

APRESENTAÇÃO

Este manual foi produzido tomando-se como premissa básica a normatização das atividades executadas no âmbito do Laboratório de Agentes Patogênicos do Departamento de Medicina e Enfermagem. Dessa maneira as informações contidas neste documento abrangem tanto as Normas e Rotinas Operacionais, quanto os Procedimentos Operacionais Padronizados – POP's adotados diariamente nas práticas laboratoriais.

A produção do modelo impresso iniciou-se em 2014, quando diversas normas e POP's foram elaborados pelo corpo técnico do laboratório. Sendo que nesse período pôde-se definir o "layout" do documento em relação a sua estrutura de informações e à competência técnica para execução do conjunto de atividades.

Inicialmente as normas e rotinas operacionais foram elaboradas tendo por objetivo definir regras mínimas de segurança e qualidade em relação às atividades laboratoriais, exigindo dessa forma o compromisso e disciplina por parte de todos os usuários. Do mesmo modo, os POP's foram criados com a finalidade de padronizar e minimizar a ocorrência de desvios na execução de procedimentos fundamentais, ou seja, a descrição das etapas de um determinado procedimento torna-se imprescindível para a obtenção de um mesmo resultado, ainda que as etapas tenham sido realizadas por diferentes profissionais.

Consequentemente a união dos itens, normas e rotinas operacionais e procedimentos operacionais padronizados, resultou em um instrumento significativo no auxílio à melhoria da qualidade do ensino no laboratório. Diante disso é compreensível estabelecer que para o devido cumprimento de sua função, este manual seja sistematicamente revisado a cada dois anos, buscando assim sanar a necessidade de atualização de suas informações técnicas.

Coordenação Geral

Andréia Patrícia Gomes

Coordenadora Técnica de Elaboração do Manual

Sandra de Oliveira Pereira

Coordenação Técnica de Revisão

Adriana Aparecida Bhering Fialho

Adriana Lopes Gouveia

Adriano Simões Barbosa Castro

Andréia Patrícia Gomes

Coordenador de aprovação

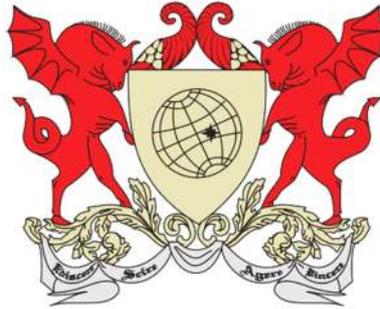
Adriano Simões Barbosa Castro

Projeto Gráfico

Rodrigo Batista Teixeira

SUMÁRIO

NORMAS E ROTINAS OPERACIONAIS	4
PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRONIZADOS – POP's	12
POP 001 - Higienização simples das mãos	14
POP 002 - Acesso ao laboratório de agentes patogênicos	17
POP 003 - Biossegurança em laboratório	19
POP 004 - Instruções de segurança no laboratório.....	22
POP 005 - Limpeza e organização do laboratório.....	25
POP 006 - Descarte de resíduos do laboratório.....	26
POP 007 - Preparo de solução alcoólica 70 inpm.....	28
POP 008 - Operação e limpeza do microscópio	30
POP 009 - Procedimentos em casos de acidentes com perfurocortantes.....	33
POP 010 - Limpeza das vidrarias e acessórios utilizados no laboratório	34
POP 011 - Limpeza dos equipamentos.....	36
POP 012 - Coloração de Gram	37
POP 013 - Exames de parasitologia	39
POP 014 - Coloração de Zihel-Neelsen	46



**Universidade Federal de Viçosa
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Departamento de Medicina e Enfermagem**

NORMAS E ROTINAS OPERACIONAIS

LABORATÓRIO DE AGENTES PATOGÊNICOS

Viçosa - MG
2014

SUMÁRIO

1. Apresentação.....	6
2. Objetivos	6
3. Áreas de conhecimento	6
4. Horário de funcionamento	6
5. Normas gerais para acesso e permanência no laboratório.....	7
6. Deveres e responsabilidades.....	8
6.1 Referentes ao coordenador do laboratório.....	8
6.2 Referentes ao corpo docente	8
6.3 Referentes ao corpo técnico	8
6.4 Referentes ao corpo discente	9
6.5 Referentes aos visitantes	9
7. Regras gerais de segurança	10

1. APRESENTAÇÃO

O Laboratório de Agentes Patogênicos integra o Departamento de Medicina e Enfermagem da Universidade Federal de Viçosa (DEM-UFV) e encontram-se localizado no 3º andar, sala

324. Possui uma área de aproximadamente 116 m².

Sua estrutura física é composta por uma sala ampla, onde são realizadas as aulas práticas, estando esta equipada com microscópios, autoclave, estufa de secagem e esterilização, destilador, refrigerador de vacinas, vidrarias diversas e demais materiais necessários à realização das atividades. Conta ainda com uma sala de apoio onde são realizadas as análises computacionais em saúde, sendo equipada com mesas, cadeiras, computadores e uma pequena biblioteca.

O laboratório tem como objetivo oferecer suporte às atividades de aulas práticas referentes às disciplinas oferecidas nos cursos de graduação em Medicina e Enfermagem, possibilitando aos discentes o exercício de conhecimentos teóricos de maneira prática através da observação de estruturas micro e macroscópicas, além de possibilitar a execução e vivência, através de procedimentos e técnicas, levando os discentes a desenvolver habilidades e competências inerentes à sua formação profissional.

2. OBJETIVOS

Apresentar aos docentes, discentes, técnicos e demais usuários do Laboratório de Agentes Patogênicos, as normas básicas para acesso e permanência no laboratório visando a realização de procedimentos de maneira segura, oferecendo assim, informações sobre o funcionamento dos laboratório, posturas a serem adotadas, deveres e responsabilidades de seus usuários, bem como sobre as normas gerais de segurança tendo em vista a biossegurança e a prevenção de acidentes.

3. ÁREAS DE CONHECIMENTO

Enfoque nas áreas de parasitologia, microbiologia e saúde pública.

4. HORÁRIO DE FUNCIONAMENTO

O laboratório funciona de segunda a sexta-feira, de 07:30h às 12:00h e das 14:00h às 18:00h, exceto em feriados e recessos dispostos no calendário acadêmico. Em casos excepcionais o horário de funcionamento poderá ser estendido até às 20:30h.

5. NORMAS GERAIS PARA ACESSO E PERMANÊNCIA NO LABORATÓRIO

- I. A permanência dos estudantes no laboratório de aulas práticas será apenas permitida mediante o uso de jaleco, calça comprida e sapato fechado. Cabelos compridos devem estar presos.
- II. Não é permitido assistir aula de chinelo, shorts, saia ou camiseta. Não usar anéis no laboratório, para evitar que sujidades se alojem sob eles. Os estudantes que não respeitarem essas normas não poderão assistir às aulas práticas;
- III. É de responsabilidade do laboratório o fornecimento de EPIs como: avental, luvas, óculos de proteção, toucas e máscaras descartáveis, sendo estes de uso exclusivo e pessoal.
- IV. A entrada dos acadêmicos ou de pessoas estranhas ao laboratório será permitida apenas com a autorização dos professores ou técnicos responsáveis.
- V. Durante as aulas, as portas devem ser mantidas fechadas;
- VI. As áreas de trabalho devem estar limpas e livres de obstruções;
- VII. Não deixar materiais estranhos ao trabalhar sobre as bancadas. Os objetos pessoais, como mochilas e casacos, devem ser colocados nos armários localizados na porta de entrada do laboratório ou em local distinto daquele onde se vai conduzir a prática;
- VIII. É proibido o uso de celular nas dependências do laboratório; IX. Não é permitido se alimentar dentro do laboratório;
- X. Matem tom de voz baixo dentro do laboratório e evitar aglomerações nos corredores;
- XI. Locomover-se o mínimo necessário para não tumultuar o ambiente, evitando assim o risco de acidentes com materiais químicos e biológicos;
- XII. Manter a postura adequada ao ambiente. Não sentar ou debruçar nas bancadas;
- XIII. Ler atentamente e seguir as instruções das normas e rotinas do laboratório, consultando o professor ou técnico responsável, em caso de dúvidas;
- XIV. Todos os Procedimentos Operacionais Padrão (POP's) da funcionalidade do laboratório e do uso e manutenção dos equipamentos, estão à disposição para consulta pelos acadêmicos e demais usuários.

6. DEVERES E RESPONSABILIDADES

6.1 Referentes ao Coordenador do Laboratório

- I. Planejar, acompanhar e avaliar as ações desenvolvidas no laboratório;
- II. Supervisionar o cumprimento das obrigações técnico-administrativas, visando à preservação do patrimônio público e o máximo aproveitamento do espaço para aulas previamente programadas e divulgadas;
- III. Realizar reuniões periódicas com os técnicos administrativos;
- IV. Estabelecer regulamento, normas e rotinas para o bom funcionamento do laboratório.

6.2 Referentes ao Corpo Docente

- I. Cumprir e fazer cumprir o regulamento, as normas e as rotinas pré-estabelecidas pela coordenação do laboratório sempre que utilizarem as dependências do mesmo;
- II. Agendar as atividades acadêmicas com o técnico do laboratório, respeitando a antecedência de no mínimo 48 horas, sendo que a prioridade do atendimento será para as aulas já programadas;
- III. Responsabilizar-se pela manutenção da ordem do ambiente, durante o uso das dependências do laboratório;
- IV. Responsabilizar-se pelos materiais, mobiliários e equipamentos sempre que estes forem utilizados para aulas e encontros acadêmico-científicos;
- V. Comunicar, por escrito, ao técnico do laboratório quaisquer irregularidades ou eventualidades durante o tempo em que estiver utilizando as dependências dos mesmos.

6.3 Referentes ao Corpo Técnico

- I. Cumprir e fazer cumprir o regulamento, as normas e as rotinas pré-estabelecidas pela coordenação do laboratório;
- II. Preparar previamente os materiais relacionados à atividade laboratorial;
- III. Acompanhar todas as atividades acadêmicas desenvolvidas no espaço do laboratório;
- IV. Orientar docentes, discentes e visitantes quanto às normas de entrada, de saída e de uso do laboratório;
- V. Zelar pela organização, limpeza das vidrarias, equipamentos e do laboratório, antes, durante e depois das atividades;

- VI. Solicitar manutenção dos equipamentos da área laboratorial, sempre que necessário;
- VII. Fiscalizar e controlar o uso materiais e reagentes químicos;
- VIII. Contribuir para a construção de planilhas de compra de material de consumo e permanente do laboratório;
- IX. Comunicar ao coordenador do laboratório quaisquer irregularidades que venham a ocorrer no laboratório;
- X. Proibir a entrada de pessoas estranhas no recinto do laboratório;
- XI. O técnico de laboratório devesa notificar acidentes à coordenação do laboratório.

6.4 Referentes ao Corpo Discente

- I. Cumprir e fazer cumprir pelos seus pares, o regulamento, as normas e as rotinas do laboratório;
- II. Manter a ordem e a limpeza na dependência do laboratório;
- III. Zelar e responsabilizar-se por todos os materiais, mobiliários e equipamentos disponíveis para o uso acadêmico-científico;
- IV. Comunicar diretamente ao professor, ou por escrito ao técnico do laboratório, quaisquer irregularidades ou eventualidades durante o tempo em que estiverem utilizando as dependências do laboratório;
- V. Cumprir a predeterminação de horários para uso do laboratório; VI. Manter silêncio adequado dentro e nas imediações do laboratório; VII. Agendar com o técnico do laboratório horário de monitoria;
- VIII. Apresentar autorização do professor da disciplina para realização de atividades pratica fora dos horários estabelecidos.

6.5 Referentes aos Visitantes

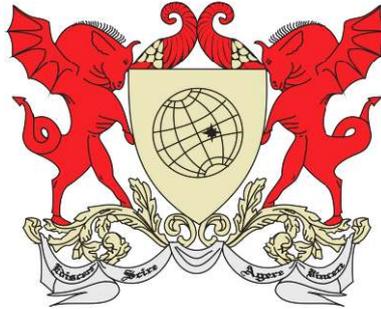
- I. Estar devidamente trajado, caso necessário usar EPIs;
- II. Não superlotar o laboratório, respeitando a capacidade máxima definida pelo coordenador.
- III. Se comportar de maneira adequada para evitar danos e/ou acidentes dentro do laboratório.
- IV. Comunicar ao responsável pelo laboratório a ocorrência de danos ou acidentes ocorridos dentro do laboratório.
- V. Não consumir alimentos ou bebidas, não fumar nem mascar chicletes.

- VI. Não aplicar cosméticos ou perfumes (maquiagem, cremes, ou outros), nem manusear lentes de contato.
- VII. Manter o devido silêncio nas dependências do laboratório.
- VIII. Manter a ordem e a organização do Laboratório.

7. REGRAS GERAIS DE SEGURANÇA

- I. Conhecer o Mapa de Riscos do laboratório;
- II. Conhecer a localização das saídas de emergência;
- III. Conhecer a localização e o funcionamento de extintores de incêndio, caixas de primeiros socorros, chuveiros e equipamentos de proteção;
- IV. Lavar as mãos com água e sabão, ao entrar e ao sair do laboratório para minimizar os riscos de contaminações pessoais e em outras áreas;
- V. Utilizar luvas sempre que necessário;
- VI. Sempre que o trabalho envolver o uso de material biológico ativo devem ser usadas máscaras durante sua manipulação;
- VII. Usar pinças para manusear material quente;
- VIII. Descartar materiais perfurocortantes em local apropriado;
- IX. Não se alimentar, beber ou fumar no laboratório;
- X. Não colocar quaisquer objetos ou materiais na boca, tais como caneta, etiquetas, papéis, óculos e outros;
- XI. Jamais pipetar com a boca, utilizar pipetadores automáticos ou pêras de borracha;
- XII. Não manipular reagentes sólidos com as mãos;
- XIII. Não colocar a mão na boca, nariz, olhos e rosto durante as atividades no laboratório;
- XIV. Proteger, sempre que for necessário, os olhos e o rosto, de respingos ou impactos, usando óculos de segurança, máscaras ou qualquer outro dispositivo de segurança;
- XV. Jamais cheirar placas de cultura ou recipientes contendo produtos químicos; XVI. Nunca umedecer rótulos com a língua, use água ou rótulos auto-adesivos; XVII. Remover quaisquer salpicos de reagentes da pele, utilizando água e sabão.
- XVIII. Em caso de exposição ao material biológico, aplicar solução anti-séptica adequada e comunicar ao docente, para que sejam tomadas as medidas necessárias;
- XIX. Caso haja derrame de qualquer material biológico, o técnico deve ser comunicado para que este execute os procedimentos adequados, de acordo com o POP específico;

- XX. Os acadêmicos que apresentem ferimentos ou cortes na pele não devem participar diretamente da prática;
- XXI. Todos recipientes que contenham produtos devem estar devidamente rotulados;
- XXII. Mesmo tomando os devidos cuidados, caso aconteça algum acidente, estarão disponíveis alguns equipamentos de proteção coletiva como lava-olhos e chuveiro, localizados no laboratório. Um extintor de pó químico, situado dentro do laboratório, pode ser utilizado em líquidos inflamáveis e equipamentos elétricos.



**Universidade Federal de Viçosa
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Departamento de Medicina e Enfermagem**

PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRONIZADOS – POP’ s

LABORATÓRIO DE AGENTES PATOGÊNICOS

Viçosa – MG
2014

SUMÁRIO

POP 001 - Higienização simples das mãos	3
POP 002 - Acesso ao laboratório de agentes patogênicos	
POP 003 - Biossegurança em laboratório.....	
POP 004 - Instruções de segurança no laboratório	
POP 005 - Limpeza e organização do laboratório	
POP 006 - Descarte de resíduos do laboratório	
POP 007 - Preparo de solução alcoólica 70 inpm.....	
POP 008 - Operação e limpeza do microscópio	
POP 009 - Procedimentos em casos de acidentes com perfurocortantes	
POP 010 - Limpeza das vidrarias e acessórios utilizados no laboratório	
POP 011 - Limpeza dos equipamentos	
POP 012 - Coloração de Gram.....	
POP 013 - Exames de parasitologia.....	
POP 014 - Coloração de Zihel-Neelsen.....	

SUMÁRIO

POP 001 - Higienização simples das mãos	14
POP 002 - Acesso ao laboratório de agentes patogênicos	17
POP 003 - Biossegurança em laboratório.....	19
POP 004 - Instruções de segurança no laboratório.....	22
POP 005 - Limpeza e organização do laboratório.....	25
POP 006 - Descarte de resíduos do laboratório.....	26
POP 007 - Preparo de solução alcoólica 70 inpm	28
POP 008 - Operação e limpeza do microscópio	30
POP 009 - Procedimentos em casos de acidentes com perfurocortantes.....	33
POP 010 - Limpeza das vidrarias e acessórios utilizados no laboratório	34
POP 011 - Limpeza dos equipamentos.....	36
POP 012 - Coloração de Gram	37
POP 013 - Exames de parasitologia	39
POP 014 - Coloração de Zihel-Neelsen	46



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: HIGIENIZAÇÃO SIMPLES DAS MÃOS

Laboratório: 06	POP nº: 001	Página: 1 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Remover as sujidades, suor, oleosidade, células descamativas e microbiota transitória.

Reduzir a microbiota residente.

Prevenir e reduzir as infecções causadas pelas transmissões cruzadas veiculadas ao contato.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. MATERIAL:

- ✓ Água;
- ✓ Sabão líquido;
- ✓ Papel toalha;
- ✓ Pia com torneira.

4. PROCEDIMENTO:

- 4.1. Abra a torneira e molhe as mãos, evitando encostar-se à pia.
- 4.2. Aplique na palma da mão quantidade suficiente de sabão líquido para cobrir toda a superfície das mãos (palma, dorso das mãos, espaço interdigital, polegares, articulações, unhas e punhos).
- 4.3. Ensaboe as palmas das mãos, friccionando-as entre si e esfregue a palma da mão direita contra o dorso da mão esquerda entrelaçando os dedos e vice-versa.
- 4.4. Entrelace os dedos e friccione os espaços interdigitais.
- 4.5. Esfregue o dorso dos dedos de uma mão com a palma da mão oposta, segurando os dedos, com movimento de vai-e-vem e vice-versa.
- 4.6. Esfregue o polegar direito, com o auxílio da palma da mão esquerda, utilizando-se movimento circular e vice-versa.
- 4.7. Friccione as polpas digitais e unhas da mão esquerda contra a palma da mão direita, fechada em concha, fazendo movimento circular e vice-versa.
- 4.8. Esfregue o punho esquerdo, com o auxílio da palma da mão direita, utilizando movimentos circulares e vice-versa.

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: HIGIENIZAÇÃO SIMPLES DAS MÃOS

Laboratório: 06

POP nº: 001

Página: 2 de 03

- 4.9. Enxágue as mãos e evite o contato direto das mãos ensaboadas com a torneira. Para isso, feche a torneira utilizando um papel absorvente, para que não haja contaminação das mãos recentemente lavadas e higienizadas.
- 4.10. Seque as mãos com papel-toalha descartável, iniciando pelas mãos e seguindo pelos punhos. Despreze o papel-toalha na lixeira para resíduos comuns.
- 4.11. Realize desinfecção com álcool 70%NPM, deixando-o secar nas mãos.

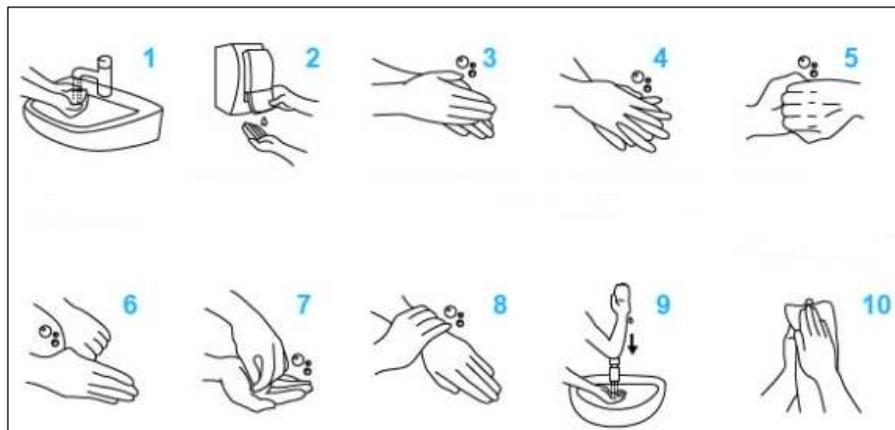
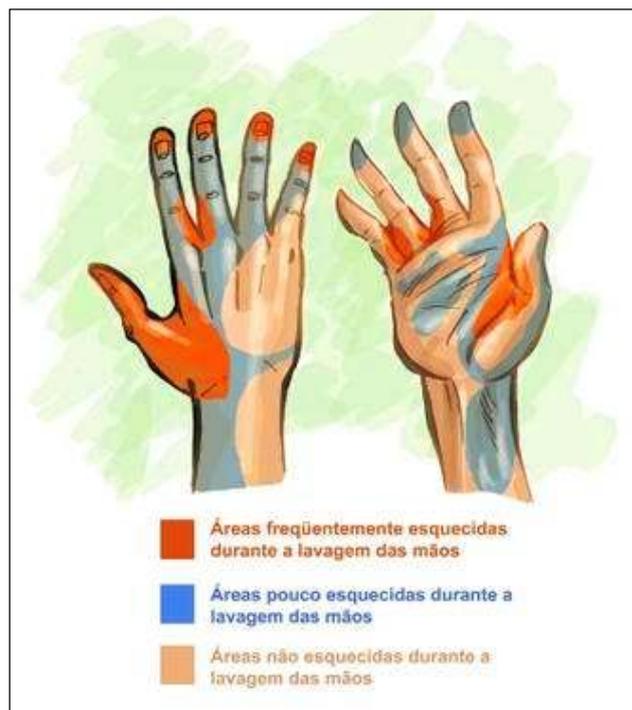


Figura 1 - Higienização das mãos

- 4.12. Fique atento aos locais de difícil limpeza, conforme desenho a seguir:



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: HIGIENIZAÇÃO SIMPLES DAS MÃOS

Laboratório: 06

POP nº: 001

Página: 3 de 03

Recomendações:

- ✓ Antes de iniciar a lavagem das mãos, é necessário retirar jóias (anéis, pulseiras, relógio).
- ✓ Para o fechamento de torneiras manuais, utilize papel toalha.

5. RESPONSABILIDADES:

- 5.1. Técnicos do laboratório:** Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.
- 5.2. Técnicos revisores deste procedimento:** Elaboração e revisão deste procedimento.
- 5.3. Responsáveis pelo laboratório:** Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

6. REFERÊNCIAS:

POTTER, P.A.; PERRY, A.G. **Fundamentos de enfermagem: conceitos, processo e prática.** 6ed. Rio de Janeiro. Guanabara, Koogan, 2006.



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: **ACESSO AO LABORATÓRIO DE AGENTES PATOGÊNICOS**

Laboratório: 06	POP nº: 002	Página: 1 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Normatizar o acesso de servidores, alunos, professores e visitantes ao Laboratório de Agentes Patogênicos do Departamento de Medicina e Enfermagem DEM-UFV.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1. Técnicos do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2. Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3. Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO:

4.1. Chegue ao setor devidamente limpo e vestido de acordo com as normas (calça comprida, calçado fechado, cabelos presos).

4.2. Paramente-se com Equipamentos de Proteção Individual de uso obrigatório nesta área (jaleco, luvas, máscara e óculos de proteção).

4.3. É proibida a entrada de pessoas de setores externos ao laboratório sem a devida paramentação.

4.4. É proibida a entrada no laboratório portando brincos longos, colares, pulseiras, relógios, anéis e outros adornos.

4.5. É proibido alimentar-se ou levar qualquer tipo de alimento para dentro do laboratório.

4.6. Somente entre na área técnica após estar paramentado e com crachá de identificação.

4.7. Ao sair do laboratório, retire os paramentos complementares obrigatórios e EPI's.

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: ACESSO AO LABORATÓRIO DE AGENTES PATOGÊNICOS

Laboratório: 06

POP nº: 002

Página: 2 de 02

4.8. Ao voltar para o laboratório repita novamente todo o procedimento descrito anteriormente.

4.9. Todos os servidores do laboratório devem estar com o cartão de vacinas completo (especialmente contra as seguintes doenças: Hepatite B, Tuberculose, vírus Influenza A).

5. REFERÊNCIAS:

ANVISA- Resolução RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005.



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: **BIOSSEGURANÇA EM LABORATÓRIO**

Laboratório: 06	POP nº: 003	Página: 1 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

As exposições laboratoriais podem causar acidentes, mas a existência de medidas eficazes de tratamento e prevenção limita os riscos. Por isso, focar a questão da Biossegurança torna-se uma questão importante.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1. Técnicos do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2. Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3. Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO:

CLASSIFICAÇÃO:

***Classe de risco 2:** Risco individual moderado e risco limitado para a comunidade.

4.1 Primeiramente, somente pessoas TREINADAS E AUTORIZADAS poderão manipular amostras neste laboratório.

4.2 Utilize Equipamentos de Proteção Individual (EPI's). Este uso é obrigatório.

4.2.1 Utilize máscara e óculos de proteção na realização de procedimentos em que haja possibilidade de respingos de sangue ou outros fluidos corpóreos, nas mucosas da boca, nariz e olhos.

4.2.2 O uso de luvas deve ser constante e os jalecos utilizados devem ser de manga longa.

4.2.3 Os calçados devem ser fechados e de boa aderência ao solo.

4.2.4 Os cabelos e bigode devem estar sempre bem aparados.

Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: BIOSSEGURANÇA EM LABORATÓRIO		
Laboratório: 06	POP nº: 003	Página: 2 de 03

4.2.5 As unhas devem estar sempre limpas e em tamanho adequado.

4.3 Realize os procedimentos com atenção máxima.

4.4 Nunca pipete com a boca.

4.5 No laboratório é proibido comer, beber, fumar, guardar alimentos ou aplicar produtos cosméticos.

4.6 É proibido levar quaisquer materiais à boca e língua.

4.7 Mantenha as áreas de trabalho limpas, organizadas e livre de materiais que não são usados durante a atividade em execução.

4.8 É obrigatório lavar as mãos antes e após cada manuseio de material químico e biológico, bem como antes de saírem do laboratório.

4.9 Durante o trabalho no laboratório, a equipe usará jalecos próprios, de uso restrito nestas áreas.

4.10 A indumentária para proteção dentro do laboratório não pode ser guardada no mesmo armário com objetos e vestuário pessoais.

4.11 Os óculos de segurança e os protetores de face (visores), assim como outros dispositivos de proteção, devem ser usados sempre que forem indicados para a proteção de olhos e face contra os salpicos ou contra o impacto de objetos.

4.12 Durante o trabalho, as portas destas áreas permanecerão fechadas. O acesso de crianças e animais é proibido.

4.13 Luvas adequadas ao trabalho serão usadas em todas as atividades que possam resultar em contato direto com material biológico e químico. Depois de usadas, as luvas serão removidas em condições assépticas e descartadas em lixo especial (biológico). Em seguida, lavar as mãos e realizar desinfecção das mesmas com álcool 70%.

4.14 Todo e qualquer derramamento de material, acidente, exposição efetiva ou possível a materiais infecciosos precisam ser levados imediatamente ao conhecimento do responsável pelo laboratório.

4.15 As áreas de trabalho e armazenamento precisam ser adequadas para acesso a materiais de modo a evitar o congestionamento de mobiliário, equipamentos e objetos.

4.16 É proibida a colocação de vasos de plantas ornamentais nestes ambientes.

4.17 Todo e qualquer agente desinfetante e antisséptico utilizado precisa ser registrado na ANVISA e conferido quanto à data de validade.

4.18 As superfícies de trabalho devem passar por desinfecção, ao menos uma vez ao dia ou sempre que ocorrer derramamento de material potencialmente infectante.

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: BIOSSEGURANÇA EM LABORATÓRIO

Laboratório: 06

POP nº: 003

Página: 3 de 03

4.19 Alunos de graduação que utilizem o laboratório precisam ter treinamento técnico específico no manejo de agentes patogênicos e ser supervisionados por profissionais de competência técnica.

4.20 Procedimentos nos quais exista possibilidade de formação de aerossóis infecciosos devem ser conduzidos em cabines de segurança biológica ou outro equipamento de contenção física.

4.21 O responsável tem o dever de limitar o acesso ao laboratório. Cabe a ele a responsabilidade de avaliar cada situação de risco e autorizar quem poderá ter acesso às áreas de acesso restrito.

4.22 O acesso ao laboratório é limitado e restrito, de acordo com a definição do responsável. Para utilização, é necessário que seja pedida autorização ao responsável, explicitando o motivo, como será a utilização, para qual tipo de pesquisa/ aula será utilizado.

4.23 Todo o resíduo do laboratório deve ser adequadamente destinado.

4.24 Todo resíduo biológico segue para descarte específico (Vide POP relacionado).

4.25 Materiais perfurocortantes: Todo material perfuro-cortante, mesmo que estéril, deve ser desprezado em recipientes resistentes à perfuração com tampa (Exemplo: Descartex®).

5. REFERÊNCIAS:

HIRATA, M. H.; MANCINI FILHO, J. **Manual de Biossegurança**. São Paulo : Manole, 2002.



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: **INSTRUÇÕES DE SEGURANÇA NO LABORATÓRIO**

Laboratório: 06	POP nº: 004	Página: 1 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO (S):

Estabelecer os procedimentos e instruções de segurança no laboratório.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1 Técnicos do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2 Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3 Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO:

4.1 SEGURANÇA PESSOAL

4.1.1 Use jaleco de manga comprida, máscara, luvas e calçados.

4.1.2 Seja cauteloso e organizado.

4.1.3 Planeje o trabalho a ser realizado.

4.1.4 Trabalhe com atenção.

4.1.5 Use Equipamentos de Proteção Individual (EPI's) apropriados nas operações que apresentarem riscos potenciais.

4.1.6 Não use roupas de tecido sintético, facilmente inflamáveis.

4.1.7 Não coloque materiais de laboratório no seu armário ou gavetas pessoais.

4.1.8 Não leve as mãos à boca ou aos olhos quando estiver trabalhando com produtos químicos ou biológicos.

4.1.9 Feche todas as gavetas ou portas que abrir.

4.1.10 Verifique, sempre, a condição dos equipamentos, antes de usá-los.

4.1.11 Conheça a periculosidade dos produtos químicos e biológicos manipulados.

4.1.12 Sempre use luvas adequadas aos procedimentos efetuados.

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: INSTRUÇÕES DE SEGURANÇA NO LABORATÓRIO

Laboratório: 06

POP nº: 004

Página: 2 de 03

4.1.13 Esteja sempre consciente do que estiver fazendo, em qualquer momento.

4.1.14 É proibido comer, fumar e beber no ambiente de trabalho.

4.2 REFERENTES AO LABORATÓRIO:

4.2.1 Mantenha as bancadas sempre limpas e livres de materiais estranhos ao trabalho, assim como equipamentos.

4.2.2 Rotule os materiais e recipientes que serão utilizados.

4.2.3 Descarte papéis e materiais no lixo, de acordo com a classificação dos mesmos.

4.2.4 Use materiais de tamanho adequado e em perfeito estado de conservação.

4.2.5 Mantenha sempre o piso limpo e seco.

4.2.6 Verifique a localização das chaves gerais de eletricidade, existentes no ambiente de trabalho.

4.2.7 Mantenha-se informado, sempre, dos telefones dos bombeiros.

4.2.8 Tenha muita cautela, não coloque produtos ou frascos diretamente sobre o nariz.

4.2.9 Nunca deixe sem avisos de atenção qualquer operação onde haja aquecimento.

4.2.10 Não faça improvisações, utilize sempre materiais adequados.

4.2.11 Em caso de derramamento de produtos tóxicos, inflamáveis ou corrosivos, tome as seguintes precauções:

4.2.11.1 Pare o trabalho e isole a área.

4.2.11.2 Avirta as pessoas próximas sobre o ocorrido.

4.2.11.3 Só efetue limpeza após consultar a ficha de emergência do produto.

4.2.11.4 Alerta o professor ou os técnicos sobre a ocorrência.

4.2.11.5 Verifique e corrija a causa do problema.

4.2.11.6 No caso de envolvimento de pessoas, lave o local atingido em água corrente e procure ajuda médica (Divisão de Saúde- UFV).

4.3 USO DE MATERIAIS DE VIDRO:

4.3.1 Não utilize materiais de vidro trincados ou com a borda quebrada.

4.3.2 Identifique o lixo que contenha os materiais trincados e cacos de vidro.

4.3.3 Lubrifique os tubos de vidro, termômetros, antes de inseri-los em pêra. Nesta operação, proteger as mãos com luvas apropriadas ou enrolar as peças de vidro em toalha.

4.3.4 Para se evitar quebras durante a fixação de material de vidro a suportes, não permita contato direto metal/vidro, e não utilize força excessiva para ajustá-los.

4.3.5 Utilize recipientes de vidro com resistência comprovada em trabalhos especiais.

4.3.6 Os frascos deverão ser limpos e adequados.

4.4 USO DE EQUIPAMENTOS ELÉTRICOS:

4.4.1 Somente opere equipamentos elétricos quando:

4.4.1.1 Fios, tomadas e plugs estiverem em perfeitas condições.

4.4.1.2 O fio terra estiver ligado.

4.4.1.3 Tiver certeza da voltagem compatível entre equipamentos e circuitos.

4.4.2 Não instale nem opere equipamentos elétricos sobre superfícies úmidas.

4.4.3 Verifique periodicamente a temperatura do conjunto plug-tomada. Caso esteja anormal, desligue e comunique para realização de manutenção.

4.4.4 Não use equipamentos elétricos sem identificação de voltagem.

4.4.5 Não confie completamente no controle automático de equipamentos elétricos. Inspecione quando em operação.

4.4.6 Antes de realizar limpeza no equipamento, verifique se o mesmo está desligado da tomada.

4.4.7 Não deixe equipamentos elétricos ligados no laboratório fora do expediente, exceto os que ficam no "Standby".

4.4.8 Remova frascos de substâncias inflamáveis do local onde irá usar equipamentos elétricos ou fonte de calor.

4.4.9 Enxugue qualquer líquido derramado no chão antes de operar equipamentos elétricos.

4.4.10 Não tente consertar equipamentos elétricos.

4.5 CUIDADOS COM RESÍDUOS:

4.5.1 Não descarte nenhum tipo de resíduo sem antes verificar o local adequado para fazê-lo.

4.5.2 Para cada tipo de resíduo, existe uma precaução quanto a sua eliminação, em função da sua composição química. Fique atento!

4.5.3 Descarte os resíduos de acordo com sua composição e contaminação.

5. REFERÊNCIAS:

Resolução de Diretoria Colegiada, nº 210. 04 de agosto de 2003, ANVISA.



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: **LIMPEZA E ORGANIZAÇÃO DO LABORATÓRIO**

Laboratório: 06	POP nº: 005	Página: 1 de 01
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO (S):

Manter o ambiente de trabalho limpo e em condições apropriadas de trabalho.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1 Assistentes e técnicos do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2 Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3 Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO:

4.1 LIMPEZA

4.1.1 A limpeza deve ser realizada diariamente pelas funcionárias da limpeza.

4.1.2 O recolhimento do lixo deve ser realizado uma vez ao dia.

4.1.3 A limpeza deve ser sempre realizada com um pano úmido e depois com um semi-seco.

4.1.4 A limpeza deve ser finalizada com pano embebido em álcool 70°GL. Este deve entrar em contato com todas as cadeiras, mesas e bancadas do laboratório.

4.2 ORGANIZAÇÃO

4.2.1 As mesas devem estar sempre limpas e organizadas. Só devem ser mantidos os materiais que forem estritamente necessários em sua superfície.

4.2.2 Todos os materiais utilizados devem ser guardados nos devidos armários, os quais encontram-se identificados.

5. REFERÊNCIAS:

Corpo técnico do Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: **DESCARTE DE RESÍDUOS DE LABORATÓRIO**

Laboratório: 06	POP nº: 006	Página: 1 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO (S):

Descartar corretamente resíduos e insumos do laboratório.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1. Técnicos do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2. Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3. Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO:

4.1 RESÍDUOS BIOLÓGICOS (CLASSE A e E, de acordo com RDC nº304/ ANVISA)

4.1.1 Resíduos biológicos devem ser acondicionados em lixeiras brancas, em sacos brancos leitosos, com símbolo “infectante” (abaixo).



4.1.2 Resíduos biológicos que sejam perfuro-cortantes (CLASSE E) devem ser acondicionados em recipientes específicos, resistentes, também com símbolo “infectante”.

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: **DESCARTE DE RESÍDUOS DE LABORATÓRIO**

Laboratório: 06

POP nº: 006

Página: 2 de 02

4.1.3 Tente minimizar e segregar corretamente estes resíduos para que a saúde dos profissionais de saúde e o meio ambiente sejam preservados.

4.1.4 Somente $\frac{3}{4}$ do recipiente de acondicionamento deve estar ocupado.

4.2 RESÍDUOS QUÍMICOS (CLASSE B)

4.2.1 Resíduos químicos (vencidos) devem ser recolhidos, acondicionados em embalagens adequadas, considerando-se a especificidade de cada substância química.

4.2.2 Nunca descarte simultaneamente, no recipiente de escolha, diferentes substâncias químicas.

4.3 RESÍDUOS COMUNS (CLASSE D)

4.3.1 Papéis diversos (incluindo papéis toalhas), copos descartáveis, luvas sem contaminação, devem ser descartados em lixeiras comuns, com sacos pretos.

4.3.2 Havendo possibilidade, segregue papéis, plásticos, lixos orgânicos, lâmpadas, pilhas, vidros e metais para reciclagem.

4.3.3 Caso haja contaminação do papel (e outros resíduos comuns) com resíduos químicos, este resíduo passará a ser descartado como "B", ou seja, deverá ser descartado como tal.

4.3.4 Caso haja contaminação do papel (e outros resíduos comuns) com resíduos biológicos, este resíduo passará a ser descartado como "A", ou seja, deverá ser descartado como tal.

4.4 COLETA DOS RESÍDUOS

4.4.1 A coleta dos resíduos comuns e biológicos são de responsabilidade dos assistentes do laboratório. Para a coleta e encaminhamento ao abrigo externo de resíduos, utilizar sempre luvas, máscaras e jaleco.

4.4.2 A coleta dos resíduos químicos é realizada pelo corpo de Bombeiros da UFV. Quando houver necessidade de descarte, entrar em contato com ramal 2199.

5. REFERÊNCIAS:

Resolução de Diretoria Colegiada, nº 306. 07 de dezembro de 2004. **Regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.** ANVISA.



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: **PREPARO DE SOLUÇÃO ALCÓOLICA 70º INPM**

Laboratório: 06	POP nº: 007	Página: 1 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO (S):

Padronizar a preparação da solução alcoólica 70º INPM.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1. Assistente do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2. Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3. Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO:

4.1. Separe os materiais a serem utilizados: Proveta graduada, alcoômetro, bastão, calculadora, álcool 92,8% ou 96% e água destilada.

4.2. Coloque em uma proveta graduada certa quantidade de álcool (de acordo com a quantidade que se deseja preparar) e água destilada ou deionizada, utilizando um bastão para homogeneizar.

4.3. Deixe a solução alcoólica em repouso até que haja acomodação das moléculas (eliminação das bolhas).

4.4. Mergulhe o alcoômetro na solução e aguardar 1 minuto.

4.5. O alcoômetro deverá flutuar livremente na proveta, sem tocar no fundo ou aderir às paredes da proveta.

4.6. Para que o alcoômetro atinja o equilíbrio, adicionar água destilada ou álcool conforme a necessidade do sistema.

4.7. Quando o alcoômetro atingir a posição de equilíbrio (deixar de oscilar), verificar o ponto de afloramento da haste e ler o nº da graduação na parte inferior do menisco e conferir se o grau alcoólico desejado foi obtido.

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: PREPARO DE SOLUÇÃO ALCOÓLICA 70º INPM

Laboratório: 06

POP nº: 007

Página: 2 de 02

4.8. O processo de diluição pode ser feito ainda, seguindo-se a seguinte fórmula:

$$C_f V_f = C_i V_i$$

Exemplo: Concentração desejada = 70%

Volume desejado = 1 litros (1000 mL)

Concentração de álcool na solução pura = 96%

$$\frac{70\% \times 1000}{96\%} = 729,16$$

Assim, o volume de álcool puro a ser utilizado será de 729,16 mL, completando-se o volume com água destilada até atingir 1000 mL, isto é, acrescentar 270,83 mL de água destilada.

4.9. Armazenamento: Rotular o recipiente com data de fabricação, validade e nome do responsável pelo procedimento e guardá-lo em local apropriado.

5. REFERÊNCIAS:

BRAATHEN, P.C. **Química Geral**. 3ªed. CRQ- MG.



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: OPERAÇÃO E LIMPEZA DO MICROSCÓPIO

Laboratório: 06	POP nº: 008	Página: 1 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Padronizar os procedimentos de pré-operação e pós-operação, manutenção geral e preservação dos microscópios.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1. Técnicos de Laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2. Técnico Revisor deste procedimento: Revisão deste procedimento.

3.3. Responsáveis pelo Laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão geral e revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO:

4.1. PRÉ-OPERAÇÃO:

4.1.1 Retire a capa protetora do microscópio;

4.1.2 Verifique a voltagem do equipamento;

4.1.3 Conecte o aparelho na tomada;

4.2. OPERAÇÃO:

4.2.1 Acione a chave liga-desliga;

4.2.2 Ajuste a intensidade da fonte de iluminação;

4.2.3 Ajuste o diafragma do cardióide;

4.2.4 Ajuste a distância do cardióide à mesa porta-lâminas;

4.2.5 Ajuste a distância interpupilar;

4.2.6 Coloque o material a ser analisado;

Assunto: OPERAÇÃO E LIMPEZA DO MICROSCÓPIO

Laboratório: 06

POP nº: 008

Página: 2 de 03

4.2.7 Selecione e posicione a objetiva adequada ao exame, iniciando sempre pela objetiva de menor aumento;

4.2.8 Focalize e examine a amostra;

4.2.9 Após a análise, ponha a objetiva de menor aumento em posição;

4.2.10 Retire o material analisado;

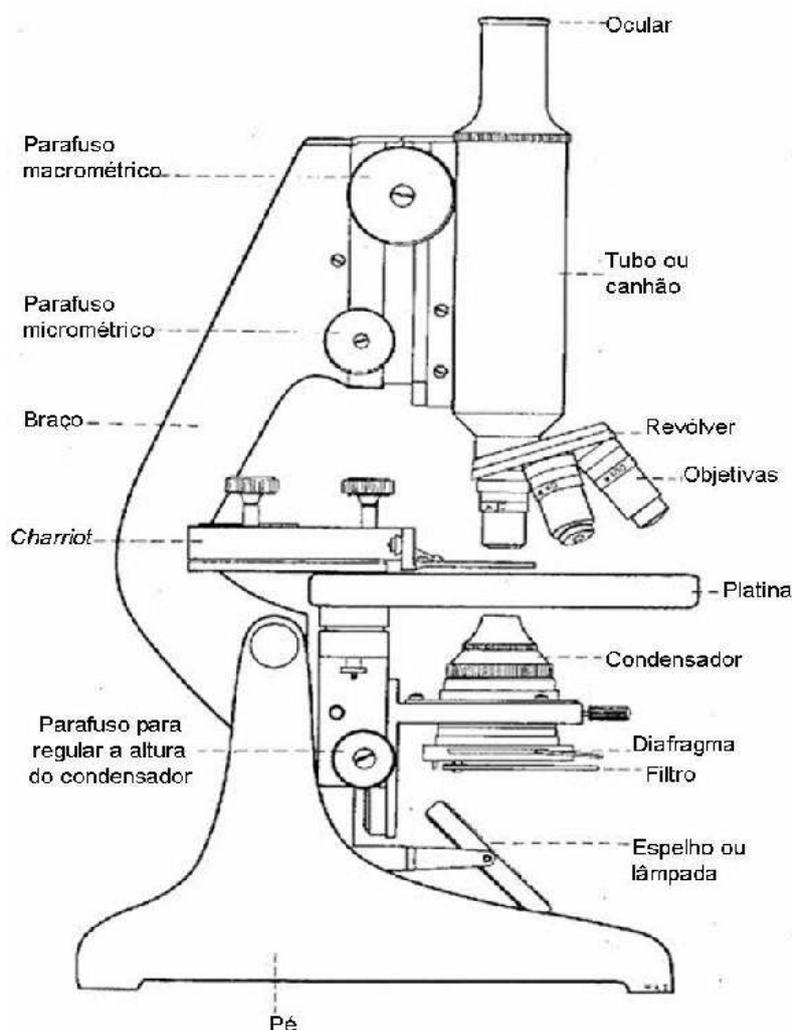
4.2.11 Reduza ao mínimo a intensidade da luz e após, desligue a chave de alimentação do equipamento.

4.3. PÓS-OPERAÇÃO

4.3.1 Retire o cabo de alimentação da tomada de força elétrica;

4.3.1 Realize a limpeza das lentes objetivas e oculares com gaze seca ou embebida em solvente apropriado (éter etílico);

4.3.1 Recoloque a capa de proteção.



Procedimento Operacional Padrão (POP)

4.4. LIMPEZA

4.4.1 Chassi e base do revólver:

4.4.1.1 Frequência diária: Retirada de poeira e gordura com auxílio gaze ou algodão e solvente orgânico (e.g. álcool etílico).

4.4.2 Lentes e demais partes ópticas:

4.4.2.1 Frequência diária ou sempre que necessário: Retirada de poeira e de resíduos de óleos e gorduras com papel de limpeza para lentes ou gaze embebida em éter etílico;

4.4.2.2 Frequência semanal: Limpeza das objetivas com solvente orgânico adequado (e.g. xileno), as lentes devem ser limpas com éter etílico.

5. MANUTENÇÃO PREVENTIVA:

5.1. **Superfícies ópticas**: Verificação periódica de umidade e de formação de biofilmes;

5.2. **Superfícies deslizantes**: Verificação periódica de peças deslizantes, observando a existência de folgas, travamentos ou rangidos metálicos. Para ambas situações, comunique ao responsável técnico do Laboratório para que sejam tomadas as providências junto à mão-de-obra especializada da Oficina de Manutenção da Universidade Federal de Viçosa.

6. REFERÊNCIAS:

CORMACK, David H., **Introduction to histology**, J.P.Lippincott Company, Philadelphia, USA, 1984, p. 4-7.

OMS-Genève, **Metodos Basicos de Laboratorio en Parasitologia Medica**, Gráficas eunidas, Madrid, España, 1992, p. 7-8.



Universidade Federal de Viçosa
Departamento de Medicina e Enfermagem
Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia)

Procedimento Operacional Padrão (POP)

**Assunto: PROCEDIMENTO EM CASOS DE ACIDENTES
COM PERFUROCORTANTES**

Laboratório: 06	POP nº: 009	Página: 1 de 01
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Fornecer orientações gerais e evidenciar as primeiras ações diante de um acidente com materiais perfurocortantes dentro do Laboratório de Agentes Patogênicos DEM - UFV.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1. Técnicos e assistentes do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2. Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3. Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO:

4.1 Manter a calma.

4.2 Falar com um dos responsáveis pelo laboratório.

4.3 Não provocar sangramento espremendo a lesão, pois pode haver aumento da exposição de sangue com o material contaminado. Lesões decorrentes de acidentes com materiais perfurocortantes, como agulhas, bisturis e tesouras potencialmente contaminados, devem ser, imediatamente, lavadas com água e sabão ou solução anti-séptica detergente (PVPI, Clorexidina). As membranas mucosas e a pele devem ser lavadas com água corrente em abundância, soro fisiológico 0,9% ou água boricada, repetindo a operação várias vezes. Deve-se evitar o uso de substâncias cáusticas (como hipoclorito de sódio), pois estas aumentam a área lesada e, conseqüentemente, a exposição ao material infectante.

4.4 Encaminhar para a Divisão de Saúde-UFV.

5. REFERÊNCIAS:

Xavier, R. M.; Albuquerque, G. C.; Barros, E. **Laboratório na Prática Clínica**. Porto Alegre: Artmed, 2006.



Universidade Federal de Viçosa
Departamento de Medicina e Enfermagem
Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia)

Procedimento Operacional Padrão (POP)

**Assunto: LIMPEZA DAS VIDRARIAS E ACESSÓRIOS
UTILIZADOS NO LABORATÓRIO**

Laboratório: 06	POP nº: 010	Página: 1 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Padronizar a correta limpeza das vidrarias e acessórios do laboratório.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1 Técnicos do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2 Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3 Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO:

4.1 Todos os materiais, sejam de plástico ou vidro, devem ser lavados após o uso. Caso esta lavagem não seja imediata, retire o material contido nas vidrarias, enxágüe com água corrente e deixe sobre a pia, no local destinado a vidrarias sujas. Este procedimento facilitará a remoção posterior dos resíduos.

4.2 Para todo material de vidro, que estiver sujo, embaçado, impregnado com resíduos de materiais orgânicos, utilize solução de NaOH 1M para limpá-los. Deixe as vidrarias embebidas nesta solução por um dia.

4.3 Para remoção de substâncias gordurosas nos materiais de vidro, utilize álcool etílico 96°GL ou Acetona PA para remover o resíduo.

4.4 Os materiais de vidro devem ficar de molho, em solução de detergente própria para laboratório, por 15 minutos (mínimo). Após este período, realizar a lavagem direta com solução detergente e água corrente. Enxágüe as vidrarias, externa e internamente, por cinco vezes, no mínimo.

Procedimento Operacional Padrão (POP)

**Assunto: LIMPEZA DAS VIDRARIAS E ACESSÓRIOS
UTILIZADOS NO LABORATÓRIO**

Laboratório: 06

POP nº: 010

Página: 2 de 02

4.5 Rinsar água deionizada nos materiais e deixá-los secando em estufa. Tomar cuidado com materiais de polipropileno, polietileno, vidrarias volumétricas (pipetas, balões, provetas), que não poderão ir à estufa, ou seja, devem secar a temperatura ambiente. Na estufa, deixar, se possível, materiais e vidrarias para secar com as bocas voltadas para baixo.

4.6 Condicionar as vidrarias e materiais limpos em locais apropriados e isentos de poeira, obedecendo a identificação dos armários e gavetas.

5. REFERÊNCIAS:

Corpo técnico do Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: **LIMPEZA DOS EQUIPAMENTOS DO LABORATÓRIO**

Laboratório: 06	POP nº: 011	Página: 1 de 01
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos para limpeza dos equipamentos do Laboratório.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1 Técnicos do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2 Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3 Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO:

4.1 FUNCIONAMENTO DOS APARELHOS

4.1.1 Antes de ligar o aparelho à rede elétrica, certifique-se de que a chave geral esteja desligada.

4.1.2 Verifique a voltagem do aparelho e a rede de alimentação.

4.1.3 Após verificação, conecte o cabo de alimentação na tomada.

4.1.4 Ligue o botão liga/desliga.

4.1.5 Para verificar se a temperatura está adequada à utilização.

4.1.6 Após o uso, desligue o botão liga/desliga e retire o plug da tomada.

4.1.7 Após desligado, realize a limpeza do equipamento. Nunca realize a limpeza com o equipamento ligado.

4.1.8 O equipamento deve ser limpo com flanela úmida embebida em sabão neutro e água morna. Após, utilizar gaze com álcool a 70% para desinfecção.

4.2 MANUTENÇÃO PREVENTIVA

Para a manutenção, procure sempre uma assistência técnica do equipamento.

5. REFERÊNCIAS:

Corpo técnico do Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: COLORAÇÃO DE GRAM

Laboratório: 06	POP nº: 012	Página: 1 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Pesquisar bactérias GRAM positivas e negativas em materiais biológicos.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1 Técnicos do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2 Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3 Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. MATERIAL:

- ✓ Lâmina
- ✓ Lápis para identificar lâmina
- ✓ Alça de repicagem
- ✓ Lamparina ou Bico de Bunsen
- ✓ Cristal Violeta
- ✓ Lugol
- ✓ Álcool 95° GL
- ✓ Fuxina

5. PROCEDIMENTO:

5.1. Separar a lâmina, limpá-la com algodão e álcool;

5.2. Fazer um pequeno círculo (com lápis especial) para demarcar onde será fixado o material;

5.3. Homogeneizar bem o material a ser analisado;

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: COLORAÇÃO DE GRAM

Laboratório: 06

POP nº: 012

Página: 2 de 02

- 5.4. Flambar a alça de repicagem na chama, até ficar vermelha, deixar esfriar um pouco ao lado da chama, introduzi-la no material a ser analisado, preparando um esfregaço fino no círculo anteriormente delimitado na lâmina;
- 5.5. Flambar novamente a alça na chama;
- 5.6. Secar a lâmina à temperatura ambiente e fixar pelo calor (duas ou três passadas rápidas pela chama);
- 5.7. Dispor as lâminas no suporte para coloração;
- 5.8. Cobrir o esfregaço seco e fixado com Cristal Violeta por 1 minuto;
- 5.9. Descartar e adicionar Lugol (mordente) por 1 minuto;
- 5.10. Descartar, inclinar a lâmina 45° e lavar com água;
- 5.11. Com a lâmina ainda inclinada, descorar com álcool até que não saia resíduo de corante;
- 5.12. Lavar a lâmina com água rapidamente;
- 5.13. Adicionar Fucsina por 40 segundos;
- 5.14. Lavar a lâmina em um filete de água. Secar as laterais e a parte posterior com gaze ou papel filtro;
- 5.15. Colocar a lâmina no microscópio, focalizando com a objetiva de 10x - amarelo;
- 5.16. No aumento de 1000x (objetiva de 100x – branca), com auxílio do óleo de imersão, pesquisar a presença de bactérias Gram positivas e negativas.

6. REFERÊNCIAS:

Corpo técnico do Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).



Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: EXAMES DE PARASITOLOGIA

Laboratório: 06	POP nº: 013	Página: 1 de 07
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Padronizar os exames de Parasitologia realizados nas aulas do Laboratório de Agentes Patogênicos.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. MATERIAL:

3.1. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES: MÉTODO DE SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA - HPJ (HOFFMAN, PONS E JANER)

- ✓ Equipamento de proteção individual (máscara cirúrgica, óculos de proteção e luva de procedimento).
- ✓ Microscópio
- ✓ Cálice 250 ml
- ✓ Bastão de vidro
- ✓ Gaze ou Parasitofiltro
- ✓ Pipeta
- ✓ Lâmina
- ✓ Lugol

3.2. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES – MÉTODO DIRETO OU EXAME A FRESCO

- ✓ Equipamento de proteção individual (máscara cirúrgica, óculos de proteção e luva de procedimento).
- ✓ Microscópio
- ✓ Palito
- ✓ Solução Salina fisiológica
- ✓ Lâmina

3.3. MIF

- ✓ Equipamento de proteção individual (máscara cirúrgica, óculos de proteção e luva de procedimento).
- ✓ Microscópio
- ✓ Cálice 250 ml
- ✓ Bastão de vidro
- ✓ Gaze ou Parasitofiltro
- ✓ Pipeta
- ✓ Lâmina
- ✓ Lugol

3.4. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES: MÉTODO DE BAERMAN-MORAES

- ✓ Equipamento de proteção individual (máscara cirúrgica, óculos de proteção e luva de procedimento).
- ✓ Microscópio
- ✓ Cálice 250 ml
- ✓ Bastão de vidro
- ✓ Gaze
- ✓ Funil
- ✓ Espátula
- ✓ Mangueira de Borracha
- ✓ Tubo de ensaio pequeno
- ✓ Pipeta
- ✓ Lâmina
- ✓ Lugol

3.5. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES: MÉTODO DE KATO-KATZ

- ✓ Equipamento de proteção individual (máscara cirúrgica, óculos de proteção e luva de procedimento).
- ✓ Microscópio
- ✓ Tela de 200 μ m
- ✓ Palito
- ✓ Lâmina
- ✓ Papel celofane embebido em solução de verde de malaquita

3.6. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES: MÉTODO DE FAUST

- ✓ Equipamento de proteção individual (máscara cirúrgica, óculos de proteção e luva de procedimento).
- ✓ Microscópio
- ✓ Gaze
- ✓ Centrífuga
- ✓ Sulfato de zinco a 33%
- ✓ Alça de platina
- ✓ Lâmina
- ✓ Lamínula
- ✓ Lugol

3.7. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES: MÉTODO DE WILLIS

- ✓ Fezes formadas frescas, refrigeradas ou formalizadas
- ✓ Microscópio
- ✓ Cálice 250 ml
- ✓ Sal (NaCl)
- ✓ Água destilada
- ✓ Bastão de vidro
- ✓ Frasco Borrel
- ✓ Lâmina
- ✓ Lugol

4. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

4.1. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES: MÉTODO DE SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA- HPJ (HOFFMAN, PONS E JANER).

Trata-se de uma técnica simples, indicada para pesquisa de ovos, larvas e cistos. Fundamenta-se na sedimentação espontânea em água.

4.1.1 Observar o aspecto macroscópico das fezes (eventual presença de sangue, larvas e proglotes) e, após, colocar cerca de 5g de fezes (coletada em diversas partes do material fecal) em um cálice de 250 ml;

4.1.2 Adicionar aproximadamente 50 ml de água corrente para desfazer o material fecal;

4.1.3 Misturar bem o material com bastão de vidro;

Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: EXAMES DE PARASITOLOGIA		
Laboratório: 06	POP nº: 013	Página: 4 de 07

4.1.4 Preparar a suspensão, adicionando aproximadamente 100ml de água corrente;

4.1.5 Filtrar a suspensão para um cálice, utilizando uma gaze dobrada em quatro (ou em parasitofiltro);

4.1.6 Lavar a gaze com água até o cálice estar com $\frac{3}{4}$ do volume ocupado;

4.1.7 Manter a suspensão em repouso, por um período de duas (mínimo) a vinte e quatro (máximo) horas;

4.1.8 Após este intervalo de tempo, observar o aspecto do líquido sobrenadante, antes da realização do próximo passo; duas circunstâncias podem ocorrer:

4.1.8.1 Sobrenadante turvo: Descartá-lo sem levantar ou perder o sedimento e adicionar mais água até o volume anterior, mantendo em repouso por mais uma hora;

4.1.8.2 Sobrenadante limpo: Dar prosseguimento à técnica;

4.1.9 Colher o sedimento, utilizando um dos seguintes modos:

4.1.9.1 Técnica 1: Descartar o líquido (sobrenadante) cuidadosamente, homogeneizar o sedimento e obter uma gota do mesmo (esse processo é mais adequado, uma vez que a gota colhida é mais representativa do sedimento);

4.1.9.2 Técnica 2: No cálice completo com o sedimento e o fluido, inserir uma pipeta até o fundo (e centro) e colher uma gota do sedimento (a pipeta deve ser introduzida até o fundo do cálice, com a ponta obliterada pelo dedo indicador; em seguida, retirar o indicador para que uma pequena porção do sedimento entre na pipeta; recolocar, prontamente, o indicador e, ato contínuo, retirar a pipeta obliterada);

4.1.10 O sedimento obtido é depositado em uma lâmina, adicionando-se uma gota de lugol;

4.1.11 Examinar ao microscópio com aumento de 10x e 40x, observando se há presença de ovos, cistos e larvas. Caso haja necessidade, examinar as fezes diarréicas a fresco.

4.2. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES – MÉTODO DIRETO OU EXAME A FRESCO

Exame utilizado na pesquisa de protozoários (trofozoítos).

4.2.1 Espalhar, utilizando um palito, uma pequena quantidade de fezes em uma gota de solução salina fisiológica previamente colocada na lâmina;

4.2.2 Observar, ao microscópio, nos aumentos de 10x e 40x.

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: EXAMES DE PARASITOLOGIA

Laboratório: 06

POP nº: 013

Página: 5 de 07

4.2.3 O exame deve ser procedido tão logo as fezes tenham sido eliminadas – no máximo até 30 minutos após a defecação, uma vez que o objetivo do método é a busca de trofozoítos.

4.3. MIF

Técnica utilizada: Idêntica ao HPJ, porém, fezes colhidas em solução MIF.

MIF é a sigla de um conservante muito empregado na prática laboratorial, cujas iniciais significam mertiolate (ou mercúrio-cromo), iodo e formol. A fórmula do MIF é:

Glicerina5 ml

Formol a 5%25 ml

Solução de mercúrio-cromo a 1.500250 ml

Água destilada250 ml

Gotas de lugol são adicionadas ao material sedimentado no momento do exame microscópico, para se corar os cistos que estejam presentes.

4.4. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES: MÉTODO DE BAERMAN-MORAES

Método bastante eficiente na pesquisa de larvas nas fezes frescas.

4.4.1 Encher o funil com água corrente a 45°C;

4.4.2 Com uma espátula, retirar 8 a 10g de fezes frescas e depositar sobre uma gaze dobrada em quatro;

4.4.3 Adaptar a gaze sobre o funil, de modo que a água a 45°C entre em contato com as fezes, sem que as mesmas não fiquem “mergulhadas” na água;

4.4.4 Deixar o conjunto em repouso por uma hora;

4.4.5 Colher 5 a 7mL da água do fundo do funil;

4.4.6 Caso necessário, centrifugar o líquido a 1000rpm, por 1 minuto, depositar o sedimento em uma lâmina;

4.4.7 Adicionar 1 gota de lugol;

4.4.8 Examinar, ao microscópio, nos aumentos de 10x e 40x.

4.5. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES: MÉTODO DE KATO-KATZ

Indicados na pesquisa de ovos de *Schistosoma mansoni*. Tem como limitações a impossibilidade de pesquisar fezes diarréicas; ademais, não é possível observar cistos,

larvas de helmintos – estas não passam pela tela –; em relação aos ovos de ancilostomídeos, estes somente podem ser visualizados se a leitura for em realizada em

Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: EXAMES DE PARASITOLOGIA		
Laboratório: 06	POP nº: 013	Página: 6 de 07

até uma hora – após esse os ovos deixam de ser visualizados, devido ao clareamento da amostra.

4.5.1 Depositar, sobre um pedaço de papel higiênico, a porção de fezes a ser examinada;

4.5.2 Comprimir a parte superior da porção de fezes com uma tela de 200µm, a qual só permite a passagem dos ovos de helmintos e de detritos menores que eles;

4.5.3 Retirar as fezes que passaram pela tela e transferir, com auxílio de um palito, um pouco das mesmas para uma lâmina;

4.5.4 Cobrir as fezes com a lamínula de papel celofane – embebido em solução de verde de malaquita –, comprimindo a lâmina, após tê-la invertido, contra uma folha de papel higiênico;

4.5.5 Aguardar cerca de uma a duas horas e examinar ao microscópio.

4.6. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES: MÉTODO DE FAUST

Técnica muito utilizada para cistos.

4.6.1 Dissolver, utilizando bastão, aproximadamente 5g de fezes, em 10mL de água;

4.6.2 Filtrar em gaze dobrada em quatro;

4.6.3 Depositar o material em tubo de centrifuga e centrifugar a 1500 rpm, por dois minutos;

4.6.4 Desprezar o sobrenadante e suspender, novamente, em 10 mL de água;

4.6.5 Repetir os dois passos anteriores, até que o sobrenadante esteja claro;

4.6.6 Adicionar 10 mL de solução de sulfato de zinco a 33%;

4.6.7 Homogenizar e centrifugar a 1500 rpm por dois minutos;

4.6.8 Recolher, com alça de platina, a película superficial e depositar sobre a lâmina;

4.6.9 Adicionar uma gota da solução de lugol e cobrir com lamínula;

4.6.10 Examinar, ao microscópio, nos aumentos de 10x e 40x.

4.7. EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES: MÉTODO DE WILLIS

Pesquisar cistos e ovos leves (ovos de Ancilostomídeos) através da flutuação por aumento da densidade (1,20 g/ml) da solução .

Preparo da solução saturada (1,20 g/ml) –

Adicionar sal (NaCl) ou açúcar em água destilada até que o excesso acrescentado não mais se dissolva na solução (aproximadamente 40 g de NaCl em 100 ml de água).

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: EXAMES DE PARASITOLOGIA

Laboratório: 06

POP nº: 013

Página: 7 de 07

Procedimento:

- 1) Colocar 5 g de fezes em um frasco Borrel.
- 2) Diluir as mesmas em solução saturada com a ajuda de um bastão de vidro.
- 3) Completar o volume até a borda do frasco.
- 4) Colocar na borda do frasco uma lâmina até que ela entre em contato com o líquido.
- 5) Deixar em repouso por 5 minutos.
- 6) Após esse tempo, retirar rapidamente a lâmina, voltando para cima a parte molhada.
- 7) Acrescentar 2 gotas de lugol.
- 8) Observar ao microscópio.

5. REFERÊNCIAS:

DE CARLI, G.A. **Parasitologia clínica: Seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2001.

REY, L.. **Parasitologia**. 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001.



Universidade Federal de Viçosa
Departamento de Medicina e Enfermagem
Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia)

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: COLORAÇÃO DE ZIEHL-NEELSEN (BAAR)

Laboratório: 06	POP nº: 014	Página: 1 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

O método permite identificar os microrganismos que possuem na sua parede celular uma grande concentração de lipídeos, devido à presença de ceras e ácidos graxos (ricas em ácido micólico) o que dificulta a sua visualização através das colorações tradicionais. É utilizada principalmente para o diagnóstico de tuberculose, hanseníase e outras micobacterioses, ocasionadas por bacilos álcool ácido resistentes – BAAR. A coloração de Ziehl-Neelsen pode ser aplicada a uma infinidade de materiais clínicos, tais como escarro, urina, fezes, LCR etc. Usualmente a principal amostra utilizada é o escarro.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Agentes Patogênicos (Parasitologia/Microbiologia).

3. RESPONSABILIDADE:

3.1 Técnicos do laboratório: Execução das atividades conforme estabelecido neste procedimento.

3.2 Técnicos revisores deste procedimento: Elaboração e revisão deste procedimento.

3.3 Responsáveis pelo laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos envolvidos quanto à rotina estabelecida neste procedimento. Revisão final, aprovação, emissão e controle deste procedimento.

4. MATERIAL E REAGENTES:

- ✓ Bico de Bunsen ou Lâmpada
- ✓ Lâminas
- ✓ Alça bacteriológica (repicagem)
- ✓ Fucsina
- ✓ Álcool-ácido
- ✓ Azul de metileno
- ✓ Microscópio óptico
- ✓ Óleo de imersão

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: COLORAÇÃO DE ZIHEL-NEELSEN (BAAR)

Laboratório: 06

POP nº: 014

Página: 2 de 03

5. PROCEDIMENTO:

5.1. Solução de Fucsina

Fucsina básica	0,3 g
Álcool etílico a 95%	10 ml
Cristais de fenol derretidos	5 ml
Água destilada	95 ml

Dissolver a fucsina básica no álcool e o fenol na água. Misturar as duas soluções.
Deixar repousar por vários dias antes de usar.

5.2 Álcool-Ácido

Álcool etílico	97 ml
Ácido clorídrico concentrado	3 ml

5.3 Coloração de fundo (azul-de-metileno)

Azul-de-metileno	0,3 ml
Água destilada	100 ml

5.4 Execução

- 5.4.1** Com auxílio de alça bacteriológica ou um palito de madeira, “pescar” uma porção purulenta do escarro, evitando-se pegar saliva;
- 5.4.2** Em seguida, colocar o material na extremidade de uma lâmina limpa confeccionando um esfregaço não muito espesso;
- 5.4.3** Deixar secar (exposto ao ar);
- 5.4.4** Após a secagem do esfregaço, deverá ser fixado com calor brando (50°C), passando a lâmina rapidamente pela chama. A fixação excessiva e o superaquecimento irão distorcer a morfologia celular e a fixação insuficiente permitirá a saída do material durante o processo de coloração. Deixar a lâmina esfriar antes de iniciar a coloração;
- 5.4.5** Cobrir a superfície da lâmina com a solução de fucsina;
- 5.4.6** Aquecer a lâmina coberta com o corante, lentamente com auxílio de um bico de Bunsen, até a emissão de vapores, tomando o cuidado para não deixar ferver, por um período de cinco minutos;
- 5.4.7** Lavar a lâmina, rapidamente, com água corrente;

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: COLORAÇÃO DE ZHIEL-NEELSEN (BAAR)

Laboratório: 06

POP nº: 014

Página: 3 de 03

5.4.8 Descorar o esfregaço com solução de álcool-ácido 3%, até que não remova mais corante;

5.4.9 Lavar a lâmina com água corrente e esgotando todo resíduo da mesma;

5.4.10 Cobrir a lâmina com o corante de contraste (azul de metileno), por 1 minuto;

5.4.11 Lavar a lâmina com água corrente e deixar secar naturalmente;

5.4.12 Examinar o esfregaço com objetiva de imersão no aumento de 100x.

6. REFERÊNCIAS:

Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica.** Modulo III.