empresa: Realização da coleta de amostra de paciente no âmbito de uma empresa.

4.10 Coleta laboratorial em unidade móvel: Realização da coleta de amostra de paciente em unidade móvel.

4.11 Controle da qualidade: Técnicas e atividades operacionais utilizadas para monitorar o cumprimento dos requisitos da qualidade especificados.

4.12 Controle externo da qualidade - CEQ: Atividade de avaliação do desempenho de sistemas analíticos através de ensaios de proficiência, análise de padrões certificados e comparações interlaboratoriais. Também chamada Avaliação Externa da Qualidade.

4.13 Controle interno da qualidade - CIQ: Procedimentos conduzidos em associação com o exame de amostras de pacientes para avaliar se o sistema analítico está operando dentro dos limites de tolerância pré-definidos.

4.14 Desinfecção: Processo físico ou químico que destrói ou inativa a maioria dos microrganismos patogênicos de objetos inanimados e superfícies, com exceção de esporos bacterianos.

4.15 Ensaio de proficiência: Determinação do desempenho analítico por meio de comparações interlaboratoriais conduzidas por provedores de ensaio de proficiência.

4.16 Equipamento laboratorial: Designação genérica para um dispositivo empregado pelo laboratório clínico como parte integrante do processo de realização de análises laboratoriais.

4.17 Esterilização: Processo físico ou químico que destrói todas as formas de vida microbiana, ou seja, bactérias nas formas vegetativas e esporuladas, fungos e vírus.

4.18 Fase pré-analítica: Fase que se inicia com a solicitação da análise, passando pela obtenção da amostra e finda ao se iniciar a análise propriamente dita.

4.19 Fase analítica: Conjunto de operações, com descrição específica, utilizada na realização das análises de acordo com determinado método.

4.20 Fase pós-analítica: Fase que se inicia após a obtenção de resultados válidos das análises e finda com a emissão do laudo, para a interpretação pelo solicitante.

4.21 Garantia da qualidade: Conjunto de atividades planejadas, sistematizadas e implementadas com o objetivo de cumprir os requisitos da qualidade especificados.

4.22 Inspeção sanitária: Conjunto de procedimentos técnicos e administrativos, de competência da autoridade sanitária local, que previnem e controlam o risco sanitário em estabelecimentos sujeitos a este controle.

- 4.23 Instrução escrita: Toda e qualquer forma escrita de documentar as atividades realizadas pelo estabelecimento e ou serviço.
- 4.24 Instrumento laboratorial: Designação genérica para dispositivos empregados pelo laboratório clínico que auxiliam na execução de uma tarefa analítica.
- 4.25 Insumo: Designação genérica do conjunto dos meios ou materiais utilizados em um processo para geração de um produto ou serviço.
- 4.26 Laboratório clínico: Serviço destinado à análise de amostras de paciente, com a finalidade de oferecer apoio ao diagnóstico e terapêutico, compreendendo as fases pré-analítica, analítica e pós-analítica.
- 4.27 Laboratório de apoio: Laboratório clínico que realiza análises em amostras enviadas por outros laboratórios clínicos.
- 4.28 Laudo laboratorial: Documento que contém os resultados das análises laboratoriais, validados e autorizados pelo responsável técnico do laboratório ou seu substituto.
- 4.29 Limpeza: Processo sistemático e contínuo para a manutenção do asseio ou, quando necessário, para a retirada de sujidade de uma superfície.
- 4.30 Material biológico humano: Tecido ou fluido constituinte do organismo humano.
- 4.31 Metodologia própria em laboratório clínico (in house): Reagentes ou sistemas analíticos produzidos e validados pelo próprio laboratório clínico, exclusivamente para uso próprio, em pesquisa ou em apoio diagnóstico.
- 4.32 Paciente de laboratório: Pessoa da qual é coletado o material ou amostra biológica para ser submetida à análise laboratorial.
- 4.33 Posto de coleta laboratorial: Serviço vinculado a um laboratório clínico, que realiza atividade laboratorial, mas não executa a fase analítica dos processos operacionais, exceto os exames presenciais, cuja realização ocorre no ato da coleta.
- 4.34 Produto para diagnóstico de uso in vitro: Reagentes, padrões, calibradores, controles, materiais, artigos e instrumentos, junto com as instruções para seu uso, que contribuem para realizar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa de uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados unicamente para provar informação sobre amostras obtidas do organismo humano.
- 4.35 Profissional legalmente habilitado: Profissional com formação superior inscrito no respectivo Conselho de Classe, com suas competências atribuídas por Lei.
- 4.36 Rastreabilidade: Capacidade de recuperação do histórico, da aplicação ou da localização daquilo que está sendo considerado, por meio de identificações registradas.
- 4.37 Responsável Técnico - RT: Profissional legalmente habilitado que assume perante a Vigilância Sanitária a Responsabilidade Técnica do laboratório clínico ou do posto de coleta laboratorial.
- 4.38 Saneante: Substância ou preparação destinada à higienização, desinfecção, esterilização ou desinfestação domiciliar, em ambientes coletivos, públicos e privados, em lugares de uso comum e no tratamento da água.

4.39 Supervisão: Atividade realizada com a finalidade de verificar o cumprimento das especificações estabelecidas nos processos operacionais.

4.40 Teste Laboratorial Remoto-TLR: Teste realizado por meio de um equipamento laboratorial situado fisicamente fora da área de um laboratório clínico. Também chamado Teste Laboratorial Portátil -TLP, do inglês Point-of-care testing -POCT.

4.41 Validação: Procedimento que fornece evidências de que um sistema apresenta desempenho dentro das especificações da qualidade, de maneira a fornecer resultados válidos.

4.42 Verificação da calibração: Ato de demonstrar que um equipamento de medição apresenta desempenho dentro dos limites de aceitabilidade, em situação de uso.

## **5 CONDIÇÕES GERAIS**

### 51 Organização

51.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem possuir alvará atualizado, expedido pelo órgão sanitário competente.

51.2 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem possuir um profissional legalmente habilitado como responsável técnico.

5.1.2.1 O profissional legalmente habilitado pode assumir, perante a vigilância sanitária, a responsabilidade técnica por no máximo: 02 (dois) laboratórios clínicos ou 02 (dois) postos de coleta laboratorial ou 01 (um) laboratório clínico e 01 (um) posto de coleta laboratorial.

51.2.2 Em caso de impedimento do responsável técnico, o laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem contar com um profissional legalmente habilitado para substituí-lo.

51.3 Todo laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial, público e privado devem estar inscritos no Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde - CNES.

5.1.4 A direção e o responsável técnico do laboratório clínico e do posto de coleta laboratorial têm a responsabilidade de planejar, implementar e garantir a qualidade dos processos, incluindo:

- a) a equipe técnica e os recursos necessários para o desempenho de suas atribuições;
- b) a proteção das informações confidenciais dos pacientes;
- c) a supervisão do pessoal técnico por profissional de nível superior legalmente habilitado durante o seu período de funcionamento;
- d) os equipamentos, reagentes, insumos e produtos utilizados para diagnóstico de uso "in vitro", em conformidade com a legislação vigente;
- e) a utilização de técnicas conforme recomendações do fabricante (equipamentos e produtos) ou com base científica comprovada;
- f) a rastreabilidade de todos os seus processos.

5.1.5 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem dispor de instruções escritas e atualizadas das rotinas técnicas implantadas.

5.1.6 O posto de coleta laboratorial deve possuir vínculo com apenas um laboratório clínico.

5.1.6.1 Os postos de coleta laboratorial localizados em unidades públicas de saúde devem ter seu vínculo definido formalmente pelo gestor local.

5.1.7 O laboratório clínico deve possuir estrutura organizacional documentada.

5.1.8 As atividades de coleta domiciliar, em empresa ou em unidade móvel devem estar vinculadas a um laboratório clínico e devem seguir os requisitos aplicáveis definidos neste Regulamento Técnico.

## 5.2. Recursos Humanos

5.2.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem manter disponíveis registros de formação e qualificação de seus profissionais compatíveis com as funções desempenhadas.

5.2.2 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem promover treinamento e educação permanente aos seus funcionários mantendo disponíveis os registros dos mesmos.

5.2.3 Todos os profissionais do laboratório clínico e do posto de coleta laboratorial devem ser vacinados em conformidade com a legislação vigente.

5.2.4 A admissão de funcionários deve ser precedida de exames médicos em conformidade com o PCMSO da NR-7 da Portaria MTE nº 3214 de 08/06/1978 e Lei nº 6514 de 22/12/1977, suas atualizações ou outro instrumento legal que venha substituí-la.

## 5.3 Infra-Estrutura

5.3.1 A infra-estrutura física do laboratório clínico e do posto de coleta devem atender aos requisitos da RDC/ANVISA nº. 50 de 21/02/2002, suas atualizações, ou outro instrumento legal que venha substituí-la.

## 5.4 Equipamentos e Instrumentos Laboratoriais

5.4.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem:

a) possuir equipamentos e instrumentos de acordo com a complexidade do serviço e necessários ao atendimento de sua demanda;

b) manter instruções escritas referentes a equipamento ou instrumento, as quais podem ser substituídas ou complementadas por manuais do fabricante em língua portuguesa;

c) realizar e manter registros das manutenções preventivas e corretivas;

d) verificar ou calibrar os instrumentos a intervalos regulares, em conformidade com o uso, mantendo os registros dos mesmos;

e) verificar a calibração de equipamentos de medição mantendo registro das mesmas.

5.4.2 Os equipamentos e instrumentos utilizados, nacionais e importados, devem estar regularizados junto a ANVISA/MS, de acordo com a legislação vigente.

5.4.3 Os equipamentos que necessitam funcionar com temperatura controlada devem possuir registro da verificação da mesma.

## 5.5 Produtos para diagnóstico de uso in vitro

5.5.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem registrar a aquisição dos produtos para diagnóstico de uso in vitro, reagentes e insumos, de forma a garantir a rastreabilidade.

5.5.2 Os produtos para diagnóstico de uso in vitro, reagentes e insumos adquiridos devem estar regularizados junto a ANVISA/MS de acordo com a legislação vigente.

5.5.3 O reagente ou insumo preparado ou alíquotado pelo próprio laboratório deve ser identificado com rótulo contendo: nome, concentração, número do lote (se aplicável), data de preparação, identificação de quem preparou (quando aplicável), data de validade, condições de armazenamento, além de informações referentes a riscos potenciais.

5.5.3.1 Devem ser mantidos registros dos processos de preparo e do controle da qualidade dos reagentes e insumos preparados.

5.5.4 A utilização dos reagentes e insumos deve respeitar as recomendações de uso do fabricante, condições de preservação, armazenamento e os prazos de validade, não sendo permitida a sua revalidação depois de expirada a validade.

5.5.5 O laboratório clínico que utilizar metodologias próprias - In House, deve documentá-las incluindo, no mínimo:

- a) descrição das etapas do processo;
- b) especificação e sistemática de aprovação de insumos, reagentes e equipamentos e instrumentos.
- c) sistemática de validação.

5.5.5.1 O laboratório clínico deve manter registro de todo o processo e especificar no laudo que o teste é preparado e validado pelo próprio laboratório.

## 5.6 Descarte de Resíduos e Rejeitos

5.6.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem implantar o Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS) atendendo aos requisitos da RDC/ANVISA nº 306 de 07/12/2004, suas atualizações, ou outro instrumento legal que venha substituí-la.

## 5.7 Biossegurança

5.7.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem manter atualizados e disponibilizar, a todos os funcionários, instruções escritas de biossegurança, contemplando no mínimo os seguintes itens:

- a) normas e condutas de segurança biológica, química, física, ocupacional e ambiental;
- b) instruções de uso para os equipamentos de proteção individual (EPI) e de proteção coletiva (EPC);
- c) procedimentos em caso de acidentes;
- d) manuseio e transporte de material e amostra biológica.

5.7.2 O Responsável Técnico pelo laboratório clínico e pelo posto de coleta laboratorial deve documentar o nível de biossegurança dos ambientes e/ou áreas, baseado nos procedimentos realizados, equipamentos e microorganismos envolvidos, adotando as medidas de segurança compatíveis.

## 5.8 Limpeza, Desinfecção e Esterilização

5.8.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem possuir instruções de limpeza, desinfecção e esterilização, quando aplicável, das superfícies, instalações, equipamentos, artigos e materiais.

5.8.2 Os saneantes e os produtos usados nos processos de limpeza e desinfecção devem ser utilizados segundo as especificações do fabricante e estarem regularizados junto a ANVISA/MS, de acordo com a legislação vigente.

## **6 PROCESSOS OPERACIONAIS**

### 6.1 Fase pré-analítica

6.1.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem disponibilizar ao paciente ou responsável, instruções escritas e ou verbais, em linguagem acessível, orientando sobre o preparo e coleta de amostras tendo como objetivo o entendimento do paciente.

6.1.2 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem solicitar ao paciente documento que comprove a sua identificação para o cadastro.

6.1.2.1 Para pacientes em atendimento de urgência ou submetidos a regime de internação, a comprovação dos dados de identificação também poderá ser obtida no prontuário médico.

6.1.3 Os critérios de aceitação e rejeição de amostras, assim como a realização de exames em amostras com restrições devem estar definidos em instruções escritas.

6.1.4 O cadastro do paciente deve incluir as seguintes informações:

- a) número de registro de identificação do paciente gerado pelo laboratório;
- b) nome do paciente;
- c) idade, sexo e procedência do paciente;
- d) telefone e/ou endereço do paciente, quando aplicável;
- e) nome e contato do responsável em caso de menor de idade ou incapacitado;
- f) nome do solicitante;
- g) data e hora do atendimento;
- h) horário da coleta, quando aplicável;
- i) exames solicitados e tipo de amostra;
- j) quando necessário: informações adicionais, em conformidade com o exame (medicamento em uso, dados do ciclo menstrual, indicação/observação clínica, dentre outros de relevância);
- k) data prevista para a entrega do laudo;
- l) indicação de urgência, quando aplicável.

6.1.5 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem fornecer ao paciente ambulatorial ou ao seu responsável, um comprovante de atendimento com: número de registro, nome do paciente, data do atendimento, data prevista de entrega do laudo, relação de exames solicitados e dados para contato com o laboratório.

6.1.6. O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem dispor de meios que permitam a rastreabilidade da hora do recebimento e/ou coleta da amostra.

6.1.7 A amostra deve ser identificada no momento da coleta ou da sua entrega quando coletada pelo paciente.

6.1.7.1 Deve ser identificado o nome do funcionário que efetuou a coleta ou que recebeu a amostra de forma a garantir a rastreabilidade.

6.1.8 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem dispor de instruções escritas que orientem o recebimento, coleta e identificação de amostra.

6.1.9 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem possuir instruções escritas para o transporte da amostra de paciente, estabelecendo prazo, condições de temperatura e padrão técnico para garantir a sua integridade e estabilidade.

6.1.10 A amostra de paciente deve ser transportada e preservada em recipiente isotérmico, quando requerido, higienizável, impermeável, garantindo a sua estabilidade desde a coleta até a realização do exame, identificado com a simbologia de risco biológico, com os dizeres "Espécimes para Diagnóstico" e com nome do laboratório responsável pelo envio.

6.1.11 O transporte da amostra de paciente, em áreas comuns a outros serviços ou de circulação de pessoas, deve ser feito em condições de segurança conforme item 5.7.

6.1.12 Quando da terceirização do transporte da amostra, deve existir contrato formal obedecendo aos critérios estabelecidos neste Regulamento.

6.1.13 Quando da importação ou exportação de "Espécimes para Diagnóstico", devem ser seguidas a RDC/ANVISA nº 01, de 06 de dezembro de 2002 e a Portaria MS nº 1985, de 25 de outubro de 2001, suas atualizações ou outro instrumento legal que venha substituí-las.

## 6.2. Fase Analítica

6.2.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem dispor de instruções escritas, disponíveis e atualizadas para todos os processos analíticos, podendo ser utilizadas as instruções do fabricante.

6.2.2 O processo analítico deve ser o referenciado nas instruções de uso do fabricante, em referências bibliográficas ou em pesquisa cientificamente válida conduzida pelo laboratório.

6.2.3 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem disponibilizar por escrito, uma relação que identifique os exames realizados no local, em outras unidades do próprio laboratório e os que são terceirizados.

6.2.4 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem definir mecanismos que possibilitem a agilização da liberação dos resultados em situações de urgência.

6.2.5 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem definir limites de risco, valores críticos ou de alerta, para os analitos com resultado que necessita tomada imediata de decisão.

6.2.5.1 O laboratório e o posto de coleta laboratorial devem definir o fluxo de comunicação ao médico, responsável ou paciente quando houver necessidade de decisão imediata.

6.2.6 O laboratório clínico deve monitorar a fase analítica por meio de controle interno e externo da qualidade.

6.2.7 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem definir o grau de pureza da água reagente utilizada nas suas análises, a forma de obtenção, o controle da qualidade.

6.2.8 O laboratório clínico pode contar com laboratórios de apoio para realização de exames.

6.2.8.1 O laboratório de apoio deve seguir o estabelecido neste regulamento técnico.

6.2.9 O laboratório clínico deve:

- a) manter um cadastro atualizado dos laboratórios de apoio;
- b) possuir contrato formal de prestação destes serviços;
- c) avaliar a qualidade dos serviços prestados pelo laboratório de apoio.

6.2.10 O laudo emitido pelo laboratório de apoio deve estar disponível e arquivado pelo prazo de 5 (cinco) anos.

6.2.11 Os serviços que realizam testes laboratoriais para detecção de anticorpos anti-HIV devem seguir, o disposto neste Regulamento Técnico, além do disposto na Portaria MS nº. 59 de 28 de janeiro de 2003 e na Portaria SVS nº. 34 de 28 de julho de 2005, suas atualizações ou outro instrumento legal que venha substituí-la.

6.2.12 Os resultados laboratoriais que indiquem suspeita de doença de notificação compulsória devem ser notificados conforme o estabelecido no Decreto no 49.974-A, de 21 de janeiro de 1961, e na Portaria no 2325, de 08 de dezembro de 2003, suas atualizações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

6.2.13 A execução dos Testes Laboratoriais Remotos - TLR (Point-of-care) e de testes rápidos, deve estar vinculada a um laboratório clínico, posto de coleta ou serviço de saúde pública ambulatorial ou hospitalar.

6.2.14 O Responsável Técnico pelo laboratório clínico é responsável por todos os TLR realizados dentro da instituição, ou em qualquer local, incluindo, entre outros, atendimentos em hospital-dia, domicílios e coleta laboratorial em unidade móvel.

6.2.15 A relação dos TLR que o laboratório clínico executa deve estar disponível para a autoridade sanitária local.

6.2.15.1 O laboratório clínico deve disponibilizar nos locais de realização de TLR procedimentos documentados orientando com relação às suas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica, incluindo:

- a) sistemática de registro e liberação de resultados provisórios;
- b) procedimento para resultados potencialmente críticos;
- c) sistemática de revisão de resultados e liberação de laudos por profissional habilitado.

6.2.15.2 A realização de TRL e dos testes rápidos está condicionada a emissão de laudos que determine suas limitações diagnósticas e demais indicações estabelecidos no item 6.3.

6.2.15.3 O laboratório clínico deve manter registros dos controles da qualidade, bem como procedimentos para a realização dos mesmos.

6.2.15.4 O laboratório clínico deve promover e manter registros de seu processo de educação permanente para os usuários dos equipamentos de TLR.

### 6.3 Fase pós-analítica

6.3.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem possuir instruções escritas para emissão de laudos, que contemplem as situações de rotina, plantões e urgências.

6.3.2 O laudo deve ser legível, sem rasuras de transcrição, escrito em língua portuguesa, datado e assinado por profissional de nível superior legalmente habilitado.

6.3.3 O laudo deve conter no mínimo os seguintes itens:

- a) identificação do laboratório;
- b) endereço e telefone do laboratório;
- c) identificação do Responsável Técnico (RT);
- d) nº. de registro do RT no respectivo conselho de classe profissional;
- e) identificação do profissional que liberou o exame;
- f) nº. registro do profissional que liberou o exame no respectivo conselho de classe do profissional
- g) nº. de registro do Laboratório Clínico no respectivo conselho de classe profissional;
- h) nome e registro de identificação do cliente no laboratório;
- i) data da coleta da amostra;
- j) data de emissão do laudo;
- k) nome do exame, tipo de amostra e método analítico;
- l) resultado do exame e unidade de medição;
- m) valores de referência, limitações técnicas da metodologia e dados para interpretação;
- n) observações pertinentes.

6.3.4 Quando for aceita amostra de paciente com restrição, esta condição deve constar no laudo.

6.3.5 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial que optarem pela transcrição do laudo emitido pelo laboratório de apoio, devem garantir a fidedignidade do mesmo, sem alterações que possam comprometer a interpretação clínica.

6.3.6 O responsável pela liberação do laudo pode adicionar comentários de interpretação ao texto do laboratório de apoio, considerando o estado do paciente e o contexto global dos exames do mesmo.

6.3.7 O laudo de análise do diagnóstico sorológico de Anticorpos Anti-HIV deve estar de acordo com a Portaria MS nº 59/2003, suas atualizações ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

6.3.8 As cópias dos laudos de análise bem como dados brutos devem ser arquivados pelo prazo de 5 (cinco) anos, facilmente recuperáveis e de forma a garantir a sua rastreabilidade.

6.3.8.1 Caso haja necessidade de retificação em qualquer dado constante do laudo já emitido, a mesma deve ser feita em um novo laudo onde fica clara a retificação realizada.

## **7 REGISTROS**

7.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial devem garantir a recuperação e disponibilidade de seus registros críticos, de modo a permitir a rastreabilidade do laudo liberado.

7.2 As alterações feitas nos registros críticos devem conter data, nome ou assinatura legível do responsável pela alteração, preservando o dado original.

## **8 GARANTIA DA QUALIDADE**

8.1 O laboratório clínico deve assegurar a confiabilidade dos serviços laboratoriais prestados, por meio de, no mínimo:

- a) controle interno da qualidade;
- b) controle externo da qualidade (ensaios de proficiência).

## **9 CONTROLE DA QUALIDADE**

9.1 Os programas de Controle Interno da Qualidade (CIQ) e Controle Externo da Qualidade (CEQ) devem ser documentados, contemplando:

- a) lista de analitos;
- b) forma de controle e frequência de utilização;
- c) limites e critérios de aceitabilidade para os resultados dos controles;
- d) avaliação e registro dos resultados dos controles.

### 9.2 Controle Interno da Qualidade - CIQ

9.2.1 O laboratório clínico deve realizar Controle Interno da Qualidade contemplando:

- a) monitoramento do processo analítico pela análise das amostras controle, com registro dos resultados obtidos e análise dos dados;
- b) definição dos critérios de aceitação dos resultados por tipo de analito e de acordo com a metodologia utilizada;
- c) liberação ou rejeição das análises após avaliação dos resultados das amostras controle.

9.2.2 Para o CIQ, o laboratório clínico deve utilizar amostras controle comerciais, regularizados junto a ANVISA/MS de acordo com a legislação vigente.

9.2.2.1 Formas alternativas descritas na literatura podem ser utilizadas desde que permitam a avaliação da precisão do sistema analítico.

9.2.3 O laboratório clínico deve registrar as ações adotadas decorrentes de rejeições de resultados de amostras controle.

9.2.4 As amostras controle devem ser analisadas da mesma forma que amostras dos pacientes.

### 9.3 Controle Externo da Qualidade - CEQ

9.3.1 O laboratório clínico deve participar de Ensaios de Proficiência para todos os exames realizados na sua rotina.

9.3.1.1 Para os exames não contemplados por programas de Ensaios de Proficiência, o laboratório clínico deve adotar formas alternativas de Controle Externo da Qualidade descritas em literatura científica.

9.3.2 A participação em Ensaios de Proficiência deve ser individual para cada unidade do laboratório clínico que realiza as análises.

9.3.3 A normalização sobre o funcionamento dos Provedores de Ensaios de Proficiência será definida em resolução específica, desta ANVISA .

9.3.4 O laboratório clínico deve registrar os resultados do Controle Externo da Qualidade, inadequações, investigação de causas e ações tomadas para os resultados rejeitados ou nos quais a proficiência não foi obtida.

9.3.5 As amostras controle devem ser analisadas da mesma forma que as amostras dos pacientes.

## **10 DISPOSIÇÕES TRANSITÓRIAS**

10.1 O laboratório clínico e o posto de coleta laboratorial têm o prazo de 180 (cento e oitenta) dias para se adequarem ao estabelecido neste Regulamento Técnico a partir da data de sua publicação.

## **11 REFERÊNCIAS NORMATIVAS E BIBLIOGRÁFICAS**

11.1 BRASIL. Presidência da República. Decreto nº. 49.974-A, de 21 de janeiro de 1961. Regulamenta, sob a denominação de Código Nacional de Saúde, a Lei nº. 2.321, de 3 de setembro de 1954, de "Normas Gerais sobre Defesa e Proteção da Saúde". Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 6 fev.1961.

11.2 BRASIL. Congresso Nacional. Lei nº. 6360 de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 set. 1976.

11.3 BRASIL. Congresso Nacional. Lei nº. 6437 de 20 de agosto de 1977. Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá outras providências. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 ago. 1977.

11.4 BRASIL. Congresso Nacional. Lei n 8078, de 11 de setembro de 1990. Código de Defesa do Consumidor. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, v. 128, n. 176, supl. p. 1, 12 de set. 1990.

11.5 BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde. 2ª edição. Brasília, Centro de Documentação. 1994

[http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/processamento\\_artigos.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/processamento_artigos.pdf)

11.6 BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de Conduta - Exposição Ocupacional a Material Biológico: Hepatite e HIV / Coordenação Nacional de DST e AIDS - Brasília: Ministério da Saúde 1999. 20p.

[http://dtr2001.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_condutas\\_hepatite\\_hiv.pdf](http://dtr2001.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_condutas_hepatite_hiv.pdf)

11.7 BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia. 4ª edição. Brasília. 2000.

<http://dtr2001.saude.gov.br/svs/pub/pub22.htm>

11.8 BRASIL Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Subsecretaria de Assuntos Administrativos. Vocabulário da Saúde em Qualidade e Melhoria da Gestão / Secretaria Executiva, Subsecretaria de Assuntos Administrativos; elaboração de Jeová Dias Martins. -Brasília: Ministério da Saúde, 2002. 98 p. (Série F. Comunicação e Educação em Saúde).

11.9 BRASIL. Ministério da Saúde. Glossário do Ministério da Saúde: projeto terminologia em saúde / Ministério da Saúde - Brasília. Ministério da Saúde, 2004.

11.10 BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº. 8, de 23 de janeiro de 1996. Dispõe sobre o registro de produtos para diagnóstico de uso in vitro na Secretaria de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 jan. 1996.

11.11 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº. 1985, de 25 de outubro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico MERCOSUL para Transporte no MERCOSUL de Substâncias Infecciosas e Amostras para Diagnóstico, no MERCOSUL que consta como Anexo e faz parte da presente Portaria. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 06 nov. 2001.

11.12. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº. 1.943, de 18 de outubro de 2001 Define a relação de doenças de notificação compulsória para todo território nacional. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 out. 2001.

11.13 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº. 787, de 23 de outubro de 2002 - parte 1. Manual de Apoio aos Gestores do SUS - Organização da Rede de Laboratórios Clínicos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 out. 2002.

11.14 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº. 788, de 23 de outubro de 2002. Manual de Apoio aos Gestores do Sistema Único de Saúde - SUS para a Organização dos Postos de Coleta da Rede de Laboratórios Clínicos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 out. 2002.

11.15 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº. 59, de 28 de janeiro de 2003. Dispõe sobre a sub-rede de laboratórios do Programa Nacional de DST e Aids. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, Edição Extra, 30 jan. 2003.

11.16 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº.34 de 28 de julho de 2005 Regulamenta o uso de testes rápidos para diagnóstico da infecção pelo HIV em situações especiais. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, Edição de 29 jul. 2005.

11.17 BRASIL. Ministério do Trabalho. Gabinete do Ministro. Portaria nº. 3.214, de 08 de junho de 1978. Dispõe sobre a Aprovação das Normas Regulamentadoras -NR- do Capítulo V, Título II, da Consolidação das Leis do Trabalho, relativas à Segurança e Medicina do Trabalho. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 06 jul. 1978.

11.18 BRASIL. Ministério do Trabalho. Portaria nº. 8, de 08 de maio de 1996- NR 07. Altera Norma Regulamentadora NR-7- Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, v. 134, nº. 91, p. 8202, 13 mai. 1996.

11.19 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 185, de 22 de outubro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico que consta no anexo desta Resolução, que trata do registro, alteração, revalidação e cancelamento do registro de produtos médicos na Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 out. 2001.

11.20 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 50, de 21 de fevereiro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil. Brasília, 20 mar. 2002.

12.20 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 260, de 23 de setembro de 2002. Regula os produtos para a saúde. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 03 out. 2002.

11.21 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 01, de 06 dezembro de 2002. Aprovar, conforme Anexo, o Regulamento Técnico para fins de vigilância sanitária de mercadorias importadas. Retificação - Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 10 jan. 2003 - Prorrogada pela Resolução RDC nº. 20, de 30 de janeiro de 2003.

11.22 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 33, de 25 de fevereiro de 2003. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 05 mar. 2003.

11.23 IATA - Dangerous Good Regulations (DGR) 44<sup>a</sup>. Edicion, 2003.

11.24 ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas - Gestão da qualidade no laboratório clínico - NBR 14500 - jun 2000.

11.25 ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas - Glossário de termos para uso no laboratório clínico e no diagnóstico in vitro - NBR - 14501 - mar 2001.

11.26 ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas - Diagnóstico in vitro - Recomendações e critérios para aquisição, recepção, transporte e armazenamento de produtos - NBR 14711 - jun 2001.

11.27 ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas - Laboratório Clínico - NBR 14785 - dez de 2001.

11.28 ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas - Laboratório Clínico - Requisitos de segurança - NBR 14785 - dez 2001.

11.29 WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guideline for the Safe Transport of Infectious Substances and Diagnostic Specimens, Who/EMC/97.3. [online]. Available from World Wide Web: [http://www.who.int/emc/pdfs/emc97\\_3.pdf](http://www.who.int/emc/pdfs/emc97_3.pdf)

## **2. REQUISITOS BÁSICOS PARA LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA**

---

### **INTRODUÇÃO**

- Elaborar e viabilizar normas para coleta, conservação e transporte de material de interesse clínico;
- Estabelecer e executar rotinas microbiológicas, dentro dos padrões técnico-científicos vigentes, que permitam o isolamento e identificação dos principais agentes infecciosos de importância clínica, por gênero e, se possível, por espécie;
- Determinar a sensibilidade às drogas antimicrobianas;
- Efetuar o controle de qualidade de suas atividades e dos processos de esterilização;
- Divulgar e implementar normas de biossegurança;
- Participar junto com a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do rastreamento epidemiológico dos surtos de infecção hospitalar;
- Fornecer periodicamente dados relacionados com a etiologia das infecções hospitalares e da resistência às drogas;
- Executar outras atividades afins de natureza não rotineira e de relevância em determinadas situações como, por exemplo, estudos microbiológicos de materiais inanimados, portadores, desinfetantes, etc.

### **INFRA-ESTRUTURA FÍSICA**

#### **RECURSOS MATERIAIS**

O equipamento mínimo para funcionamento de um laboratório de microbiologia consiste em:

- |                                   |                                                |
|-----------------------------------|------------------------------------------------|
| ▪ estufa bacteriológica           | ▪ destilador para água                         |
| ▪ forno de Pasteur                | ▪ balança para tarar tubos                     |
| ▪ autoclave                       | ▪ balança comum com uma ou duas casas decimais |
| ▪ microscópio binocular           | ▪ bico de Bunsen                               |
| ▪ centrifugador de baixa rotação  | ▪ geladeira                                    |
| ▪ homogeneizador                  | ▪ capela de fluxo laminar                      |
| ▪ banho-maria de pequena dimensão |                                                |

Além desse equipamento mínimo, o laboratório poderá contar com outros aparelhos opcionais:

- microscópio estereoscópico
- congelador (-20°C ou -70°C)
- bomba de vácuo para filtração com membranas
- potenciômetro
- balança analítica

#### **RECURSOS HUMANOS**

É recomendável que a supervisão técnico-científica do laboratório esteja a cargo de médico ou profissional de nível superior, especializado em microbiologia, e, se possível, em tempo integral.

## **BIOSSEGURANÇA E CONTROLE DE QUALIDADE**

Nota-se que os laboratórios e hospitais são estruturas prestadoras de serviços em saúde, e portanto, estão constantemente envolvidos em manejo de riscos. Este é estabelecido para evitar e reduzir ao mínimo as possibilidades de acidentes ou práticas de alto risco que potencialmente podem causar dano tanto aos funcionários como aos pacientes. Sendo assim o manejo de risco deve garantir não somente um ambiente de trabalho seguro, mas também condições adequadas para que os pacientes possam se submeter aos procedimentos clínicos mais avançados e obter diagnósticos confiáveis.

Dessa forma o manejo de risco tem como objetivo a implantação de práticas de **segurança laboratorial** e de **controle de qualidade** dos serviços.

### **SEGURANÇA LABORATORIAL**

Pode ser definida como sendo um conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes a estas atividades e que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos.

A rotina do Laboratório de Microbiologia envolve exposição tanto com material clínico e reagentes químicos como com potenciais agentes patogênicos concentrados em meio de cultura. Assim profissionais da área de saúde e outros trabalhadores que exercem suas atividades em laboratórios, estão sob risco de desenvolver doença por exposição a agentes infecciosos, produtos químicos tóxicos e inflamáveis, entre outros.

Atualmente, com a sofisticação das novas técnicas de diagnóstico, observamos profissionais de outras áreas, tais como físicos, químicos, analistas de sistemas, etc, envolvidos em atividades com exposição a agentes infecciosos e por outro lado, microbiologistas manipulando substâncias químicas ou materiais radioativos.

A responsabilidade legal pela segurança em ambientes de trabalho cabe aos administradores de hospitais e laboratórios. No entanto, os funcionários também são responsáveis pela sua adesão às técnicas microbiológicas seguras e da incorporação das normas de biossegurança ao seu trabalho diário delineadas no "**Manual de Segurança de Laboratório**".

Deve-se designar um encarregado ou uma comissão de segurança cujas atribuições incluem a redação, publicação e implementação das normas e instruções de segurança. Dentre os regulamentos de segurança inclui-se medidas de proteção pessoal; manuseio de equipamentos, amostras e materiais; e outras precauções. Os funcionários devem ser informados destas normas e instruções através de cursos e treinamentos regularmente programados. Cabe também ao encarregado/comissão de segurança juntamente com os administradores/supervisores dos hospitais e laboratórios de ajustar e corrigir falhas ou irregularidades de conduta.

### **CONTROLE DE QUALIDADE**

Para o programa básico de controle de qualidade em microbiologia, deve-se incluir, além de uma lista de itens específicos, o senso comum, o bom julgamento e uma constante atenção aos detalhes. Para o controle de qualidade deve-se estabelecer o padrão mínimo e delinear as diversas etapas que devem ser seguidas para o controle diário e vigilância de todas as facetas do programa.

As diretrizes para o controle de qualidade devem constar em um manual, no qual estejam detalhadas práticas tais como procedimentos para monitorar o funcionamento dos equipamentos, o controle da reatividade dos meios e reagentes, os prazos de validade, os resultados de todos os testes, etc. Devem ser elaborados formulários adequados para coletar dados, de modo que qualquer anormalidade possa ser facilmente detectada. O encarregado também deve revisar todos os registros de controle e verificar que sejam anotadas todas as incidências fora do controle e as respectivas ações corretivas tomadas.

Os laboratórios devem também dispor de uma lista de inspeção para realizar avaliações pontuais dos controles de qualidade – um requerimento para credenciamento de laboratórios e/ou auditoria e fiscalização sanitária.

### **Procedimento Operacional Padrão (POP)**

Para melhoria na qualidade dentro do laboratório recomenda-se a elaboração de POPs, ou seja, protocolos que descrevem detalhadamente cada atividade realizada no laboratório, desde a coleta até a emissão do resultado final, incluindo utilização de equipamentos, procedimentos técnicos e inclusive cuidados de biossegurança e condutas a serem adotadas em acidentes.

Os POPs têm como objetivo padronizar todas as ações para que diferentes técnicos possam compreender e executar, da mesma maneira, uma determinada tarefa, garantindo assim qualidade. Esses protocolos devem estar escritos de forma clara e completa possibilitando a compreensão e adesão de todos.

Os POPs devem estar disponíveis em local de acesso e conhecido de todos os profissionais que atuam no ambiente laboratorial, revisados e atualizados periodicamente e devem ser assinados pelo responsável do laboratório.

### **3. CLASSIFICAÇÃO DOS LABORATÓRIOS SEGUNDO O NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA**

---

CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança) é responsável pela maioria das atribuições relativas ao estabelecimento de normas, análise de risco, acompanhamento, emissão de certificados de qualidade em biossegurança (CQB) para o desenvolvimento de atividades em laboratório nessa área, definição do nível de biossegurança e classificação dos OGM (organismos geneticamente modificados). Também caberá à comissão emitir parecer técnico prévio conclusivo sobre a biossegurança desses organismos e seus derivados nas atividades de pesquisa e uso comercial.

As características físicas estruturais e de contenção de um laboratório determinam o tipo de microrganismo que pode ser manipulado em suas dependências.

#### **NÍVEL 1 DE BIOSSEGURANÇA (NB-1) OU PROTEÇÃO BÁSICA (P1)**

As práticas, o equipamento de segurança e o projeto das instalações são apropriados para o treinamento educacional secundário ou para o treinamento de técnicos, e de professores de técnicas laboratoriais. É adequado ao trabalho que envolva agente com o menor grau de risco para o pessoal do laboratório e para o meio ambiente. O *Bacillus subtilis*, o *Naegleria gruberi*, o vírus da hepatite canina infecciosa e organismos livres sob as Diretrizes do NIH (National Institute of Health) de DNA Recombinantes são exemplos de microorganismos que preenchem todos estes requisitos descritos acima. Muitos agentes que geralmente não estão associados a processos patológicos em homens são, entretanto, patógenos oportunos e que podem causar uma infecção em jovens, idosos e indivíduos imunossupressivos ou imunodeprimidos. As cepas de vacina que tenham passado por múltiplas passagens in vivo não deverão ser consideradas não virulentas simplesmente por serem cepas de vacinas.

O laboratório, neste caso, não está separado das demais dependências do edifício. O trabalho é conduzido, em geral, em bancada. Os equipamentos de contenção específicos não são exigidos. O pessoal de laboratório deverá ter treinamento específico nos procedimentos realizados no laboratório e deverão ser supervisionados por cientista com treinamento em microbiologia ou ciência correlata.

#### **NÍVEL 2 DE BIOSSEGURANÇA (NB-2) OU (P2)**

As práticas, os equipamentos, a planta e a construção das instalações são aplicáveis aos laboratórios clínicos, de diagnóstico, laboratórios escolas e outros laboratórios onde o trabalho é realizado com um maior espectro de agentes nativos de risco moderado presentes na comunidade e que estejam associados a uma patologia humana de gravidade variável. Com boas técnicas de microbiologia, esses agentes podem ser usados de maneira segura em atividades conduzidas sobre uma bancada aberta, uma vez que o potencial para a produção de borrifos e aerossóis é baixo. O vírus da hepatite B, o HIV, a salmonela e o *Toxoplasma* spp. são exemplos de microorganismos designados para este nível de contenção. O Nível de Biossegurança 2 é adequado para qualquer trabalho que envolva sangue humano, líquidos corporais, tecidos ou linhas de células humanas primárias onde a presença de um agente infeccioso pode ser desconhecido.

- (1) O pessoal de laboratório deve ter treinamento técnico específico no manejo de agentes patogênicos e devem ser supervisionados por cientistas componentes;
- (2) O acesso ao laboratório deve ser limitado durante os procedimentos operacionais;
- (3) Determinados procedimentos nos quais exista possibilidade de formação de aerossóis infecciosos, devem ser conduzidos em cabines de segurança biológica ou outro equipamento de contenção física.

#### **NÍVEL 3 DE BIOSSEGURANÇA (NB-3) OU (P3)**

É aplicável para laboratórios clínicos, de diagnóstico, ensino e pesquisa ou de produção onde o trabalho com agentes exóticos possa causar doenças sérias ou potencialmente fatais como resultado de exposição por inalação. A equipe laboratorial deve possuir treinamento específico no manejo de

agentes patogênicos e potencialmente letais devendo ser supervisionados por competentes cientistas que possuam vasta experiência com estes agentes.

Todos os procedimentos que envolverem a manipulação de material infeccioso devem ser conduzidos dentro de cabines de segurança biológica ou outro sistema de contenção física. Os manipuladores devem usar roupas de proteção individual.

O laboratório deverá ter instalações compatíveis para o NB-3. Para alguns casos, quando não existirem as condições específicas para o NB-3, particularmente em instalações laboratoriais sem área de acesso específica, com ambientes selados ou fluxo de ar unidirecional, as atividades de rotina e operações repetitivas podem ser realizadas em laboratório com instalações NB-2, desde que acrescidas das práticas recomendadas para NB-3 e do uso de equipamentos de contenção para NB-3. Cabe ao Pesquisador Principal a decisão de implementar essas modificações, comunicando-as a CIBio e CTNBio.

## NÍVEL 4 DE BIOSSEGURANÇA (NB-4) OU (P4)

As práticas, o equipamento de segurança, o planejamento e construção das dependências são aplicáveis para laboratórios clínicos, de diagnósticos, laboratório escola, de pesquisa ou de produções. Nestes locais, realiza-se o trabalho com agentes nativos ou exóticos que possuam um potencial de transmissão via respiratória e que podem causar infecções sérias e potencialmente fatais. O *Mycobacterium tuberculosis*, o vírus da encefalite de St. Louis e a *Coxiella burnetii* são exemplos de microorganismos determinados para este nível. Os riscos primários causados aos trabalhadores que lidam com estes agentes incluem a auto-inoculação, a ingestão e a exposição aos aerossóis infecciosos.

São poucos laboratórios no mundo que possuem instalações compatíveis com nível 4 de biossegurança.

## CLASSIFICAÇÃO DO ORGANISMO SEGUNDO SEU POTENCIAL PATOGÊNICO

<b>Classe de Risco 1</b>	(baixo risco individual e baixo risco para a comunidade) - organismo que não causa doença ao homem ou animal. Ex: microrganismos usados na produção de cerveja, vinho, pão e queijo. ( <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Penicillium camembertii</i> , <i>S. cerevisiae</i> , etc).
<b>Classe de Risco 2</b>	(risco individual moderado e risco limitado para a comunidade) - patógeno que causa doença ao homem ou aos animais, mas que não consiste em sério risco, a quem o manipula em condições de contenção, à comunidade, aos seres vivos e ao meio ambiente. As exposições laboratoriais podem causar infecção, mas a existência de medidas eficazes de tratamento e prevenção limita o risco. Exemplo: <b>bactérias</b> - <i>Clostridium tetani</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> ; <b>vírus</b> - EBV, herpes; fungos - <i>Candida albicans</i> ; <b>parasitas</b> - <i>Plasmodium</i> , <i>Schistosoma</i>
<b>Classe de Risco 3</b>	(elevado risco individual e risco limitado para a comunidade) - patógeno que geralmente causa doenças graves ao homem ou aos animais e pode representar um sério risco a quem o manipula. Pode representar um risco se disseminado na comunidade, mas usualmente existem medidas de tratamento e de prevenção. Exemplos: <b>bactérias</b> - <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Brucella</i> , <i>Chlamydia psittaci</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ; <b>vírus</b> - hepatites B e C, HTLV 1 e 2, HIV, febre amarela, dengue; <b>fungos</b> - <i>Blastomyces dermatitidis</i> , <i>Histoplasma</i> ; <b>parasitas</b> - <i>Echinococcus</i> , <i>Leishmania</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Trypanosoma cruzi</i>
<b>Classe de Risco 4</b>	(elevado risco individual e elevado risco para a comunidade) - patógeno que representa grande ameaça para o ser humano e para aos animais, representando grande risco a quem o manipula e tendo grande poder de transmissibilidade de um indivíduo a outro. Normalmente não existem medidas preventivas e de tratamento para esses agentes. Exemplos: Vírus de febres hemorrágicas, Febre de Lassa, Machupo, Ébola, arnavírus e certos arbovírus.

## CLASSIFICAÇÃO DOS ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS

Os OGMs são classificados em Grupo I e Grupo II, conforme o Anexo I da Lei 8.974/95. A classificação dos OGMs em Grupo I ou Grupo II considera os riscos associados à classe de risco e às características do organismo receptor ou parental.

### OGM DO GRUPO I

#### Receptor ou parental

- não patogênico.
- isento de agentes adventícios.
- com amplo histórico documentado de utilização segura, ou com a incorporação de barreiras biológicas que, sem interferir no crescimento ótimo em reator ou fermentador, permita uma sobrevivência e multiplicação limitadas, sem efeitos negativos para o meio ambiente.

#### Vetor/Insero

- deve ser adequadamente caracterizado quanto a todos os aspectos, destacando-se aqueles que possam representar riscos ao homem e ao meio ambiente, e desprovido de seqüências nocivas conhecidas.
- deve ser de tamanho limitado, no que for possível, às seqüências genéticas necessárias para realizar a função projetada.
- não deve incrementar a estabilidade do organismo modificado no meio ambiente.
- deve ser escassamente mobilizável.
- não deve transmitir nenhum marcador de resistência a organismos que, de acordo com os conhecimentos disponíveis, não o adquira de forma natural.

#### Microorganismos geneticamente modificados

- não-patogênicos.
- que ofereçam a mesma segurança que o organismo receptor ou parental no reator ou fermentador, mas com sobrevivência e/ou multiplicação limitadas, sem efeitos negativos para o meio ambiente.

#### Outros microorganismos geneticamente modificados que poderiam incluir-se no Grupo I, desde que reúnam as condições estipuladas no item anterior

- microrganismos construídos inteiramente a partir de um único receptor procariótico (incluindo plasmídeos e vírus endógenos) ou de um único receptor eucariótico (incluindo cloroplastos, mitocôndrias e plasmídeos, mas excluindo os vírus).
- organismos compostos inteiramente por seqüências genéticas de diferentes espécies que troquem tais seqüências mediante processos fisiológicos conhecidos.

### OGM DO GRUPO II

Todos aqueles não incluídos no grupo II, ou seja, qualquer organismo resultante de organismo receptor ou parental classificado como patogênico para o homem e animais como classe de risco 2, 3, ou 4.

**Nota: Os laboratórios clínicos e de diagnósticos são geralmente classificados como Nível 2 ou 3 de Biossegurança.**

## 4. LABORATÓRIOS NB-1, NB-2 E NB-3

---

### DESIGN E INFRA-ESTRUTURA LABORATORIAIS

- Espaço suficiente deve ser projetado de modo a permitir a execução dos procedimentos laboratoriais de forma organizada e segura, e acesso fácil para limpeza e descontaminação.
- Paredes, tetos, pavimentos e bancadas devem ser duráveis, lisas, facilmente laváveis, impermeáveis a líquidos, resistentes ao calor moderado e aos produtos químicos e desinfetantes normalmente utilizados no laboratório; o piso deve ser antiderrapante e a exposição de tubulações deve ser evitada, quando possível.
- Nos laboratórios **NB-3**, aberturas, para manutenção de encanamentos, existentes nas paredes, tetos e pavimentos devem ser selados para facilitar a descontaminação. Dutos e espaços entre portas e esquadrias também devem permitir o selamento para facilitar a descontaminação.
- A iluminação deve ser adequada para todas as atividades.
- Espaço para o armazenamento de insumos e suprimentos deve ser adequado para uso imediato, evitando assim o aglomeramento nas bancadas e áreas de circulação; espaço adicional para estoque de insumos e suprimentos laboratoriais deve ser projetado em locais fora das áreas de trabalho.
- Locais específicos para o armazenamento e o manuseio seguro de solventes, materiais radioativos e gases comprimidos e liquefeitos devem ser proporcionados.
- Pertences pessoais dos trabalhadores devem ser mantidos em locais fora das instalações do laboratório. Os laboratórios **NB-3** devem dispor de sala para a troca de roupas.
- Cada laboratório deve possuir uma pia para lavagem das mãos, preferencialmente próxima à saída. Recomendamos a construção de pias que funcionem automaticamente ou que sejam acionadas com o pé ou com o joelho.
- As portas devem ter abertura para fora, serem corta-fogo, dotadas com visores de vidro e que se fechem automaticamente. É exigido um sistema de portas com trancas em dependências que abriguem agentes restritos. Para os laboratórios **NB-3** as portas devem ser duplas e que disponham de um sistema de intertravamento; um dispositivo para saída de emergência deve ser instalado.
- Uma autoclave deve estar disponível no interior ou próximo ao laboratório.
- Os sistemas de segurança devem atender emergências elétricas e de incêndio, e os locais que se encontram o chuveiro e lavador de olho.
- As áreas de primeiro-socorro devem estar adequadamente equipadas e de fácil acesso.
- Recomenda-se um sistema de ventilação mecânica que ofereçam uma circulação interna do ar sem recirculação; ou janelas que abrem e providas de telas de proteção contra insetos.

#### Para NB-3:

- O sistema de ventilação deve ser construído para permitir descontaminação de gases e que mantenha um fluxo de ar unidirecional adequado para o laboratório; o ar circulado no laboratório não deve ser reciclado para outras áreas do estabelecimento. No entanto, o ar pode ser filtrado com filtros HEPA, e então recondicionado e recirculado no próprio do laboratório. O ar de exaustão do laboratório (exceto das cabines de segurança) pode ser descartado para fora das instalações; recomenda-se que o descarte através de filtros HEPA.
- O ar exaurido das cabines de segurança biológica deve ser retirado diretamente para fora do ambiente de trabalho através do sistema de exaustão do edifício. Estas deverão estar conectadas de maneira que evitem qualquer interferência no equilíbrio do ar das cabines ou do sistema de exaustão do edifício. Quando as cabines de segurança biológica Classe III forem utilizadas, estas deverão estar conectadas diretamente ao sistema de exaustores.
- Centrífugas de fluxo contínuo ou outros equipamentos que possam produzir aerossóis deverão ser refrigeradas através de dispositivos que liberem o ar através de filtros HEPA antes de serem descarregados do laboratório. Esses sistemas HEPA deverão ser testados anualmente. Uma outra alternativa seria jogar o ar de saída das cabines para fora, em locais distantes de áreas ocupadas ou das entradas de ar.

- As linhas de vácuo deverão ser protegidas por sifões contendo desinfetantes líquidos e filtros HEPA, ou o equivalente. Os filtros deverão ser substituídos quando necessário. Uma alternativa é usar uma bomba a vácuo portátil (também adequadamente protegida com sifões e filtros).
- As janelas devem ser fechadas, lacradas e resistentes a danos físicos.
- Deve haver suprimento de boa qualidade de gás, eletricidade assim como de luz de emergência; o gerador é aconselhável para os equipamentos essenciais como estufas, cabine de segurança biológica, refrigeradores, etc. A manutenção regular e eficiente desses serviços é obrigatória.
- A água de torneira, não é própria para uso no Laboratório Clínico; deve ser providenciado um sistema adequado de suprimento de água purificada a fim de evitar interferências nos testes ou ensaios.
- Segurança contra incêndios e atos de vandalismo deve ser considerado; portanto portas e janelas apropriadas e chaves de uso restrito são fundamentais.
- Considere a construção de novos laboratórios longe de áreas públicas.
- Laboratórios **NB-3** devem estar localizados isoladamente de áreas que são abertas ao tráfego interno irrestrito; deve ser projetado de modo a impedir a entrada de insetos e outros organismos indesejáveis.
- O projeto da instalação e os procedimentos operacionais do **NB-3** devem ser documentados. Os parâmetros operacionais e das instalações deverão ser verificados quanto ao funcionamento ideal antes que o estabelecimento inicie suas atividades. As instalações deverão ser verificadas pelo menos uma vez ao ano.

## ACCESSO

- Para **NB-1**, o acesso ao laboratório deve ser limitado ou restrito de acordo com a definição do chefe de laboratório, quando estiver sendo realizado experimento ou trabalhos com amostras e culturas; além dessas exigências, nos laboratórios **NB-2 e NB-3**, o chefe de laboratório tem a responsabilidade de limitar o acesso; cabe ao mesmo avaliar cada situação e autorizar quem poderá entrar ou trabalhar no laboratório.
- Menores de idade não devem ser autorizadas ou permitidas dentro do laboratório.
- As pessoas que apresentarem um risco maior de contaminação ou que possam ter sérias conseqüências caso sejam contaminadas, não devem ser permitidas dentro dos laboratórios **NB-2 e NB-3** ou na sala de animais.
- **NB-2 e NB-3**: as portas devem ser mantidas fechadas e adequadamente identificadas: o símbolo de "Risco Biológico" deverá ser colocado na entrada do laboratório onde agentes etiológicos estiverem sendo utilizados. Este sinal de alerta deverá conter informações como o(s) nome(s) o(s) agente(s) manipulado(s), o nível de biossegurança, as imunizações necessárias, o nome e número do telefone do pesquisador, o tipo de equipamento de proteção individual que deverá ser usado no laboratório e os procedimentos necessários para entrar e sair do laboratório.
- É proibida a admissão de plantas e animais que não estejam relacionados ao trabalho em execução no laboratório.
- Nos laboratórios **NB-3** nenhum indivíduo deve trabalhar sozinho; no mínimo duas pessoas devem estar nas instalações do laboratório.

## EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS LABORATORIAIS

O chefe de laboratório deve assegurar que os equipamentos e acessórios apropriados estejam disponíveis e que sejam utilizados adequadamente. Os equipamentos devem ser selecionados baseados nas seguintes premissas:

- Projetado para evitar ou limitar o contato do operador e o material infectante.
- Desenvolvido com materiais impermeáveis a líquidos, resistentes à corrosão e que atendem aos requerimentos estruturais.
- projetado e instalado para facilitar a operação, manutenção, limpeza e descontaminação; vidraria e outros produtos quebráveis devem ser evitados sempre que possível.

- Especificações devem ser consultadas para se certificar que o equipamento e/ou acessório possui os dispositivos de segurança.

### EQUIPAMENTOS ESSENCIAIS DE SEGURANÇA

- Pipetas automáticas, bulbos de borracha ou outros disponíveis; é impróprio e arriscado pipetar com a boca.
- Cabines de segurança biológica para os laboratórios **NB-2** e **NB-3** (vide descrição)
- Alças de plástico descartáveis.
- Tubos e frascos com rosca.
- Autoclaves

Obs.: Equipamentos como autoclaves e cabines de segurança biológica devem ser certificadas; a calibração deve ser efetuada regularmente de acordo com as instruções do fabricante.

### EQUIPAMENTOS DE CONTENÇÃO EXIGIDOS

Para os laboratórios **NB-1** não são exigidos equipamentos de contenção de agentes classificados no Grupo de Risco 1.

Para os laboratórios **NB-2**, devem ser utilizadas **Cabines de Segurança Biológica Classe I ou II**, conforme a classificação, ou outro dispositivo de contenção pessoal ou de contenção física sempre que:

- Sejam realizados procedimentos com elevado potencial de criação de aerossóis, como centrifugação, trituração, homogeneização, agitação vigorosa, ruptura por sonicação, abertura de recipientes contendo material onde a pressão interna possa ser diferente da pressão ambiental, inoculação intranasal em animais e em cultura de tecidos infectados.
- Altas concentrações ou grandes volumes de organismos contendo DNA/RNA recombinante. Tais materiais só poderão ser centrifugados fora de cabines de segurança se forem utilizadas centrífugas de segurança e frascos lacrados. Estes só deverão ser abertos no interior da cabine de segurança biológica.

As cabines devem ser instaladas, de forma que a variação da entrada e saída de ar da sala, não provoque alteração nos padrões de contenção de seu funcionamento. As cabines de segurança biológica devem estar localizadas longe de portas, janelas que possam ser abertas, áreas laboratoriais muito cheias e que possuam outros equipamentos potencialmente dilaceradores, de forma que sejam mantidos os parâmetros de fluxo de ar nestas cabines de segurança biológica.

Para os laboratórios **NB-3**, devem ser utilizadas **Cabines de Segurança Biológica Classe I, II ou III** conforme a classificação, ou outra combinação apropriada de dispositivos de proteção pessoal e contenção física sempre que:

- Houver manipulação de culturas e de material clínico ou ambiental, operações de desafio de animais, cultivo de tecidos ou fluidos infectados de animais em experimentação ou ovos embrionados, e necropsia de animais em experimentação. Cabine de segurança biológica classe III deve ser utilizada no caso de procedimentos de alto risco envolvendo microrganismo classificado na classe 3.

Estas cabines deverão estar localizadas distantes de passagens, portas, venezianas, almoxarifado sistemas de ventilação e áreas do laboratório que possuam um grande movimento.

#### **Cabine de segurança biológica classe I**

É uma modificação da cabine usada no laboratório químico. É uma cabine ventilada com fluxo de ar do ambiente, podendo ter a frente totalmente aberta ou com painel frontal ou painel frontal fechado com luvas de borracha. Possui duto de exaustão com filtro HEPA. Não há proteção para o experimento somente para o operador e o ambiente. Dentro da cabine são colocadas lâmpadas U.V. É recomendada para trabalho com agentes de risco biológico dos grupos 1, 2 e 3.

#### **Cabine de segurança biológica classe II**

A cabine classe II é conhecida com o nome de Cabine de Segurança Biológica de Fluxo Laminar de Ar. O Princípio fundamental é a proteção do operador, do meio ambiente e do experimento ou produto. Possui uma abertura frontal que permite o acesso a superfície de trabalho. Altura de segurança da

abertura do painel frontal é de 20 cm, podendo ter um alarme que previne contra a abertura excessiva do painel. Possui filtro HEPA.

### **Cabine de segurança biológica classe II A**

Fluxo laminar de AR vertical com tiro frontal de ar de 75 pés/min. O ar contaminado após filtragem pelo filtro HEPA do exaustor passa ao ambiente onde a cabine está instalada (a cabine deve ter pelo menos 20 cm de afastamento do teto). Não se deve usar este tipo de cabine com substâncias tóxicas, explosivas, inflamáveis ou radioativas pela elevada percentagem de recirculação do ar (recircula 70 %). É recomendada para trabalho com agentes de risco biológico das classes 1 e 2.

### **Cabine de segurança biológica classe II B1**

Esta cabine possui filtro. O ar que entra na cabine atravessa o filtro HEPA abaixo da área de trabalho, 30 % do ar recirculam enquanto que 70% saem através do filtro exaustor. O tiro de ar no seu interior é de 100 pés/min. Usada para agentes biológicos tratados com mínimas quantidades de produtos químicos tóxicos e traços de radionucleotídeos. É recomendada para o trabalho com agentes de risco biológico das classes 1, 2 e 3.

### **Cabine de segurança biológica classe II B2**

É uma cabine de total esgotamento de ar. O ar entra pelo topo da cabine atravessa o pré-filtro e o filtro HEPA sobre a área de trabalho. O tiro frontal de ar no seu interior é de 100 pés/min. O ar filtrado, atravessa somente uma vez a área de trabalho. O esgotamento do ar deve ser realizado através do filtro HEPA conduzindo-o, por um duto, para o exterior. Pode ser usado para agentes biológicos tratados com produtos químicos e radionucleotídeos. É recomendada para trabalho com agentes de risco biológico das classes 1, 2 e 3.

### **Cabine de segurança biológica classe II B3**

É igual a Cabine de Segurança Biológica Classe II. A velocidade de fluxo de ar no seu interior é de 75 a 100 pés/min. O ar é esgotado totalmente através de um filtro HEPA por um duto para o exterior. É recomendada para o trabalho com agentes de risco biológico das classes 1, 2 e 3.

### **Cabine de segurança biológica classe III**

É uma cabine de contenção máxima. É totalmente fechada com ventilação própria, construída em aço inox à prova de escape de ar e opera com pressão negativa. O trabalho se efetua com luvas de borracha presas à cabine. Para purificar o ar contaminado são instalados 2 filtros HEPA em série ou um filtro HEPA e um incinerador. A introdução e retirada de materiais se efetuam por meio de autoclaves de porta dupla ou comporta de ar de porta dupla, recipiente de imersão com desinfetante. Pode conter todos os serviços como: refrigeradores, estufas, freezers, centrífugas, banho-maria, microscópio e sistema de manuseio de animais. NÃO PODE CONTER GÁS. Os dejetos líquidos são recolhidos em um depósito para serem descontaminados antes de serem lançados ao sistema de esgoto. Máxima proteção ao pessoal, meio ambiente e produto. É recomendada para o trabalho com agentes de risco biológico da classe 4 e material de pesquisa de DNA de alto risco.

## **GESTÃO DE SEGURANÇA**

- O chefe de laboratório deve estabelecer políticas e procedimentos com ampla informação a todos que trabalhem no laboratório sobre o potencial de risco relacionado ao trabalho, bem como sobre os requisitos específicos para entrada e saída do laboratório e das salas onde ocorra manipulação de animais.
- Caberá ao diretor o responsável imediato do laboratório assegurar que antes que o trabalho com os organismos designados para o **NB-3** se inicie, toda a equipe do laboratório demonstre estar apto para as práticas e técnicas padrão de microbiologia e demonstrar habilidade também nas práticas e operações específicas do laboratório. Podendo estar incluído uma experiência anterior em manipulação de patógenos humanos ou culturas de células, ou um treinamento específico proporcionado por peritos em técnicas microbiológicas seguras.
- O responsável imediato pelo laboratório deve assegurar o desenvolvimento e implementação de um plano de gestão de segurança assim como um manual de operação; os procedimentos devem ser preparados de acordo com as especificidades das atividades realizadas e incorporados aos

*procedimentos operacionais padrões* (POP) ou a um manual de biossegurança específico do laboratório.

- O chefe de laboratório (subordinado ao diretor ou ao responsável imediato) deve assegurar o treinamento regular em segurança em laboratório.
- Todo o pessoal deve ser orientado para a necessidade de ler seguir as especificações de cada rotina de trabalho, procedimentos de biossegurança e práticas estabelecidas no Manual.
- Uma cópia do manual deve estar disponível e acessível no laboratório
- Quando necessário, deve ser providenciado um programa rotineiro de controle de insetos e roedores.
- Uma falha na contenção de organismos patogênicos pode ser resultado de acidentes causados por produtos químicos, radiação, incêndio e por mal funcionamento do sistema elétrico. Portanto é de extrema importância que se mantenha uma segurança de alto padrão nessas áreas em qualquer laboratório de microbiologia.
- O desenvolvimento, implementação e treinamento de um plano de emergência é necessário nos laboratórios **NB-2** e **NB-3**.

## **SAÚDE OCUPACIONAL**

O administrador e/ou diretor juntamente com o chefe de laboratório é responsável em assegurar a implementação de um programa de controle médico de saúde ocupacional. As seguintes medidas são recomendadas:

- avaliação médica e subsequente tratamento; todos os registros médicos devem ser registrados.
- Imunização ou exame quanto aos agentes manipulados ou potencialmente presentes no laboratório (por exemplo, vacina contra a hepatite B ou teste cutâneo para a tuberculose).
- Exclusão de indivíduos altamente susceptíveis (P.ex. grávidas) de áreas de trabalho com alto risco biológico.
- O uso de equipamentos e acessórios de proteção pessoal assim como a adesão aos procedimentos recomendados.

### **NB-1**

Embora os microrganismos de classe 1 não sejam patogênicos, o trabalhador deve fazer um exame médico e seu histórico médico deve ser registrado. Doenças ou acidentes laboratoriais devem ser registrados e todos os trabalhadores devem ser informados e conscientes da importância das boas práticas no laboratório de microbiologia.

### **NB-2**

- Avaliação médica antes da contratação do trabalhador é necessária; o histórico médico deve ser registrado.
- Amostras referência de soro do pessoal do laboratório ou de outras pessoas possivelmente expostas ao risco, inclusive pessoal de limpeza e de manutenção devem ser coletada; amostras adicionais devem ser obtidas periodicamente dependendo do agente manipulado e das atividades exercidas nas das instalações laboratoriais.
- Registros de doenças e ausências devem ser mantidos pela gerência do laboratório; é de responsabilidade do trabalhador informar o chefe de laboratório de todas as ausências resultantes de problemas de saúde.
- Mulheres devem tomar conhecimento do risco que existe para o feto da exposição ocupacional a certos microrganismos como, por exemplo, o vírus da rubéola.

### **NB-3**

Além das exigências citadas no NB-2:

- Indivíduos que são imunocomprometidos não devem ser contratados para trabalhar nas instalações do laboratório.

- Após uma avaliação clínica satisfatória, deve-se providenciar para o trabalhador uma notificação com a foto do mesmo e que descreva que este é um funcionário de um laboratório de nível 3 de biossegurança. A notificação pode incluir informações para contato, inclusive do chefe ou diretor do laboratório, médico ou encarregado da biossegurança do laboratório.
- Deve-se realizar anualmente radiografia de tórax para os funcionários que se dedicam à rotina de tuberculose (seguir as orientações do Programa Nacional de Controle de Infecção Hospitalar)
- Os trabalhadores devem ser apropriadamente imunizados ou examinados quanto aos agentes manipulados ou potencialmente presentes no laboratório (por exemplo, vacina para hepatite B ou teste cutâneo para tuberculose); exames periódicos são recomendados.

## ÁREAS DE TRABALHO

- O laboratório deve ser mantido limpo, arrumado e livre de materiais que não são pertinentes ao trabalho.
- As superfícies das bancadas devem ser desinfetadas no final do trabalho ou ao fim do dia ou sempre que ocorrer derramamento ou borrifada de material potencialmente perigoso.
- Todos os materiais, espécimes e culturas devem ser desinfetados antes do descarte ou da lavagem para a reutilização.
- É proibido comer, beber, fumar e aplicar cosméticos nas áreas de trabalho; alimentos devem ser guardados em áreas específicas para este fim, fora do laboratório.
- Avisos como “não comer”, “não beber” e “não fumar” devem ser expostos claramente nas instalações do laboratório.

## PROTEÇÃO PESSOAL

- No interior do laboratório, os freqüentadores devem utilizar roupas apropriadas como aventais, gorros, máscaras etc. Antes de sair do laboratório para áreas externas (biblioteca, cantina, escritório administrativo), a roupa protetora deve ser retirada e deixada no laboratório e guardados em locais diferentemente do vestuário pessoal.
- **Avental** para proteção deve ser usado abotoados durante os procedimentos de rotina; deve ser de mangas longas e, se possível, de tecido sanfonado (tipo avental cirúrgico). **NB-3:** as roupas de proteção devem incluir aventais com uma frente inteira ou macacão, gorros e proteção pés quando apropriado; antes de ser lavada a roupa deverá ser descontaminada e deverá ser trocada depois de contaminada.
- **As máscaras cirúrgicas e protetores oculares (óculos com proteção lateral)** são obrigatórios para evitar a exposição das mucosas da boca e dos olhos e impedir o risco de inalação nos procedimentos que possam produzir aerossóis ou causar borrifamento de sangue; também devem ser usados no manuseio de material biológico e diante de fontes de radiação de ultravioleta artificial.
- **NB-3:** quando apropriado, **equipamentos respiratórios** devem ser utilizados em salas que contenham animais infectados
- Devem ser usadas **luvas** quando houver um contato direto com materiais e superfícies potencialmente infecciosas ou equipamentos contaminados. O mais adequado é usar dois pares de luvas. Essas luvas devem ser desprezadas quando estiverem contaminadas, quando o trabalho com materiais infecciosos for concluído ou quando a integridade da luva estiver comprometida. Luvas descartáveis não poderão ser lavadas, reutilizadas ou usadas para tocar superfícies “limpas” (teclado, telefones, etc.), e não devem ser usadas fora do laboratório. Alternativas como luvas de látex com talco deverão estar disponíveis.
  1. **Luva plástica** – descartável, deve ser desprezada após cada uso. Indicações: para proteção exclusiva do usuário em situações como colheita de sangue, recebimento ou entrega de material biológico, etc.
  2. **Luva doméstica** – que pode ser antiderrapante; não descartável. Seu uso é indicado para lavagem e desinfecção de materiais e superfícies. Após o uso, lavar as mãos enluvadas com água e sabão e descontaminar as luvas em solução de hipoclorito a 0,5%, por 30 a 60 minutos.

3. **Luva cirúrgica (látex)** – de preferência descartável, mas pode ser reprocessada, embora com restrições. Indicada para uso em técnicas assépticas (para proteção do paciente e do usuário), tais como cateterização vesical, exames endoscópicos, punção para obtenção de líquor, líquido articular, líquido pleural, etc.
- **Lavar as mãos frequentemente:** Fazendo-se ou não do uso de luvas, lavar as mãos sempre que houver mudança de atividade, após a manipulação de materiais infecciosos, após a remoção das luvas, antes de saírem do laboratório e antes de comer, beber e mesmo fumar. A lavagem deve envolver mãos e antebraços, usando-se água e sabão líquido. Friccionar com álcool a 70% contendo 1% a 2% de glicerina. Outra opção é o uso de solução degermante à base de iodeto de polivinilpirrolidona (PVP-I) a 10%. Usar de preferência toalhas descartáveis.
  - Não comer e beber no local de trabalho, assim como não armazenar bebidas e comidas nas instalações do laboratório.
  - Não fumar, pois há um aumento do risco de contaminação com microrganismos potencialmente patogênicos ou com produtos químicos; risco de incêndio e inconveniência com relação aos colegas de trabalho.
  - Prender os cabelos; evitar o uso de anéis, pulseiras e o uso de roupa social de mangas compridas.
  - Não passar cosméticos nas instalações do laboratório.
  - Não manusear lentes de contato e quando utilizados, proteger com óculos de segurança. As lentes de contato absorvem certos solventes e podem ser perigosas em casos de respingo e derramamentos.
  - Não usar calçados abertos no laboratório como sandálias, chinelos.

## SEGURANÇA NOS PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

- Culturas, tecidos e amostras de fluídos corpóreos ou dejetos potencialmente infecciosos devem ser colocados em um recipiente com uma tampa que evite o vazamento durante a coleta, o manuseio, o processamento, o armazenamento, o transporte ou o embarque.
- Nos laboratórios **NB-2** e **NB-3**, todas as manipulações abertas que envolvam materiais infecciosos deverão ser conduzidas no interior das cabines de segurança biológica ou de outros dispositivos de contenção física.
- Pipetagem com a boca deve ser proibido.
- Nenhum tipo de material deve ser levado à boca; etiquetas ou rótulos não devem ser lambidos.
- Material descartável (seringas, agulhas, luvas, toalhas, etc.) deve ser utilizado sempre que possível.
- Todo procedimento técnico deve ser executado minimizando a formação de aerossóis; sempre que houver uma probabilidade de formação de aerossol, o trabalho deve ser conduzido na cabine de segurança.

## VIDRARIAS, SERINGAS E AGULHAS

- Todos os vidros que contenham reagentes devem ser rotulados e datados.
- O uso de agulhas e seringas deve ser limitado e elas não devem ser utilizadas como pipetadores ou qualquer outro propósito que não seja de injeção parenteral ou aspiração de fluídos de animais de laboratório e de garrafas de diafragmas.
- Extrema precaução deve ser tomada quando forem manuseadas agulhas e seringas de modo a evitar a auto-inoculação e a produção de aerossóis durante o uso e o descarte.
- Devem ser usadas somente seringas com agulha fixa ou agulha e seringa em uma unidade única descartável usada para injeção ou aspiração de materiais infecciosos. As seringas que possuem um envoltório para a agulha, ou sistemas sem agulha e outros dispositivos de segurança deverão ser utilizados quando necessários.
- Vidros quebrados não devem ser manipulados diretamente com a mão, devem ser removidos através de meios mecânicos como uma vassoura e uma pá de lixo, pinças ou fórceps. Os recipientes que contêm agulhas, equipamentos cortantes e vidros quebrados contaminados deverão passar por um processo de descontaminação antes de serem desprezados, de acordo com os regulamentos locais, estaduais ou federais.

## **MANUSEIO DE AMOSTRAS**

- As amostras devem ser colhidas em recipientes resistentes, com vedação adequada para evitar derramamento e perdas. Todas as mostras devem ser consideradas potencialmente perigosas.
- Usar luvas descartáveis sempre que o trabalho envolver contato com material biológico.
- Se for evidenciada ruptura, escoamento ou mancha no recipiente com a amostra, transferir a maior quantidade possível da amostra para outro recipiente esterilizado e propriamente identificado.

## **BOAS PRÁTICAS PARA CENTRIFUGAÇÃO**

- Antes de centrifugar qualquer material, os tubos, frascos ou garrafas devem ser verificados quanto à presença de rachaduras. Os amortecedores de borracha no fundo dos rotores devem ser trocados com periodicidade e qualquer fragmento de vidro que possa estar presente deve ser removido.
- Assegurar que a centrífuga esteja perfeitamente equilibrada antes do uso. Os anéis dos rotores e os suportes dos tubos para assegurar o equilíbrio de pesos devem ser verificados.
- Esperar que a centrifugação cesse por completo antes de abrir a tampa para remover o material.
- Em caso de derramamento e/ou quebra de um tubo dentro da centrífuga, o interior da centrífuga deve ser desinfetado por completo.
- Recomenda-se a desinfecção da centrífuga a cada dia de uso.

## **BOAS PRÁTICAS PARA DNA/RNA RECOMBINANTE**

- Quando organismos contendo moléculas de DNA/RNA recombinantes estiverem sendo manipulados são exigidos requisitos especiais para a entrada de pessoal no laboratório (por exemplo, vacinação). Deve ser colocado um aviso sinalizando o risco, identificando o agente e o nome do chefe de laboratório, endereço completo e diferentes possibilidades de sua localização ou outra pessoa responsável. Todos os requisitos necessários para a entrada no laboratório devem estar assinalados na porta de entrada.
- Cuidados especiais devem ser tomados para impedir contaminação da pele com organismos contendo moléculas de DNA/RNA recombinantes; devem ser usadas luvas no manejo de animais em experimentação e sempre que houver possibilidade de contato da pele com o OGM.
- Devem ser usadas somente seringas com agulha fixa ou agulha e seringa em uma unidade única nas atividades de injeção ou aspiração de fluídos contendo moléculas de DNA/RNA recombinantes.
- Derramamentos ou acidentes que resultem em exposição a organismo contendo moléculas de DNA/RNA recombinante devem ser imediatamente notificados à CIBio e à CTNBio, com providências de avaliação médica, vigilância e tratamento, sendo mantido registro dos acidentes e das providências adotadas.

## **SEGURANÇA ELÉTRICA**

- Todos os trabalhadores devem conhecer a localização dos interruptores principais e de circuitos. Nenhum instrumento deve ser reparado enquanto o mesmo estiver conectado à tomada.
- As saídas não devem ser sobrecarregadas; nunca utilizar tomadas de tipo múltiplo.
- Todos os equipamentos devem ser providos de fio terra
- Todas as descargas, incluindo os pequenos zumbidos, devem ser imediatamente investigadas
- Os fios de extensão devem ser utilizados apenas em concordância com conjunto de políticas e procedimentos gerais do estabelecimento.

## **MANUSEIO DE PRODUTOS QUÍMICOS**

- Os armários e vasilhas de segurança para armazenamento devem estar localizados em áreas distantes das saídas e de fonte de calor, chamas e faíscas. A área de depósito deve ser ventilada e seu acesso limitado.

- Todos os recipientes devem estar claramente rotulados com indicação de: conteúdo, aviso de perigo, precauções especiais, data de recebimento e preparação, data de abertura para uso, data de vencimento, fabricante

## DESCONTAMINAÇÃO E DESCARTE DE RESÍDUOS

- Todos os resíduos do laboratório e do biotério deverão ser descontaminados antes de serem descartados através de um método de descontaminação aprovado como, por exemplo, esterilização por calor úmido (autoclave). Os materiais que forem ser descontaminados fora do próprio laboratório deverão ser colocados em recipientes inquebráveis, à prova de vazamentos e hermeticamente fechados para serem transportados ao local desejado.
- Os materiais para a descontaminação na autoclave devem ser colocados em recipientes ou sacos plásticos apropriados e autoclaváveis.
- Um sistema de separação e identificação do material infeccioso e seus respectivos recipientes são recomendados:
  - **Não contaminado (não infeccioso)** – resíduo que pode ser reciclado, reutilizado ou descartado como lixo doméstico.
  - **Contaminado perfurocortante (infeccioso)** – resíduo como agulhas, seringas, lancetas e outros assemelhados devem ser descartados em recipientes estanques, rígidos, com tampa, e identificados com símbolo e expressão de resíduo infectante. As agulhas não devem ser entortadas, quebradas, recapeadas ou removidas da seringa após o uso. Agulhas e seringas devem ser imediatamente colocadas em recipientes resistentes à prova de perfurações, localizados convenientemente, e descontaminadas na autoclave antes do descarte. As seringas não podem ser esvaziadas para reaproveitamento; as seringas descartáveis, utilizadas com ou sem agulha devem ser depositadas nos recipientes e autoclavadas antes do descarte.
  - **Contaminado para descontaminação e reutilização** – recipientes, preferencialmente plásticos, com desinfetantes preparados diariamente, devem ser colocados em todas as áreas de trabalho. O material a ser reutilizado ou reciclado deve permanecer em contato com o desinfetante o tempo que for necessário, segundo as instruções do fabricante do produto. Após a desinfecção, o desinfetante e o material deve ser adequadamente descontaminado na autoclave. Em seguida, o desinfetante deve ser descartado e o material então lavado para a reutilização. Em nenhuma circunstância o material contaminado deve ser submetido a uma pré-lavagem.
  - **Contaminado para descarte** – resíduo deve ser descontaminado na autoclave em recipientes resistentes a vazamento antes do descarte. Após autoclavagem, este deve ser colocado em recipiente próprio para transporte, também resistente a vazamento e danos físicos, e vedado apropriadamente.
  - **Contaminado para incineração** – resíduo para descarte na incineração. A incineração de resíduo biológico deve seguir as normas estabelecidas pelas autoridades locais.

## DESINFETANTES E QUÍMICOS

- O manual de segurança deve incluir quais e as finalidades dos desinfetantes a serem utilizados e as instruções de diluição recomendadas para cada desinfetante. O fabricante deve providenciar todas especificações relevantes. Hipoclorito de sódio e desinfetantes fenólicos são os mais recomendados para fins laboratoriais.
- Para casos especiais, álcool, iodo e outros oxidantes podem ser efetivos desde que comprovado que o agente a ser destruído não seja resistente ao procedimento.
- Microonda, ultravioleta e radiação ionizante não são apropriadas.

## RESÍDUOS QUÍMICOS TÓXICOS

- Usar luvas de borracha, avental de borracha e óculos de proteção.
- O resíduo deve ser armazenado no local onde é gerado, em ambiente específico e arejado, acondicionado em saco plástico branco, dentro de suas próprias embalagens primárias. Para o caso da inexistência de suas embalagens, devem-se utilizar frascos de até dois litros, resistentes, com tampa rosqueada, vedante e identificado com o nome e fórmula do produto químico, símbolo e expressão de resíduo químico tóxico.

- O descarte de solventes orgânicos solúveis em água com volumes < 500 ml e de orgânicos insolúveis em água com volumes < 100 ml pode ser na pia:
  - Retirar todos os objetos da pia designada especialmente para descarte.
  - Deixar escorrer, sem respingos, uma corrente de água fria dentro da pia.
  - Verter lentamente o líquido, o mais próximo possível do ralo, sem produzir respingos.
  - Manter a corrente de água fria por vários minutos após a eliminação do líquido.
- Dependendo do volume gerado e o tempo de acondicionamento para o tratamento ou disposição final, o laboratório deve também possuir local específico para o abrigo de resíduos, fora da unidade geradora e fora da edificação do estabelecimento.

## **MEDIDAS RELATIVAS À ACIDENTE E DERRAMAMENTO**

- Adotar manuais de primeiros socorros, acompanhados de treinamento e orientação verbal, sempre que necessário.
- Manter os equipamentos de segurança em lugar visível, de fácil acesso e à imediata disposição do acidentado. Os equipamentos são:
  1. um chuveiro de emergência, com grande fluxo de água
  2. um lavador de olhos
  3. Kit de primeiro socorros
  4. extintores de incêndio, vistoriados regularmente
  5. mantas contra fogo
- Respingos, derramamento e acidentes resultantes de uma exposição de produtos químicos e materiais infecciosos aos organismos deverão ser imediatamente notificados ao diretor do laboratório. A avaliação médica, a vigilância e o tratamento deverão ser providenciados e registros do acidente e das providências adotadas deverão ser mantidos por escrito.

## **DERRAMAMENTO DE PRODUTO BIOLÓGICO**

- Vazamentos de materiais infecciosos deverão ser descontaminados, contidos e limpos pela equipe de profissionais especializados ou por outras pessoas adequadamente treinadas e equipadas para trabalharem com material infeccioso concentrado. Os procedimentos para remoção do vazamento deverão ser desenvolvidos.
- Em caso de exposição percutânea, recomenda-se lavagem exaustiva com água e sabão ou solução anti-séptica de degermante (PVP Iodo ou clorexidina). Após a exposição em mucosa, está recomendada a lavagem exaustiva com água ou solução fisiológica. A indicação do uso de anti-retrovirais deve ser baseada em uma avaliação criteriosa do risco de transmissão do HIV em função do tipo de acidente ocorrido e da toxicidade dessas medicações.
- De acordo com o *Manual de Condutas em Exposição Ocupacional ao Material Biológico* do Ministério da Saúde, após a exposição ao material biológico, cuidados locais com a área exposta devem ser imediatamente iniciados.

## **DERRAMAMENTO DE PRODUTO QUÍMICO LÍQUIDO**

- Confinar o líquido derramado em área pequena o quanto possível.
- Neutralizar os ácidos com carbonato de sódio.
- Neutralizar as bases com ácido bórico a 1%.
- Para grandes quantidades de ácidos ou bases, lavar a área com jato forte e abundante de água após a neutralização.
- Em derramamento de líquidos tóxicos e inflamáveis, utilizar um absorvente para reduzir a pressão de vapor e evitar possível combustão do líquido.

## 5. PRECAUÇÕES QUANTO À CONTAMINAÇÃO

---

### CUIDADOS RELATIVOS AOS RISCOS DE CONTAMINAÇÃO BIOLÓGICA

O Laboratório de Microbiologia recebe diariamente grande número de amostras de fluidos corporais e outros espécimes clínicos que são potencialmente infecciosos. Os agentes infecciosos mais perigosos, no que diz respeito ao risco de contaminação, são os vírus da hepatite e HIV, bacilos da tuberculose, salmonelas, fungos, protozoários, etc.

É difícil quantificar o risco no trabalho em laboratórios, com relação aos agentes infecciosos. Tem-se por base, porém, que o risco individual aumenta com a frequência e com os níveis de contato com o agente infeccioso. O primeiro cuidado a ser tomado no laboratório que trabalha com espécimes clínicos é com o risco de exposição à infecção.

Por outro lado, deve-se considerar que os riscos são influenciados por uma relação variável entre o agente infectante, o hospedeiro e a atividade desempenhada. Fatores aplicáveis ao agente incluem a virulência, a carga infectante, o ciclo e a toxigenicidade. Algumas das principais variáveis que influem o risco do hospedeiro são: idade, sexo, raça, gravidez, uso de antimicrobianos, imunidade (vacinação prévia), e o uso de drogas imunossupressoras.

Finalmente, a natureza da atividade laboratorial (por exemplo: diagnóstico, produção, pesquisa) pode afetar significativamente o risco pessoal devido ao tipo, quantidade e concentração dos agentes empregados, a manipulação dos agentes e a eficácia primária e secundária dos equipamentos de proteção e práticas de laboratório.

Deve-se ter conhecimento das principais vias de transmissão para a adoção de cuidados especiais. Exemplo: a hepatite A tem um período de incubação de 15-35 dias; a urina e as fezes contêm vírus e a infecção geralmente ocorre pela ingestão de alimentos e bebidas contaminadas. No que se refere à hepatite B, cujo período de incubação é de 40-120 dias, o sangue é a principal fonte de infecção e os acidentes, com perfurocortantes, a via mais importante de aquisição entre profissionais de saúde.

Como o laboratório não pode dispor de informações detalhadas de cada paciente, é ainda importante tratar **todas as amostras como sendo potencialmente infecciosas**.

Existem várias portas de entrada de microrganismos, mas, no laboratório, a via respiratória tem maior importância. Três fatores principais contribuem para isto: a facilidade com que partículas pequenas são produzidas por técnicas comuns de laboratório, o fato de muitas destas partículas serem suficientemente pequenas, não capturadas no trato respiratório superior, e a habilidade que a maioria dos patógenos tem de invadir o pulmão.

### PRODUÇÃO DE AEROSSÓIS

O uso incorreto de equipamento de laboratório como pipetas, alças de inoculação, agulhas, seringas, centrífugas e homogeneizadores, pode produzir grandes quantidades de aerossóis potencialmente infectantes.

Exemplos de procedimentos que produzem aerossóis:

- destampar frascos que foram fechados com tampa de pressão.
- esvaziar seringas, eliminar o ar das seringas.
- quebrar frascos que contenham cultura de microrganismos.
- centrifugar tubos ou frascos sem tampa adequada.

Quando houver risco de contaminação por aerossóis, recomenda-se o emprego de cabines de segurança biológica (fluxo laminar), juntamente com o uso de luvas, máscaras e óculos de proteção. Nestas condições, manusear frascos e seringas envolvendo-os com gaze ou algodão, embebidos em álcool a 70% ou hipoclorito a 0,5%.

### PIPETAGEM DE MATERIAL CLÍNICO

É contra-indicada a pipetagem, com a boca, de material clínico (sangue, liquor, urina, etc.) ou de suspensões bacterianas. Deve-se utilizar, sempre que possível, pipetas automáticas ou bulbos de borracha.

### FLAMBAGEM DE ALÇA BACTERIOLÓGICA

A flambagem da alça bacteriológica durante a manipulação do material biológico ou na transferência de massa bacteriana (raspado de colônias) deve ser feita através de chama, que deve estar entre o manipulador e a alça. Recomenda-se esgotar a alça num frasco contendo álcool a 95% e areia. Quando se trabalha com *Mycobacterium tuberculosis* é recomendável o emprego de fenol a 0,5% ou hipoclorito a 0,5% e areia, flambando-se a alça em seguida..

### DISSEMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS

Ao se trabalhar com fungos, particularmente os filamentosos, recomenda-se o uso de cabines biológicas apenas com proteção de vidro ou acrílico, sem fluxo de ar.

### CUIDADOS RELATIVOS AOS RISCOS DE CONTAMINAÇÃO QUÍMICA

O laboratorista está diariamente em contato com produtos químicos potencialmente perigosos, cujos efeitos geralmente se apresentam logo após eventuais acidentes, que podem ocorrer por:

- **contato direto:** com a pele (quebra de recipiente, derramamento de líquidos, etc.); com a boca (durante a pipetagem); com o esôfago e o estômago (ingestão acidental);
- **inalação** de vapores e pós finos, com conseqüentes danos pulmonares; absorção (efeitos tóxicos no nível da medula óssea, dos rins e do fígado).

Não se deve pipetar diretamente com a boca produto químico irritante ou tóxico, deve-se fazer uso de buretas ou pró-pipetas de borracha.

### PRODUTOS QUÍMICOS CORROSIVOS

- Utilizar material descartável (seringas, agulhas, luvas, toalhas, etc.).
- Manter no laboratório somente o suficiente para o uso. O restante deve ser armazenado em outras salas.
- Transferir materiais de estoque para o laboratório, com bastante cuidado.
- Manter os recipientes de uso em prateleiras localizadas da altura dos olhos para baixo, evitando-se riscos de queda e derramamento.
- Nas diluições, nunca se deve juntar água ao ácido concentrado. Sempre adicionar o ácido à água sob resfriamento, de preferência.
- Evitar a respiração junto de vapores de ácidos e evitar contato destes com a pele e com os olhos.
- Não pipetar diretamente com a boca.

### PRODUTOS QUÍMICOS TÓXICOS

- Venenos, como cianetos e barbitúricos, devem ser mantidos trancados em armários.
- Solventes orgânicos (benzeno, tetracloreto de carbono e outros hidrocarbonetos halogenados): técnicas que usam estes solventes devem ser feitas em salas separadas e bem ventiladas ou em cabines de exaustão.
  1. Clorofórmio: não inflamável, porém não se deve permitir que seus vapores entrem em contato com fogo ou metais aquecidos, para evitar a formação do gás fosfogênio, que é tóxico.
  2. Éter e acetona: altamente inflamáveis. A conservação implica a aplicação das normas de segurança quanto ao risco de explosão.
- Gases tóxicos:
  1. Monóxido de carbono: concentrações até 1% no ar são perigosas se respiradas por uma hora ou mais. Acima de 1% podem ser fatais.

2. Dióxido de carbono (gelo-seco): concentrações perigosas podem ser atingidas em salas mal ventiladas.

### PRODUTOS QUÍMICOS CARCINOGÊNICOS

Tem sido dispensada atenção cada vez maior a certas aminas aromáticas, compostos azo e nitrosos, entre os quais benidina e codianisidina, de uso corrente em laboratórios de análises clínicas. Entre as precauções se inclui mantê-los em recipientes bem fechados, rotulados como "carcinogênicos". Evitar contato com a pele.

### CLASSIFICAÇÃO DOS PRODUTOS QUÍMICOS

#### *Inflamáveis*

Classe	Ponto de Inflamabilidade	Ponto de ebulição	Exemplos
IA	4,4°C	18,3°C	Éter, acetaldeído
IB	22,7°C	37,7°C	Etanol, acetona, gasolina
IC	22,7°C	37,2°C	Álcool isopropílico, xileno

#### *Combustíveis*

Classe	Ponto de Inflamabilidade	Exemplos
II	37,7°C a 54,4°C	Etilenoglicol, ácido acético glacial
III	60°C	Anilina, glicerol, óleo mineral

## **6. CONTROLE DE QUALIDADE NO LABORATÓRIO**

---

### **INTRODUÇÃO**

Um dos procedimentos mais importantes para dirigir as atividades diárias de um laboratório de microbiologia é um manual atualizado de procedimentos ou procedimento operacional padrão (POP).

Todas as atividades e respectivos protocolos devem estar claramente delineados e colocados em local acessível do laboratório para a consulta regular pelos trabalhadores.

A forma como os procedimentos devem ser desenvolvidos e implementados deve ser determinada pelo responsável imediato do laboratório.

Seguem os principais itens que devem constar no manual de procedimento:

- Nome, endereço e telefone de todos os trabalhadores do laboratório.
- Lista de todos os planos de ação e regulamentos geral do laboratório.
- Lista da localização exata dos equipamentos, meio de culturas, reagentes, e outros suplementos, incluindo descrição completa das fórmulas e instruções para o uso e preparo.
- Descrição completa de todos os formulários, informes e arquivos utilizados no laboratório de microbiologia.
- Descrição detalhada de todas as técnicas e procedimentos efetuados no laboratório
- Lista de todos os esquemas de identificação utilizados para identificar e classificar os microrganismos.
- Nome, endereço, telefone, procedimentos e planos de ação de laboratórios de referência relacionados com o envio de amostras.
- Inclusão de todos os procedimentos de controle de qualidade com detalhes específicos quanto a frequência e modo como cada item deve ser realizado.
- Para inspeção do laboratório é exigido que o manual de procedimentos seja revisto e atualizado ao menos uma vez ao ano e que constem as iniciais do diretor ou chefe de laboratório em cada procedimento, indicando que a atualização foi efetuada.

### **OBJETIVO**

O laboratório clínico de microbiologia é responsável em providenciar informação precisa e relevante quanto ao diagnóstico do paciente. O valor e a precisão clínica das análises do material clínico e o respectivo isolamento do microrganismo são dependentes do programa de qualidade, que por sua vez, avalia a qualidade do material; documenta a validade do método aplicado; monitora a performance dos procedimentos, reagentes, meios, instrumentos e do indivíduo que executou a análise; e verifica os resultados do teste quanto aos erros e relevância clínica. Um programa de qualidade efetivo depende de um processo de avaliação contínuo e do seu aprimoramento.

### **ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA**

O desempenho dos exames de laboratório clínico é realizado através de ensaios de proficiência. Este programa consiste na avaliação de amostras por evento. Há um número estabelecido de eventos anuais de testes em cada área de atividade: bacteriologia, micologia, parasitologia e virologia. As amostras de proficiência devem ser analisadas pelos trabalhadores que habitualmente realizam as análises em questão, de acordo com os procedimentos de rotina e juntamente com as amostras de pacientes.

O laboratório que não atender os requisitos dos ensaios de proficiência deve documentar a fonte do problema, revisar o programa em vigor e tomar medidas corretivas.

### **PARÂMETROS DO CONTROLE DE QUALIDADE**

<b>Parâmetros</b>	<b>Diretrizes</b>
<b>Coleta e transporte de amostra</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Descreve as instruções de coleta e transporte</li> <li>- Estabelece o critério de aceitação e rejeição das amostras</li> </ul>
<b>Performance dos equipamentos e instrumentos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Documenta a verificação do funcionamento do equipamento e uso freqüente que assegura o funcionamento apropriado</li> <li>- documenta a manutenção regular</li> <li>- documenta os registros de manutenção do equipamento</li> </ul>
<b>Meios de cultura prontos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mantém o protocolo de controle de qualidade do fabricante</li> <li>- Obtém a garantia por escrito quanto aos padrões de embalagem, rotulagem e protocolo</li> <li>- Inspecciona as condições dos meios, placas de petri, hemólises, excesso de bolhas, contaminação, volume, temperatura</li> <li>- Documenta as falhas e as medidas corretivas, e informa o fabricante</li> <li>- Executa teste de CQ até a falha ser corrigida</li> </ul>
<b>Meios de cultura preparado no laboratório</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Registra a quantidade, o número do lote, método de esterilização, a data de preparo, prazo de validade, pH e nome do preparador</li> <li>- Avalia quanto a coloração, consistência, inclinação, hemólise, excesso de bolhas e contaminação</li> <li>- Executa o teste de CQ com os microrganismos de propriedades fisiológicas e bioquímicas conhecidas</li> </ul>
<b>Reagentes e suplementos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rotula os frascos quanto ao conteúdo, concentração, requerimentos para estoque, data de fabricação e de recebimento, prazo de validade número do lote, volume</li> <li>- Armazena de acordo com as recomendações do fabricante</li> <li>- Executa o teste de controle negativo e positivo antes do uso</li> <li>- Descarta aqueles que falharam na performance</li> </ul>
<b>Kits comerciais</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Testa cada lote novo ou em cada entrega</li> <li>- Segue as recomendações do fabricante para teste de CQ</li> </ul>
<b>Funcionários</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utiliza funcionários suficientemente qualificados para trabalho complexo e volumoso</li> <li>- Documenta as atividades de treinamento contínuo</li> <li>- Providencia aos funcionários por escrito padrões de performance</li> <li>- Avalia funcionários anualmente</li> </ul>
<b>Registro de CQ</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Registra todos os resultados em um formulário de CQ</li> <li>- Relata ao chefe e/ou responsável resultados "anormais" e as medidas de correção no formulário de CQ</li> <li>- Mantém os registros por pelo menos dois anos</li> </ul>
<b>Manual de Procedimento</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Define os procedimentos, limites de tolerância, aceitação da amostra, preparo do reagente, CQ, cálculos e laudos</li> <li>- Revisa anualmente</li> <li>- Aprova e data todas as mudanças</li> <li>- Torna disponível na área de trabalho</li> </ul>

## **CONTROLE DE QUALIDADE DE EQUIPAMENTOS**

Em todos os laboratórios de microbiologia deve ser estabelecido um programa de manutenção preventiva para assegurar o funcionamento apropriado de todos os equipamentos elétricos ou mecânicos.

- Os equipamentos devem ser controlados em intervalos de tempo pré-estabelecidos.

- As peças devem ser trocadas após um período específico de uso, mesmo que não pareçam alteradas.
- A manutenção pode ser executada tanto pelo fabricante como pelo setor de serviços de engenharia do laboratório, quando existente.
- Os trabalhadores do laboratório devem realizar todos os controles e registrar conforme instruídos em impressos ou manual de manutenção; isto permite a detecção imediata de desvios e portanto a adoção de medidas corretivas apropriadas antes que comprometam os resultados.
- As temperaturas dos equipamentos devem ser medidas diariamente com termômetros calibrados.
- Qualquer leitura que resulte em valores fora dos limites de tolerância definidos pelo controle de qualidade, deve-se determinar a causa e corrigir o problema.

### Procedimentos para o controle de qualidade de alguns equipamentos

Equipamento	Procedimento	Intervalo	Limites de Tolerância
Refrigeradores	Registro de temperatura *	Diário ou contínuo	2°C a 8°C
Congeladores	Registro de temperatura *	Diário ou contínuo	-8°C a -20°C -60°C a -75°C
Estufas	Registro de temperatura *	Diário ou contínuo	35,5°C ± 1°C
Estufas CO <sub>2</sub>	Medida do conteúdo de CO <sub>2</sub> : - Usar analisador de gases sanguíneos ou dispositivo Fyrite <sup>1</sup>	Diário ou duas vezes ao dia	5 a 10%
Banhos	Registro de temperatura *	Diário	36°C a 38°C 55°C a 57°C
Aquecedores	Registro de temperatura *	Diário	± 1°C do estabelecido
Autoclaves	Teste com tiras de esporos ( <i>Bacillus stearothermophilus</i> )	Ao menos semanalmente	O não crescimento de esporos indica corrida estéril.
Medidor de pH	Testes com soluções para calibrar pH	A cada uso	± 0,1 unidade de pH do padrão em uso.
Jarras de anaerobiose	Tira indicadora com azul de metileno	A cada uso	A conversãp da tira de azul para branco indica baixa tensão de CO <sub>2</sub> .
Câmara anaeróbia com luvas	Cultivo de <i>Clostridium novyi</i> tipo B Solução indicadora de azul de metileno	Periódico	O crescimento indica baixa tensão de O <sub>2</sub> . Utilizada apenas quando é preciso uma tensão de O <sub>2</sub> extremamente baixa. A solução permanece incolor se a tensão de O <sub>2</sub> for baixa.
Rotador de sorologia	Contagem de rpm	A cada uso	180 rpm ± 10 rpm
Centrífugas	Controlar revoluções com tacômetro	Mensalmente	Dentro de 5% do estabelecido no indicador.
Cabines de segurança	Medir a velocidade do ar através da abertura para o rosto <sup>2</sup>	Semestral ou trimestralmente	Fluxo de 1,52m de fluxo de ar/minuto ± 0,152 m/minuto.

\* cada termômetro de controle deve ser calibrado contra um termômetro padrão.

<sup>1</sup>- Bacharach Instrument Co, Pittsburgh, PA.

<sup>2</sup>- Velometer Jr., Alnor Instrument Co., Chicago, IL.

## CONTROLE DE QUALIDADE DE MEIO DE CULTURA, REAGENTES E KITS COMERCIAIS

Embora é aceito por auditores, inspetores de laboratório os registros de qualidade documentados pelos fabricantes de meios de cultura, recomenda-se um controle de qualidade periódico desses produtos pelo laboratório.

Os microrganismos empregados para o controle de qualidade devem ser mantidos no laboratório por meio de subcultivos de isolados recuperados como parte do trabalho de rotina ou microrganismo de referência como os da ATCC.

### ALGUMAS RECOMENDAÇÕES

- Cada bateria de meios deve ser controlada com os quesitos mais exigentes para o crescimento ou para a produção de atividade bioquímica. A disponibilidade de cepas do laboratório pode ser necessária para suplementar aquelas comercialmente disponíveis.
- Cada tubo de cultura, placa de meio e reagente deve ter uma etiqueta que identifique claramente o conteúdo e as datas de preparo e vencimento.
- Cada bateria de tubos e placas deve ser também controlada quanto à esterilidade, principalmente aqueles nos quais são adicionados suplementos após a esterilização. As provas de esterilidade devem ser feitas visualmente e por meio de subcultivos. Determinados meios seletivos, por exemplo, podem suprimir o crescimento visível de bactérias, mas as células viáveis podem aparecer nos subcultivos.
- Os meios preparados devem ser visualmente avaliados para sinais de deterioração como descoloração, turvação, mudança de cor e desidratação.
- Os reagentes e testes usados para identificação de micobactéria devem ser verificados uma vez ao dia, quando utilizados, com uma espécie de micobactéria que resulte uma reação positiva. Para verificação de fixação de ferro, o teste deve ser monitorado para controle negativo e positivo.
- Os reagentes e testes utilizados para identificação de fungos devem ser examinados uma vez por semana, quando utilizados, para controle positivo. O reagente nitrato que determina sua assimilação é monitorado com peptona.
- Todos os discos para susceptibilidade antimicrobiana devem estar avaliados ao menos uma vez por semana com microrganismo padrão de qualidade, de sensibilidade conhecida como *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 25923), *S. fecalis* (ATCC 29212) e *P. Aeruginosa* (ATCC 27853).
- Os kits comerciais devem ser examinados a cada entrega e a cada lote, conforme as recomendações do fabricante.
- Os componentes de um kit não devem ser utilizados com um kit de lote diferente, a não ser quando especificado pelo fabricante.

**Atenção:** A frequência das provas de controle de qualidade dos produtos comerciais utilizados no laboratório deve ser determinado pelo chefe ou responsável imediato do laboratório, conforme as instruções dos respectivos fabricantes ou referências em literatura.

### Microrganismo-controle e reações para o controle de qualidade dos meios de cultura

Meio	Microrganismo	Reações
<b>Ágar Sangue</b>	<i>Streptococcus</i> do Grupo A <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Bom crescimento, beta-hemólise Bom crescimento, alfa-hemólise
<b>Ágar bile-esculina</b>	Espécies de <i>Enterococcus</i> <i>Streptococcus</i> alfa-hemolítico não do grupo D	Bom crescimento, cor negra Nenhum crescimento, sem coloração do meio
<b>Ágar chocolate</b>	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Bom crescimento Bom crescimento
<b>Ágar uréia de Christensen</b>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i>	Toda a superfície de cor rosa (positivo) Inclinação do meio rosa (positivo parcial) Cor amarela (negativo)

<b>Ágar citrato de Simmons</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i>	Crescimento ou cor azul (positivo) Sem crescimento, permanece verde (negativo)
<b>Ágar cistina-tripticase (ACT)</b>		
- Dextrose	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Branhamella catarrhalis</i>	Cor amarela (positivo) Não modifica a cor (negativo)
- Sacarose	<i>Escherichia coli</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cor amarela (positivo) Não modifica a cor (negativo)
- Maltose	Espécies de <i>Salmonella</i> ou <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cor amarela (positivo) Não modifica a cor (negativo)
- Lactose	<i>Neisseria lactamicus</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cor amarela (positivo) Não modifica a cor (negativo)
<b>Descarboxilases</b>		
- Lisina	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterobacter sakasaki</i>	Cor azulada (positivo) Cor amarela (negativo)
- Arginina	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Proteus mirabilis</i>	Cor azulada (positivo) Cor amarela (negativo)
- Ornitina	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cor azulada (positivo) Cor amarela (negativo)
<b>DNase</b>	<i>Serratia marcescens</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	Zona de clarificação (adicionar HCl 1 N) Sem zona de clarificação
<b>Ágar eosina azul-de-metileno</b>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Shigella flexneri</i>	Bom crescimento, brilho verde metálico Bom crescimento, púrpuras, sem brilho Bom crescimento, transparentes (lactose-negativas)
<b>Ágar de Hecktoen</b>	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Escherichia coli</i>	Verdes com centro negro Verdes transparentes Crescimento algo inibido, alaranjadas
<b>Indol</b>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cor vermelha (positivo) Ausência de cor vermelha (negativo)
<b>Ágar lisina-ferro</b>	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Proteus mirabilis</i>	Profundidade e inclinação púrpura + H <sub>2</sub> S Inclinação púrpura/profundidade amarela Inclinação vermelha/profundidade amarela
<b>Ágar MacConkey</b>	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i> Espécies de <i>Enterococcus</i>	Colônias vermelhas (lactose-positivas) Colônias incolores, sem disseminação Sem crescimento
<b>Malonato</b>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Sem crescimento Bom crescimento, cor azul (positivo)
<b>Motilidade</b>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Meio turvo (positivo) Sem borda plumosa em estria (negativo)
<b>Caldo ou ágar nitrato</b>	<i>Escherichia coli</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i>	Cor vermelha ao adicionar reativos Ausência de cor vermelha (negativo)
<b>Ágar sangue feniletíl álcool</b>	Espécies de <i>Streptococcus</i> <i>Escherichia coli</i>	Bom crescimento Sem crescimento
<b>o-Nitrofil-beta-D-galactopiranosídeo (ONPG)</b>	<i>Serratia marcescens</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	Cor amarela (positivo) Incolor (negativo)
<b>Fenilalanina desaminase</b>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Escherichia coli</i>	Cor verde (adicionar FeCl <sub>3</sub> a 10%) Ausência de cor verde (negativo)
<b>Ágar Salmonella-Shigella</b>	<i>Salmonella typhimurium</i>	Colônias incolores, centro negro

	<i>Escherichia coli</i>	Sem crescimento
<b>Voges-Proskauer</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i>	Cor vermelha (adicionar reativos) Não desenvolve cor (negativo)
<b>Ágar xilose-lisina-dextrose (XLD)</b>	Espécies de <i>Salmonella</i> <i>Escherichia coli</i> Espécies de <i>Shigella</i>	Colônias vermelhas (lisina-positivas) Colônias amarelas (positiva para açúcares) Colônia transparentes (negativo)

**Procedimentos adicionais quanto ao controle de qualidade estão especificadas nos dos módulos seguintes.**

## **CONTROLE DE QUALIDADE DE FUNCIONÁRIOS**

O controle de qualidade dos funcionários requer um programa de educação permanente efetivo. O treinamento deve ser prático e ser uma atividade regular. Os trabalhadores envolvidos com as atividades do laboratório devem ser estimulados a participar com freqüência em cursos, seminários e similares, tanto localmente quanto ao nível nacional.

Os resultados dos procedimentos devem ser conferidos pelo responsável designado quanto à exatidão, reprodutibilidade e concordância com os padrões de controle de qualidade.

Todos os trabalhadores envolvidos com atividades rotineiras do laboratório de microbiologia, inclusive os que exercem suas tarefas em turnos alternativos, devem ter acesso ao programa de ensaios de proficiência.

Reuniões regulares para informar os trabalhadores do laboratório quanto às mudanças e sugestões de melhorias nos procedimentos laboratoriais são recomendáveis.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. August, M.J., Hindler, J.A., Huber, T.W., Sewel, D.L. e Cumitech A. **Quality control and quality assurance practices in clinical microbiology**. Coord. Ed. A.S. Wessfeld, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1990.
2. Isenberg, H.D. **Clinical Microbiology Procedures Handbook**. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1992.
3. Ministério da Saúde. **Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia**. Fundação Nacional da Saúde, Brasília, 2001.
4. Ministério da Saúde. **Manual de Conduta - Exposição Ocupacional a Material Biológico: Hepatite e HIV**. Coordenação Nacional de DST e AIDS, Ministério da Saúde, Brasília, 1999.
5. Ministério da Saúde. **Manual de condutas em exposição ocupacional a material biológico**. Secretaria de Políticas de Saúde, Brasília, 1999.
6. Ministério da Saúde. **Manual de procedimentos básicos em microbiologia clínica para o controle da infecção hospitalar**. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde, Brasília, 1991.
7. Ministério da Saúde. **Manual de Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde**. 2ª Edição, Centro de Documentação Brasília, 1994.
8. World Health Organization. **Laboratory biosafety manual**. 2<sup>nd</sup>. Ed., WHO, Genebra, 2003.