

Capítulo 2

Conceitos e técnicas básicas aplicadas em laboratório

Maria Beatriz Siqueira Campos de Oliveira
Joseli Maria da Rocha Nogueira

A preocupação com a organização do laboratório e a disposição, o funcionamento e a manutenção dos equipamentos é um tópico que deve constar na lista de prioridades do técnico de laboratório da área da saúde. O entendimento de alguns conceitos básicos próprios da área é importante, bem como o conhecimento dos tipos de vidrarias, dos equipamentos e das metodologias aplicadas nos laboratórios. Dessa forma, a interdisciplinaridade é uma tônica na área laboratorial que deve ser enfatizada pelos profissionais no intuito de atender a legislação vigente, as boas práticas de laboratório e as normas de biossegurança. Nessa perspectiva, as instalações, a infraestrutura e o *layout* do laboratório devem ser cuidadosamente planejados para aumentar a segurança dos profissionais, a vida útil e o bom funcionamento dos equipamentos e a qualidade dos ensaios.

O primeiro cuidado é atender as normas de Biossegurança (ver capítulo 1): verificar que as portas abram para fora, para facilitar a saída em casos de

emergência, instalar chuveiros e lava-olhos em pontos estratégicos, observar os espaços entre os equipamentos que trabalham com compressor para evitar aquecimento dos mesmos e instalar deionizador ou desmineralizador em salas separadas, uma vez que a regeneração das resinas poderá oxidar superfícies metálicas.

O projeto de infraestrutura e de iluminação dos laboratórios deve ser elaborado de acordo com as boas práticas de laboratório ou de produção, dependendo da utilização dos mesmos. Sendo assim, laboratórios de produção têm um maior rigor de exigência apresentando os cantos das paredes arredondados, superfícies feitas com material limpável (tinta epóxi, por exemplo), luminárias lacradas com troca de lâmpadas pela parte superior do teto. Os aparelhos de ar condicionado e seus filtros também requerem atenção especial.

Como já mencionado cada tipo de laboratório de saúde vai demandar diferentes necessidades de acordo com as atividades desenvolvidas. O laboratório de análises clínicas ou biodiagnóstico, por exemplo, exige uma sala separada para coleta e recepção de material biológico. Além disso, um cuidado especial deve ser dado aos prontuários, as fichas que acompanham os referidos materiais e a rotulagem das amostras, visto que qualquer erro nessa etapa pode acarretar prejuízos graves.

Além desses itens, outras padronizações devem ser consideradas para qualquer laboratório, como tubulações pintadas com as cores indicadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT/NBR-6493/out. 1994):

ALARANJADO – produtos químicos não gasosos (ex.: soda cáustica)

AMARELO – gases não liquefeitos (ex.: amônia, ozônio)

AZUL – ar comprimido

BRANCO – vapor

CINZA-CLARO – vácuo

CINZA-ESCURO – eletroduto, painéis elétricos

COR DE ALUMÍNIO– gases liquefeitos inflamáveis, combustíveis de baixa viscosidade (ex.: *diesel*, gasolina, querosene, lubrificantes, solventes)

MARROM– canalização – materiais fragmentados (minério bruto), petróleo bruto

PRETO– combustíveis de alta viscosidade (ex.: óleo combustível/BPF, asfalto, piche)

VERDE EMBLEMA– água, exceto a de combate a incêndios

VERMELHO– água e outras substâncias destinadas a combater incêndio

Observações:

- Embora não conste na NBR, é de uso comum distinguir a água potável com a cor verde-claro (verde-claro/verde Nilo) da água de uso industrial com a cor verde emblema.
- A cor marrom, como no caso citado, é utilizada para pintura de tubulação de águas servidas, isto é, não de esgoto sanitário (ex.: água de descarte em máquinas lavadoras, de ralos e de pias).
- Importante: a tubulação de inox deverá ser pintada com anéis no meio de cada seção reta e nas extremidades (iniciais e finais) das linhas.

Outros pontos que merecem atenção ao se elaborar as instalações do laboratório são a localização e os procedimentos relacionados aos gases comprimidos, principalmente os gases acondicionados em cilindros. Dessa forma, devem ser observados os seguintes cuidados:

- Em cilindros contendo gases fortemente oxidantes, as vedações jamais deverão ser lubrificadas com graxa, óleo ou glicerina.
- Somente use cilindros quando estiverem equipados com válvulas de redução.

- Ao transportar cilindros deve-se, sempre, ter o cuidado de fechar a válvula de saída e nunca esquecer de usar a capa de proteção da válvula e um carrinho apropriado para transporte.
- Nunca esqueça os cilindros soltos no laboratório.
- Nunca coloque cilindros próximos a fontes de calor ou chama direta. A temperatura da área de estocagem não pode ultrapassar 40°C.
- Antes de iniciar o trabalho, deve-se verificar a existência de vazamento, por meio de solução de água com sabão.
- Cilindros vazios devem ser etiquetados e estocados em áreas separadas.

Gás	Risco
Hidrogênio	Fogo, explosão
Sulfeto de hidrogênio	Fogo, irritante, tóxico
Nitrogênio	Asfixia
Oxigênio	Fortemente reativo
Dióxido de carbono	Asfixia e queimadura
Propano	Fogo, asfixia, explosão
Butano	Fogo, explosão
Acetileno	Fogo, explosão

Em relação às instalações do laboratório, devemos considerar um local dedicado ao processo de lavagem e esterilização, que poderão estar contíguos ou separados. Neste local ficarão os destiladores ou outro tipo de água purificada por ultrafiltração, autoclaves, fornos e geradores de vapor limpo. Devem ser projetados, também, uma bancada de aço inox com tanques para lavagem, além de bancadas onde os materiais serão embalados para esterilização. Devem estar previstas no projeto tomadas de 110 e 220 volts. Em

alguns casos, a instalação elétrica deve possuir um disjuntor para cada equipamento, como, por exemplo, a autoclave.

1. Conceitos básicos

1.1. Desinfecção por agentes químicos:

- **Limpeza**

É a remoção da sujidade de qualquer superfície, reduzindo o número de microrganismos. Esse procedimento deve ser obrigatoriamente realizado antes da esterilização ou desinfecção. Para cada laboratório deve existir uma padronização do processo de limpeza, incluindo tipo de água utilizada (ver item 2 – tratamento de água), sabão e detergente neutro. Deve-se evitar produtos à base de ácidos forte e oxidante (por exemplo, solução sulfocrômica) com o objetivo de não causar danos ao solo e ao lençol freático. Outro cuidado importante é a preocupação com o que está sendo jogado nas pias e nos ralos dos laboratórios, pois os restos de meio de cultura, reagentes e corantes que são descartados sem tratamento vão causar danos, às vezes irreversíveis ao meio ambiente.

- **Assepsia**

Conceito desenvolvido pelo médico húngaro Ignaz Semmelweis, em 1851. É o conjunto de medidas preventivas que permitem manter um ser vivo ou um meio inerte, isento de microrganismos, evitando a introdução de um contaminante em ambiente ainda não contaminado ou que já foi controlado. Normalmente se utiliza o termo 'técnicas assépticas'. Em um centro cirúrgico ou numa sala limpa de envase de vacinas, por exemplo, deve ser adotado um conjunto de medidas assépticas para se evitar levar microrganismos para aquele local o que causaria contaminação do ambiente.

- **Antissepsia**

Refere-se à desinfecção de tecidos vivos com antissépticos (agentes químicos), eliminando ou inibindo as formas vegetativas dos microrganismos. Os antissépticos são encontrados no mercado em várias apresentações, tais como: solução, pomada, talco e creme.

Em relação à classificação dos materiais hospitalares, temos:

Materiais críticos – Materiais que entram em contato com vasos sanguíneos e tecidos livres de microrganismos. O material crítico deve ser esterilizado. Ex.: instrumentais.

Materiais semicríticos – Materiais que entram em contato com mucosa e pele não íntegra. Esses materiais devem ser esterilizados ou desinfetados de acordo com a necessidade de utilização. Ex.: inaladores.

Materiais não-críticos – Materiais que entram em contato com a pele íntegra. Esses materiais devem ser lavados de acordo com o procedimento operacional padronizado e desinfetados, se for necessário. Ex.: comadre.

- **Desinfecção**

É um processo que reduz o número de microrganismos, eliminando grande parte dos contaminantes existente em um local ou material. Atua sobre as formas vegetativas, sem atingir necessariamente os esporos. A desinfecção pode ser realizada por meios físicos ou químicos e está indicada para materiais semicríticos e não-críticos. Em relação à desinfecção de superfícies, devemos sempre partir do local menos contaminado para o mais contaminado. Outra atividade básica é a troca, sempre que possível, do 'pano' utilizado para a aplicação do desinfetante como, por exemplo, entre bancadas e chão. Além disso, o nível de desinfecção dependerá de variáveis como temperatura, tem-

po e concentração de germicidas adicionados no processo. Pode ser de alto nível, intermediário ou baixo.

Desinfecção de baixo nível – são inativadas as bactérias em forma vegetativa, alguns vírus e alguns fungos. O *Mycobacterium tuberculosis*, os esporos bacterianos, o vírus da hepatite B (HBV) e os vírus lentos sobrevivem. Ex.: álcool etílico e isopropílico, hipoclorito de sódio (100 ppm), fenólicos, quaternário de amônia. Obs.: tempo de exposição < ou = a dez minutos.

Desinfecção de médio nível – além dos microrganismos destruídos na desinfecção de baixo nível são atingidos o *Mycobacterium tuberculosis*, a maioria dos vírus (inclusive o HBV) e a maioria dos fungos. Ainda sobrevivem o *Mycobacterium intracelulare*, os esporos bacterianos e os vírus lentos. Ex.: álcool etílico e isopropílico (70 a 90%), fenólicos, hipoclorito de sódio (100 ppm), pasteurização 75°C a trinta minutos. Obs.: depende da concentração e/ou do período de exposição.

Desinfecção de alto nível – resistem apenas alguns tipos de esporos bacterianos mais resistentes e os vírus lentos. Ex.: glutaraldeído, solução de peróxido de hidrogênio, hipoclorito de sódio (1.000 ppm), cloro e compostos clorados, ácido peracético, orthophtalaldeído, água superoxidada, pasteurização 75°C a trinta minutos. Obs.: tempo de exposição > ou = vinte minutos.

Características ideais de um agente desinfetante:

- amplo espectro;
- ação rápida;
- não ser afetado por fatores ambientais (ex.: luz);
- deve ser ativo na presença de matéria orgânica;

- ser compatível com sabões, detergentes e outros produtos químicos;
- atóxico (não deve ser irritante para o usuário);
- compatível com diversos tipos de materiais (não corrosivo em superfícies metálicas e não deve causar deterioração de borrachas, plásticos e outros materiais);
- efeito residual na superfície;
- fácil manuseio;
- inodoro ou de odor agradável;
- econômico;
- solúvel em água;
- estável em concentração original ou diluído;
- não poluente.

Efeitos dos agentes químicos nas bactérias:

Os diferentes agentes químicos, chamados germicidas, quando contidos nas preparações químicas, podem produzir ação bactericida ou ação bacteriostática:

Ação bactericida – O agente químico tem a propriedade de eliminar as bactérias. É uma ação irreversível porque a 'bactéria morta', mesmo que o agente químico seja removido, não é mais capaz de se reproduzir.

Ação bacteriostática – O agente químico tem a propriedade de inibir a multiplicação das bactérias. Quando o agente químico é removido, a multiplicação é retomada.

Principais desinfetantes:

Álcool – O valor do álcool como germicida foi recentemente revisto, uma vez que o álcool tem mais ação fixadora do que

desinfetante, dependendo de sua concentração. Os alcoóis etílico e isopropílico são bactericidas intermediários e rápidos, além de serem notadamente efetivos contra o bacilo da tuberculose, porém não são esporicidas. É conveniente usar uma só concentração de álcool em todo o hospital, sendo a concentração ideal de 70% de peso por volume, visto que a de 60% tem sua atividade bem diminuída. Os alcoóis evaporam-se rapidamente, coagulam proteínas e são solventes orgânicos. Apesar da rápida evaporação, têm a vantagem de não deixar resíduos em superfícies. São necessárias repetidas aplicações com álcool a 70% para se conseguir a ação adequada. Todavia sua utilização pode danificar componentes de alguns instrumentais, ressecar artigos de borracha e branquear a cobertura asfáltica dos pisos. Deve-se evitar exposições por mais de dez minutos na pele por poder causar irritação, apesar de nesse espaço de tempo alcançar toda sua atividade desinfetante considerando sua extraordinária capacidade germicida e bactericida, o etanol a 70% pode ser usado em itens semicríticos e não-críticos.

Compostos de cloro – O cloro inorgânico, apesar de econômico, tem uso limitado, não podendo ser extensivamente usado devido ao seu poder oxidante em várias superfícies, principalmente metais. Apesar disso, a tradicional solução de hipoclorito de sódio a 2% é um dos melhores e mais antigos germicidas para desinfecção local. Na concentração de 4 a 5%, é também tuberculocida, mas sem capacidade esporicida. Hipoclorito de sódio, onde seja aplicável, é capaz de ter ação de amplo espectro (bactericida e viricida), o que o torna recomendável como um efetivo desinfetante intermediário para itens não-críticos e semicríticos.

Compostos fenólicos – O ácido fênico ou carbólico é considerado o mais antigo germicida existente. Apesar de não ser mais usado como desinfetante, seus derivados são muito utilizados e constituem os compostos fenólicos. Essa classe é muito popular para desinfecção doméstica. Os fenólicos são bons bactericidas, são estáveis e permanecem ativos depois de algum tempo secos. Sua diluição a 2 e 3% é ativa quando em contato com matéria orgânica, por isso são os desinfetantes escolhidos para lidar com contaminação fecal. Porém, os fenólicos são absorvidos por material poroso, além de serem irritantes para a pele. Conseqüentemente, seu uso na desinfecção de utensílios ou áreas semicríticas é limitado. Pelas mesmas razões e porque não são esporicidas, não são usados em áreas e material críticos.

Formol ou formaldeído – É um composto líquido claro, com várias aplicações. Sua solução a 37% vem sendo usada, normalmente, como preservativo (peças de anatômico), desinfetante e antisséptico. A formalização ou fumigação é uma desinfecção de ambiente realizada por sublimação de formaldeído durante um mínimo de seis horas à temperatura de 200°C, usando aquecedor elétrico com *timer*. Após a desinfecção, o formol presente no ar é desnaturado por evaporação de 3 g/m³ de carbonato de amônia durante duas horas e trinta minutos a 200°C. Após a desnaturação, o ar é ventilado por duas horas – filtros Hepa (*High Efficiency Particulate Air*) – a fim de retirar os eventuais vapores residuais. O operador deverá utilizar proteção ocular e máscara de gás com cartucho adequado, uma vez que essa substância é cancerígena de mucosa.

Glutaraldeído – O dialdeído saturado é relacionado quimicamente com o formaldeído. Pesquisadores concluíram que a ação

esporicida do glutaraldeído a 2% aquoso é igual ao do formaldeído a 8% também aquoso, desde que a solução seja alcalinizada. As soluções aquosas de glutaraldeído são ácidas e fracamente microbicidas, mas podem ser ativadas pela alcalinização com bicarbonato de sódio. Apesar disso, sofrem uma significativa perda de atividade em temperatura ambiente por duas semanas. O glutaraldeído elimina algumas bactérias rapidamente, vírus não envelopados em dez minutos, bacilo da tuberculose em vinte minutos e esporos em período de três a 12 horas. Portanto, glutaraldeído aquoso a 2% alcalinizado é um poderoso germicida-esporicida, podendo ser usado em materiais danificáveis pelo álcool.

Iodóforos – Sabidamente, o iodo é um dos melhores antissépticos encontrados até os dias atuais – talvez o melhor. Muitos iodóforos são considerados desinfetantes compráveis para uso geral, nas adequadas concentrações, ainda que instáveis na presença de água pura, calor e matéria orgânica. Inativam vírus a 150 ppm e destroem bacilos da tuberculose de 300 a 450 ppm. Consequentemente, na concentração de 300 a 450 ppm são desinfetantes valiosos no uso em itens não-críticos e semicríticos. Apesar disso, sua ação germicida provém da liberação do iodo livre, o que o torna irritável para a pele.

Metanol-etanol (formaldeído-álcool) – A concentração de 8% do formaldeído é um germicida de alto nível. Essa atividade ainda pode ser aumentada, adicionando-se álcool. Uma combinação de 8% de formaldeído com 65 a 70% de álcool (metanol-etanol) é tuberculocida em cinco minutos. Formalina (20%) é um ótimo esporicida, mas o tempo requerido para isso pode ser de trinta horas ou mais. Quando combinado com álcool, apesar de sua

maior atividade, pode necessitar de até 18 horas dependendo das condições do teste. Combinado com outros compostos químicos, pode reduzir mais o tempo necessário para sua ação esterilizante. Um aspecto importante a ser considerado é a possível toxicidade das substâncias utilizadas e o grau de dano que pode causar às superfícies e aos ambientes.

Quaternários de amônio – Os quaternários têm tido seu uso largamente difundido, tanto como desinfetante quanto como antisséptico. Contam com a importante qualidade de serem menos irritantes, por isso são tão populares. É fundamental considerar a suavidade desta classe de germicida quando for necessário escolher um desinfetante e/ou antisséptico.

Avaliação microbiológica dos desinfetantes:

As metodologias de avaliação dos desinfetantes têm sido permanentemente questionadas porque, em alguns casos, a eficácia do composto ativo é diferente daquela testada laboratorialmente. Várias técnicas vêm sendo propostas baseadas na metodologia do coeficiente fenólico, descrita em 1903 por Rideal e Walker e idealizada para comparar a atividade antibacteriana dos derivados fenólicos naturais do ácido fênico (fenol). O teste, que era realizado apenas frente à *Salmonella* Typhi, hoje já sofreu várias adaptações e inclusive é utilizado não só para os compostos fenólicos, mas também para outros compostos com ação antibacteriana. O protocolo oficial usado no Brasil desde 1985 está atualmente descrito no manual da *Association of Official Analytical Chemist* (AOAC) para a avaliação microbiológica de desinfetantes químicos.

Na qualificação de desinfetantes domésticos, utiliza-se *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Salmonella choleraesuis* (ATCC 10708). Para desinfetantes institucionais, inclui-se também a *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC

15442). Para desinfetantes hospitalares, dependendo da área, pode-se adicionar cepas de *Mycobacterium*.

Coeficiente fenólico

Para se standardizar um desinfetante, é necessário determinar o coeficiente fenólico do mesmo (BREWER, 1943). Este coeficiente consiste na determinação da ação germicida do agente químico sobre o organismo teste mediante determinadas temperaturas em função do tempo, comparada com a ação do fenol em condições idênticas.

Meio de cultura

Extrato de carne 0,5%

Peptona 1,0%

NaCl 0,5%

Ajustar o pH = $6,8 \pm 0,1$

Amostras padrão para teste em cultura recente (24 horas):

Salmonella choleraesuis (ATCC 10708)

Staphylococcus aureus – FDA 209 (ATCC 6538)

Pseudomonas aeruginosa (ATCC 15442)

Distribuir em tubos 25 x 250 ml, 10 ml de meio, e esterilizar. Adicionar a amostra padrão, de escolha.

Técnica:

a) Separar duas baterias, a primeira contendo dez tubos e a segunda, dois tubos. Na primeira, adicionar 5 cm³ de várias diluições do desinfetante em teste. Na segunda, adicionar a diluição de fenol de 1/90 e 1/100 partindo de uma solução de fenol a 5% (titulada por meio de bromo).

b) Adicionar a cada tubo das duas baterias $0,5 \text{ cm}^3$ da cultura padrão. Manter os tubos em banho-maria a 20°C e tirar repiques (alça 4 mm) de cinco em cinco minutos, isto é, após cinco, dez e 15 minutos e se inocula em outros tubos contendo meio de cultura estéril. Os tubos semeados são incubados a 37°C por 48 horas, quando são lidos e comparados os resultados.

Cálculos:

Dividir a diluição do desinfetante capaz de matar a *S. typhi* em dez, mas não em cinco minutos, pela maior diluição de fenol, que produz o mesmo efeito.

Exemplo:

a) Solução de ácido fênico padrão:

Diluição	5 min.	10 min.	15 min.
1/90	+	-	-
1/100	+	+	+

+ crescimento

- estéril

b) Solução do desinfetante a verificar:

Diluição	5 min.	10 min.	15 min.
1/200	-	-	-
1/300	+	-	-
1/400	+	+	+

Coeficiente fenólico:

$$\frac{300}{90} = 3,33$$

Resultado do coeficiente fenólico:

- Ótimo desinfetante, igual ou superior a 3;
- Bom desinfetante, entre 2 e 3;
- Médio desinfetante, entre 1 e 2;
- Péssimo desinfetante, abaixo de 1.

Sanitização

Método que envolve diferentes processos, visando a obter o grau de higiene e limpeza adequadas em todos os componentes do ambiente de trabalho, reduzindo, assim, os microrganismos presentes a um número compatível com o produto e aceito pela legislação. O método envolve quatro estágios:

1. Limpeza inicial da sujidade macroscópica e grossa, utilizando água;
2. Remoção física da sujeira promovida por detergentes;
3. Novo enxágue;
4. Aplicação de sanitizantes (desinfetantes).

1.2.Desinfecção por agentes físicos

• Pasteurização

Processo idealizado por Louis Pasteur, em 1864, que verificou que o aquecimento acima de 60°C de certas bebidas e alimentos, por um determinado tempo (chamado de binômio 'tempo x temperatura'), evitava a sua deterioração, reduzindo de maneira sensível o número de microrganismos presentes na sua composição.

A partir desta descoberta, esse foi o tratamento recomendado para reduzir a população de microrganismos termossensíveis (sobretudo não esporulados) presentes em amostras, principalmente nos alimentos, tais como sucos de frutas e leite. Normalmente, é empregado para produtos que possuem características organolépticas e nutricionais altamente suscetíveis a altas temperaturas. Este tratamento deve ser associado ao emprego de outros métodos, como refrigeração, adicionamento de açúcar ou aditivos e uso de embalagens herméticas.

Existem, atualmente, três tipos de pasteurização:

Pasteurização lenta – na qual se utiliza menores temperaturas (por volta de 65°C) durante maior intervalo de tempo (aproximadamente trinta minutos). Podemos denominar o processo como LTLT (*low temperature long time*) – baixa temperatura e longo tempo. Este tipo é melhor para pequenas quantidades de leite, por exemplo, o leite de cabra.

Pasteurização rápida – na qual altas temperaturas são utilizadas por curtos intervalos de tempo. A temperatura utilizada é de 75°C durante 15 a vinte segundos. Podemos denominar esse tipo de pasteurização como HTST (*high temperature and short time*) – alta temperatura e curto tempo. É mais usada no leite de saquinho, do tipo A, B e C.

Pasteurização muito rápida – na qual as temperaturas utilizadas são bastante altas (130°C a 150°C) mas durante um tempo extremamente curto (de três a cinco segundos). Este tipo é mais conhecido como UHT (*ultra high temperature*). É utilizada nas caixinhas de leite tipo 'longa vida'.

- **Tindalização**

Processo vinculado ao físico inglês Jonh Tindall. É uma técnica de esterilização fracionada, em que o vapor fluente (água de 60°C a 90°C) é aplicado durante trinta a sessenta minutos, por repetidas vezes, resfriando-se entre cada aquecimento. Este processo é usado quando não se deseja a coagulação das proteínas e o seu princípio visa a destruir as formas vegetativas apenas, o que se consegue simplesmente pela aplicação do vapor fluente. Durante o período de repouso à temperatura ambiente (por volta de 24 horas), as formas de resistência (esporos) passam para formas vegetativas e

assim, quando submetidas novamente a vapor fluente, são destruídas. O número de operações pode variar de três a 12 vezes, dependendo do rigor e da qualidade desejada. É um processo muito usado na indústria de alimentos e farmacêutica, quando se deseja preservar a qualidade do produto que está sendo esterilizado, pois podem ser mantidos praticamente todos os nutrientes e as qualidades organolépticas do produto, em proporções maiores do que quando se utilizam outros tratamentos térmicos. Ex.: produtos açucarados ou que contenham gelatina.

1.3. Esterilização

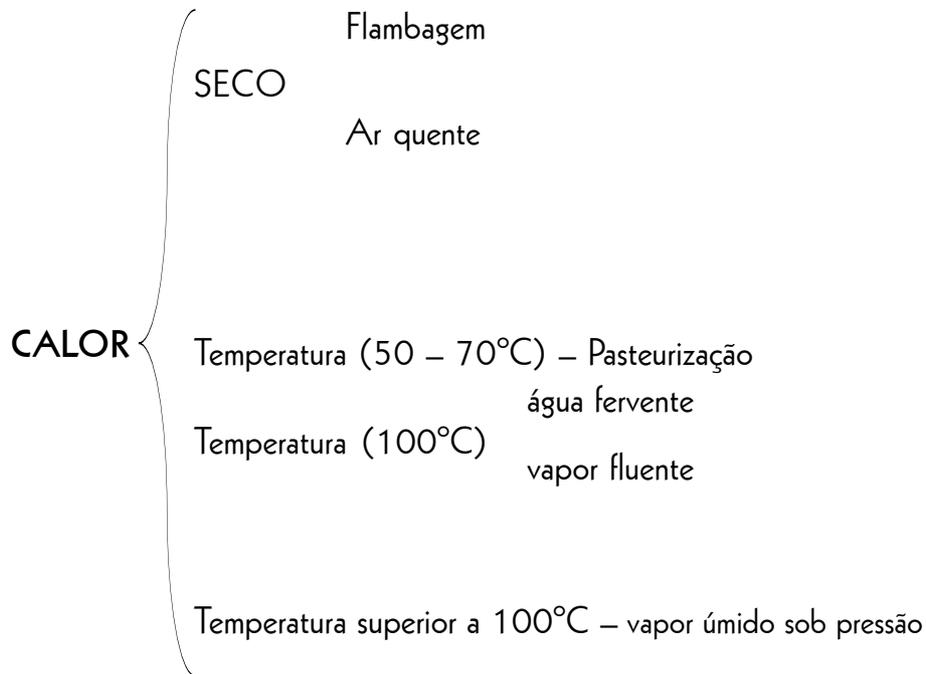
O ato de esterilizar visa à destruição de qualquer microrganismo existente, incluindo esporos, enquanto o ato de desinfetar preocupa-se apenas com a destruição de formas vegetativas. A esterilização, dessa forma, é o processo que promove a completa eliminação de todos os microrganismos presentes (protozoários, vírus, fungos e bactérias), incluindo os esporos, em um determinado material ou ambiente. Utilizam-se agentes físicos e químicos. É diferente de limpeza e de assepsia, uma vez que estes conceitos estão mais ligados ao controle de microrganismos, ao passo que a esterilização se refere à eliminação total dos mesmos.

De uma maneira geral, os processos de esterilização são físicos e os de desinfecção são químicos (o que não quer dizer que não poderíamos fazer uma esterilização química ou vice-versa).

Exemplo de esterilização física:

- **Calor**

Os processos mais comuns de controle baseiam-se no uso do calor, sendo a via úmida a mais efetiva.



- **Calor seco**

De um modo geral, podemos dividir este tipo de esterilização em duas técnicas: a utilização do ar quente e a flambagem (incineração):

Utilização do ar seco ou ar quente – É recomendada quando o contato direto com o calor úmido (vapor) sob pressão não é adequado ao tipo de material, como ocorre com certos tipos de vidraria, óleo, pós e substâncias similares. O aparelho usado neste tipo de esterilização é um forno (elétrico ou a gás) capaz de atingir altas temperaturas. A despirogeneização (destruição de pirogênicos, substâncias capazes de elevar a temperatura corporal, frequentemente polissacarídeos que podem ser de origem microbiana – ver capítulo sobre bacteriologia) só pode ser feita no forno à 180°C. A autoclave não elimina o pirogênio.



Obs.: Para esterilização de vidraria limpa, uma exposição de duas horas a 160°C é considerada suficiente.

Incineração – É a queima total de um material, usada para destruição de carcaças de animais ou outros materiais infectados. A destruição de microrganismos por calor direto é também praticada na rotina do laboratório quando a alça ou agulha de platina é levada à chama do bico de Bunsen (flambagem). Primeiro se leva a alça à chama interna de cor azul, denominada de 'chama fria', e depois, vagarosamente, se desliza a alça para a chama externa (vermelha) para realizar a flambagem. Quando a alça ou agulha de platina ficar totalmente incandescente, é sinal de que foi feita a esterilização. Esse procedimento evita a formação de aerossóis, responsáveis pela contaminação do meio ambiente.



• Calor úmido

O calor sob forma de vapor d'água sob pressão é considerado o agente mais prático e eficiente para esterilização. Proporciona temperaturas mais elevadas que na ebulição, com vantagens como a rápida elevação de temperatura e maior penetrabilidade. O aparelho utilizado para este fim recebe o nome de autoclave. Geralmente, embora não sempre, a autoclave é operada numa pressão de $\cong 15$ libras por polegada quadrada (1 atmosfera = 121°C) sendo o tempo variável de acordo com o material a ser esterilizado.

Atualmente, alguns laboratórios já estão adotando normas mais rígidas na autoclavagem de seus utensílios, principalmente em casos de material cirúrgico.

Após a descoberta de que os príons (proteínas infecciosas causadoras de doenças chamadas de encefalopatias espongiformes transmissíveis, como Scrapie, Kuru, Creutzfeldt-Jakob e BSE) são capazes de resistir à autoclavagem

normal e a várias substâncias químicas, estão sendo preconizadas autoclavagens a 134°C por duas horas, na certeza de inativação destes elementos.

Os materiais que serão autoclavados deverão estar devidamente acondicionados para que ao final do ciclo de esterilização possam ser retirados e utilizados com segurança. Para que isso aconteça, alguns critérios deverão ser levados em conta na hora da escolha da embalagem para a esterilização:

Deve-se levar em conta o material e o método de esterilização sendo compatível e resistente às condições físicas do processo de esterilização.

Deve proporcionar selagem adequada e barreira microbiana.

Deve permitir a penetração e remoção do agente esterilizante.

Deve resistir a rasgos e ser livre de furos.

Não pode ter na sua composição substâncias tóxicas.

Deve apresentar custo-benefício positivo.

Considerando a garantia da qualidade da esterilização, podemos lançar mão de indicadores químicos e biológicos oferecidos de diferentes formas no mercado. Estes deverão ser testados pelo controle da qualidade e mantidos na validade e em condições ideais de estocagem.

Indicadores químicos:

Externos: indicam o contato do vapor com a superfície exposta. Devem ser usados em todos os processos e pacotes.	Fitas ou etiquetas adesivas – impregnadas com substâncias químicas termosensíveis específicas ao vapor que, ao serem retiradas da autoclave, deverão apresentar mudança de cor.
	Impresso – tinta indicativa termosensível impressa diretamente na embalagem que, ao ser retirada da autoclave, deverá apresentar mudança de coloração.
Interno: indicam que o vapor penetrou no interior da embalagem.	Tintas de papel – impregnadas com tinta em concentração graduada com substâncias químicas termosensíveis específicas ao vapor que, ao serem retiradas da autoclave, deverão apresentar coloração marrom a preto.

Indicadores biológicos:

São utilizados espécimes bacterianos não patogênicos com esporos altamente resistentes ao calor úmido e à dessecação. O exemplo mais comum é o *Bacillus (Geobacillus) stearothermophilus*, utilizado como desafio, já que, uma vez tendo sido eliminado, todos os outros esporos e formas vegetativas também o serão.

Para fazer o teste biológico do funcionamento da autoclave, utiliza-se os esporos dentro de um recipiente, que irá passar pelo ciclo de esterilização da autoclave. Coloca-se o pacote teste embaixo junto ao dreno ou, nos modelos verticais, no meio da câmara, que são os pontos respectivamente mais frios em função da localização das resistências. Ao final do ciclo, após o resfriamento total, abre-se o recipiente expondo os esporos ao meio de cultura. Coloca-se para incubar em estufa bacteriológica com um controle positivo (outro indicador de controle idêntico que não vai para autoclave, mas deve ser ativado da mesma forma, já que a sua finalidade é testar tanto a viabilidade dos esporos quanto verificar se a incubadora está funcionando corretamente).

O resultado esperado é a mudança de cor causada pela alteração de pH da solução que resulta da atividade microbiana. O teste levado ao autoclave não deve mudar de cor, pois o esperado é que os microrganismos tenham sido destruídos no processo de esterilização. A leitura final é feita após 24 a 48 horas de incubação dos indicadores. A recomendação do Ministério da Saúde e da Vigilância Sanitária é o uso semanal dos indicadores biológicos.

• Irradiação

Os efeitos das radiações dependem da sua duração, do comprimento de onda, da intensidade e da distância da fonte. Existem, atualmente,

pelo menos dois tipos utilizáveis no controle de microrganismos. As ionizantes (comprimento de onda mais curto e maior energia) e as não ionizantes. Vamos citar as mais conhecidas:

Raios gama

Radiação do tipo ionizante, sem induzir aumento na temperatura, destrói componentes celulares orgânicos, entre eles as ligações do DNA, através da ionização da água e produção de radicais livres (superóxidos), destruindo formas vegetativas e, em doses mais elevadas, esporos.

Apesar de o custo inicial deste tipo de processo ser elevado, a radiação gama constitui hoje o método de eleição para esterilizar grandes lotes de itens de pequeno volume, como agulhas, seringas, luvas e cateteres. Eventualmente, também pode ser usada para vacinas e na prevenção da deteriorização de alimentos.

Raios UV

Apesar do baixo poder de penetração, a radiação ultravioleta é empregada com sucesso no ambiente hospitalar e no laboratório (lâmpada germicida), funcionando como esterilizante de superfície após limpeza com desinfetante. Usada também para controle de microrganismos do ar, é frequentemente encontrada em centros cirúrgicos e capelas de fluxo laminar. Não é utilizada em larga escala, pois pode causar danos à pele e córnea.

• Filtração

Como outro processo considerado de esterilização, podemos citar a filtração através de substâncias capazes de reter os microrganismos. Antigamente, eram usadas velas e filtros de amianto do tipo 'seitz'. Atualmente, são mais utilizadas as membranas de nitrocelulose de pequena porosidade (0,2µm), embora de forma efetiva estas funcionem muito bem, pois consideram também

a atração eletrostática das partículas e não agem realmente como esterilizantes, já que podem eventualmente permitir a passagem de vírus e alguns gêneros bacterianos de menor diâmetro.

- **Óxido de etileno**

Amplamente usado como esterilizante de instrumentos. Tem ação esporicida mais rápida que o formaldeído gás. A esterilização por óxido de etileno é um método específico devido a sua complexidade, tanto relativa ao seu alto custo quanto ao longo tempo requerido.

1.4. Medicamentos para controle bacteriano (ver capítulo sobre Bacteriologia no volume III)

- **Quimioterápicos**

Produzidos por síntese química em laboratório, ao invés de serem produzidos por um microrganismo.

Qualidades ideais de um agente quimioterápico:

- Ser capaz de destruir ou inibir muitas espécies de microrganismos patogênicos. Quanto maior o número de diferentes espécies afetadas, melhor o agente.
- Inibir os microrganismos de tal maneira que se evite o desenvolvimento de formas resistentes produtoras de doenças.
- Não produzir efeitos colaterais indesejáveis no paciente.
- Não eliminar microrganismos que normalmente habitam o trato intestinal ou outras áreas do organismo (flora normal).
- Ser altamente solúvel nos fluidos corporais.
- Não pode ser inativado pelo ácido estomacal, deve ser absorvido pelo trato intestinal.

- **Antibióticos ou agentes antimicrobianos**

São substâncias obtidas a partir de microrganismos (principalmente fungos) que são utilizadas no tratamento de doenças, sobretudo de origem bacteriana. A escolha do antibiótico no tratamento de uma infecção depende do microrganismo obtido a partir da cultura em laboratórios de análises clínicas e da sua sensibilidade verificada no antibiograma (ver capítulo sobre Bacteriologia), pela gravidade da doença, da toxicidade e dos antecedentes de alergia do paciente. Em infecções graves, pode ser necessário combinar vários antibióticos. A via de administração pode ser oral (cápsulas, comprimidos), tópica (colírios, pomada) ou injetável (intramuscular, intravenosa). Nas infecções graves, deve-se utilizar a via intravenosa.

Para proceder adequadamente a qualidade dos testes e o controle dos microrganismos, lançamos mão de processos de esterilização, que podem ser físicos ou químicos, como veremos a seguir.

2. Tratamento de água

Sistemas de tratamento de água

A água que bebemos é denominada potável e, por definição, pode ser consumida por pessoas sem riscos de adquirirem doenças por contaminação da mesma. Ela pode ser oferecida à população das cidades ou de áreas rurais e vai ou não precisar de tratamento prévio dependendo da origem do manancial. O tratamento de água tem como objetivo reduzir a concentração de poluentes até o ponto em que não apresentem riscos para a saúde pública. O grau e o tipo de tratamento vão variar de acordo com as normas de cada país e, principalmente, com a qualidade da água de abastecimento. No Brasil, na maioria das cidades, existe a necessidade de filtros domésticos. Entretanto, o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro) alerta para alguns cuidados a serem tomados em relação a este sistema de filtração (www.inmetro.gov.br – acesso em 24 out. 2008):

- Não se deixe levar pelo título, filtro ou purificador; os ensaios mostraram que estes não têm diferença.
- Não se impressione com promessas de água pura ou cristalina, pois isso não significa que o filtro combata bactérias ou elimine possíveis riscos à saúde.
- Em caso de dúvida quanto à procedência da água, não confie somente no filtro. Nestes casos, ferva a água por, pelo menos, 15 minutos.
- Para os consumidores que se utilizam de fonte de água *in natura*, é muito importante que a qualidade da água seja verificada periodicamente através de ensaios microbiológicos e que a água seja fervida após a filtração.
- É de fundamental importância manter a caixa d'água limpa, pois a falta de higiene nesta pode ser um foco de contaminação da água.

Segundo o Inmetro, a qualidade dos filtros domésticos existentes no mercado nacional é preocupante, particularmente no que diz respeito às informações quanto à utilização e finalidade e quanto ao desempenho na eliminação de bactérias. A inexistência de normas e regulamentos contribui para atual situação, cabendo ao Inmetro induzir a criação de uma norma brasileira para este produto.

Entretanto, a água que utilizamos em laboratório tem um nível de exigência química e biológica muito maior, mas, assim como nas vidrarias de laboratório, não podemos generalizar as especificações da qualidade exigida para os diversos laboratórios, sendo assim, os laboratórios de química, de um modo geral, necessitam de água deionizada, isto é, livre de íons, enquanto os de produção de diluentes, vacinas, medicamentos e os de bacteriologia usam sistemas de ultrafiltração ou destilação que removem coloides, bactérias e pirogênicos. Dessa forma, iremos descrever um sistema de tratamento de água, ressaltando que não existe o sistema ideal para todos os laboratórios e a

escolha deve ser feita tendo em vista a finalidade, a origem do manancial, os recursos financeiros disponíveis e o consumo de água. Na hora de se projetar um sistema de tratamento de água, deve-se entrar em contato com as empresas fabricantes dos equipamentos para se verificar o consumo de água, consumo elétrico e gasto de material de consumo.

2.1. Água de alimentação

A origem da água é muito importante para se obter uma água purificada de qualidade WFI (*water for injection*). Independentemente se a água vem de um poço artesiano ou do Centro Municipal de Tratamento de Água, tipo Cedae (no caso do Rio de Janeiro), uma filtração inicial deverá ser realizada. Como o projeto e a operação do sistema de tratamento de água dependem da qualidade da água de abastecimento, é importante conhecer as características e evidenciar as alterações da qualidade da água, com a mudança das estações, já que, dependendo da época do ano, podemos ter na água elementos sólidos provenientes do solo ou de outros locais por onde ela passou, como ocorre nas enchentes, modificando as características desta água (dureza, salinidade, pH etc.).

A água de alimentação deve ser monitorada a cada seis meses para se ter certeza de que as características químicas estão mantidas. No caso de se ter uma água muito ionizada, monta-se, então, um Sistema *Softened* (como explicado a seguir), para se retirar a grande maioria dos íons e remover as substâncias insolúveis em suspensão. Caso haja muita matéria orgânica, faz-se necessária a colocação de filtros de areia e carvão ativado. A qualidade da água de origem vai indicar os próximos passos do sistema de tratamento, nesse caso, tubulações antigas de ferro que levam a água para as cisternas e caixas d'água obrigam a colocar na linha, também, um Sistema *Softened*.

2.2. Sistema *Softened* (água sem ferro)

A retirada de ferro da água é realizada por filtração num leito composto de mistura de calcita (CaCO_3) e dolomita calcinada – $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$. A filtração é precedida por uma oxidação sob ar comprimido em um cilindro para oxidar sais de Fe^{++} . Cátions de Fe^{++} são eliminados por filtração sob a forma de Fe^{+++} hidratado – $\text{Fe}(\text{OH})_3$. O ar comprimido fornece o ar necessário para a oxidação. A água é então distribuída para os filtros desferrificadores.

Esse tipo de tratamento, normalmente, antecede o sistema de purificação de água utilizado nos laboratórios, ficando, geralmente, situado fora do prédio. Caso a água de abastecimento seja fornecida pelo centro de tratamento municipal, essa primeira etapa será dispensada ou trocada por outra de acordo com a necessidade.

Exemplo de utilização da água:

- Instalações sanitárias (chuveiro);
- Circuitos de refrigeração (água gelada);
- Alimentação do desmineralizador ou do deionizador;
- Água para laboratório de química.

2.3. Água desmineralizada

Na realidade, tanto o desmineralizador quanto o deionizador têm o mesmo objetivo: a retirada de íons da água. Entretanto, convencionou-se que o equipamento de desmineralização possui duas colunas separadas, cada uma contendo uma resina diferente (aniônica e catiônica), e no deionizador as duas resinas estão juntas na mesma coluna, isto é, coluna de leito misto. A resina catiônica contém íons disponíveis capazes de remover cátions (Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Fe^{+++} , etc.). A circulação da água do topo para o fundo do leito de resina e a regeneração são realizadas da mesma maneira com ácido clorídrico (HCl) servindo também como agente sanitizante.

A resina aniônica retira os ânions da água (Cl^- , SO_4^{2-}). A água decationizada passa para a forma hidroxílica. A regeneração é feita da mesma maneira 'contra-corrente' com solução alcalina forte (hidróxido de sódio – NaOH), a qual funciona também como agente sanitizante. A água desmineralizada é distribuída para os laboratórios ou então vai alimentar o deionizador. Apesar de teoricamente a água desmineralizada apresentar uma qualidade química um pouco inferior que a água deionizada, não existe a necessidade de ter os dois sistemas em linha (desmineralizador → deionizador). Muitos laboratórios que possuem recurso financeiro fazem a opção de ter o desmineralizador abastecendo o deionizador, com o objetivo de proteger o segundo equipamento e com isso aumentar o intervalo entre as regenerações e diminuir o gasto de produtos e resinas.

- **Regeneração das resinas:**

O local de entrada do ácido e da base para a regeneração das resinas não deve ficar dentro da sala, e sim do lado de fora. Pode ser comprado na concentração de 30% em tanques adaptáveis à tubulação. Na maioria dos desmineralizadores, todo processo é automático.

A regeneração é baseada no volume de água que passa por aquela resina, a não ser que a condutividade vá além do limite aceitável ($5\mu\text{S}$). O número de regenerações em um ano pode variar de dez a vinte. Isto vai depender da produção anual daquele laboratório e da qualidade da água de alimentação. Conforme for diminuindo o tempo de intervalo entre uma regeneração e outra, é sinal de que a resina está perdendo sua capacidade regeneradora. O controle nesse caso, para ver se é necessário ou não fazer uma nova regeneração, é a condutividade da água. E à medida que se vai aumentando o número de regenerações, a tendência da quantidade de resina é diminuir. Uma preocupação importante nos procedimentos de regeneração das colunas é quanto à biossegurança. Equipamentos de proteção individual e

coletiva devem ser rigorosamente utilizados, uma vez que qualquer acidente pode colocar o operador em risco de ter queimaduras provocadas por ácido e soda ou até mesmo problemas graves de saúde por inalação de vapores. Um reservatório contendo resina sintética com alto poder de absorção, caso haja derramamento de ácido e base no momento do processo de regeneração, deve estar disponível no laboratório em local estratégico. Todas as conexões utilizadas na instalação do equipamento devem ser de aço inox para resistir à ação oxidante dessas substâncias.

Exemplo de utilização da água:

- Produção de vapor (tubulação PVC);
- Água (quente e fria) para lavagem de equipamentos;
- Alimentação do deionizador;
- Água para laboratórios de química.

2.4. Água deionizada

O tratamento de água deionizada é uma unidade composta de duas colunas de leito misto, trabalhando em série, chamada de 'Triobed'. Cada Triobed é composta de uma resina ácido forte, uma resina básica forte e uma resina neutra (que fica localizada no meio e é a mistura das duas resinas).

A unidade Triobed trabalha no sistema clássico de leito misto. As resinas são classificadas ou separadas pela diferença de densidade das partículas depois de enxágue da coluna com água desmineralizada por dez minutos, em 'contra-corrente'. A resina neutra é uma camada com cerca de 12 a 25 cm de altura entre as outras duas.

A resina ácida (camada de baixo) é regenerada em 'contra-corrente' e a resina básica (camada de cima) em 'cocoorrente'. Depois de cada ciclo de regeneração, é feito o enxágue com água desmineralizada. Duas bombas coletoras de água deionizada distribuem água para o sistema.

- **Regeneração das resinas:**

Mover toda a resina para o topo da coluna e passar HCl a 30%. Retirar o ácido, com água desmineralizada, levando para um tanque de neutralização, localizado ao lado de fora do prédio. Esta água ácida só será despejada para o esgoto quando estiver neutralizada com uma solução alcalina. Proceder da mesma maneira com a resina básica, só que usando NaOH a 30%. Usa-se também o tanque de neutralização, colocando-se uma solução ácida. Deve-se lavar as resinas com água desmineralizada, até o condutímetro, localizado no final da coluna marcar em torno de 1 mS.

Exemplos de utilização da água:

- Produção de vapor (tubulação em aço inox);
- Água de lavagem de tanques;
- Laboratórios de química e outros que precisem de água deionizada;
- Alimentação das unidades de ultrafiltração e destilação.

2.5. Água bidestilada (WFI)

A água de alimentação é pré-aquecida num trocador de calor, por condensação de vapor vindo da última coluna e dos pré-aquecedores pelo condensado produzido em cada efeito. A água de alimentação evapora parcialmente na primeira coluna aquecida por vapor industrial. O condensado de vapor passa através do trocador e descarrega. O vapor puro produzido do topo segue para o próximo efeito, onde o processo é repetido. A água destilada produzida por condensação de vapor puro vai para o trocador. O processo é repetido por todas as colunas da mesma maneira. O vapor produzido no último efeito é condensado e resfriado. A água bidestilada não deve ser armazenada. Se isto precisar acontecer, deve ser feito um sistema de 'looping' a 85°C.

Exemplos de utilização da água:

- Água para o preparo de vacinas;
- Água para o preparo de diluentes e soluções (WFI);
- Água final (enxágue) de lavagem de vidrarias, frascos e rolhas;
- Laboratórios em geral, principalmente os que precisam de água com qualidade microbiológica muito boa.

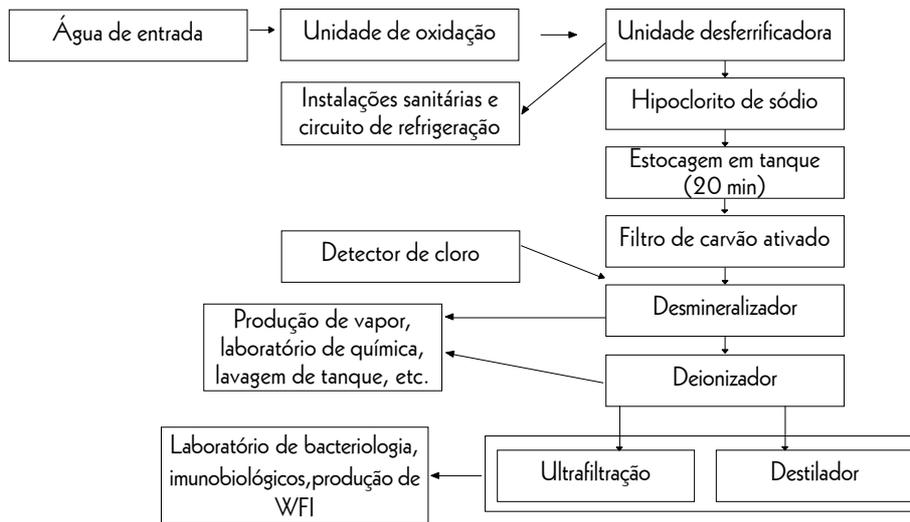
2.6. Água ultrafiltrada (WFI):

Existem no mercado vários modelos de ultrafiltradores que produzem água purificada do tipo WFI. Os cartuchos de ultrafiltração são hidrófilos e o fluxo inicial é necessário cada vez que novos cartuchos são usados. Deixe sempre o sistema funcionar por quatro horas (para drenar) antes de usar a água. Ajuste o ejetor e a passagem das válvulas para obter uma pressão compatível com a pressão transmembrana. A maioria dos equipamentos desta natureza possui *timer* programável. A água ultrafiltrada não deve ser armazenada. Se isto precisar acontecer, deve ser feito um sistema de 'looping' a 85°C.

Exemplos de utilização da água:

- Água para o preparo de vacinas e de diluentes e soluções (WFI);
- Água final (enxágue) de lavagem de vidrarias, frascos e rolhas;
- Laboratórios em geral, principalmente os que precisam de água com qualidade microbiológica muito boa.

Esquema de tratamento de água



3. Equipamentos

3.1. Autoclave

É um equipamento de laboratório utilizado para esterilizar objetos através de calor úmido (vapor) combinado com pressão. Dessa forma, a esterilização a vapor é realizada em autoclaves, cujo processo possui fases de penetração do vapor, remoção do ar e secagem. A utilizar a autoclave, é importante assegurar que o vapor deslocou todo o ar antes que a pressão se eleve. Nesse sentido, o vapor saturado, isento de ar, na pressão de 1 atmosfera, tem uma temperatura de 121°C.



Existem vários modelos de autoclaves, mas, quanto à fundamentação da técnica de autoclavagem, podemos dividi-las em dois grandes grupos:

- Gravitacional: o ar é removido pelo vapor que é injetado forçando sua saída ou através de uma bomba. A fase de secagem é limitada, uma vez que não possui capacidade para completa remoção do vapor.
- Alto vácuo: introduz vapor na câmara interna sob alta pressão com ambiente em vácuo. A fase de secagem é melhor do que a gravitacional devido à alta capacidade de sucção do ar realizada pela bomba de vácuo.

Os ciclos de esterilização são orientados de acordo com as especificações do fabricante, com o tipo e a quantidade de material a ser esterilizado. Para se ter uma boa esterilização, é preciso dispor o material de forma a permitir a passagem de vapor por toda a câmara de forma homogênea. Os materiais devem ser montados utilizando papel cristal, *kraft* ou plástico especial para autoclavação lacrados com fita para autoclave que serve também como indicador de que o vapor atingiu aquela superfície.

As autoclaves devem ser calibradas e validadas de seis em seis meses pela Garantia da Qualidade e deve ser feita manutenção preventiva anualmente.

3.2. Microscópio

Os estudos morfológicos da célula normalmente começam com o emprego do microscópio ótico, mais comumente denominado de microscópio de luz (por utilizar a luz como fonte de formação de imagens) ou microscópio composto (por ser constituído por dois sistemas de lentes sobrepostas: a objetiva e a ocular). Este instrumento pode ser considerado como a ferramenta básica em laboratórios da área da saúde, dessa forma dedicamos o capítulo 3 desta coleção com detalhamentos da técnica de microscopia de luz.



A observação da célula ao microscópio ótico é feita por luz transmitida, que exige que o objeto a ser estudado atenda a alguns critérios:

- Ser suficientemente fino, para que a luz possa atravessá-lo → o objeto deve ter uma espessura na ordem de $5\mu\text{m}$, tornando-se necessário fazer esfregaços finos ou, em alguns casos, realizar cortes histológicos para atingir a espessura desejada (Ver detalhes no capítulo de Técnicas Histológicas e Citológicas – capítulo 11 e 12 do volume 2 desta coleção).
- Apresentar contrastes, diferenciando as regiões celulares. Como os constituintes celulares têm pouco contraste, é necessário utilizar colorações artificiais. Os corantes são substâncias que absorvem certos comprimentos de onda da luz visível e têm afinidade por determinados constituintes celulares.

○ microscópio de luz é composto fundamentalmente das seguintes partes:

Partes mecânicas

- Pé – base do aparelho, suporta todas as outras partes.
- Braço – preso ao pé, rígido ou articulado, suporta o canhão, a platina, o condensador e o espelho ou fonte luminosa.
- Canhão – é o tubo onde se dispõem as partes óticas de ampliação. Pode ser fixo ao braço ou possuir movimento vertical.
- Revólver – é uma peça giratória onde se conectam as objetivas e que permite a instantânea mudança das mesmas.
- Platina – é a mesa de trabalho, onde se coloca a preparação para exame. Possui uma abertura central que dá passagem à luz proveniente da fonte. Pode ser fixa ao braço ou possuir movimento vertical.
- *Chariot* – é um dispositivo preso à platina, dotado de movimento antero-posterior e lateral, destinado a movimentar a preparação.

- Parafuso macrométrico – é um dispositivo destinado a dar grandes e rápidos deslocamentos verticais ao canhão ou à platina. Serve para focalização grosseira.
- Parafuso micrométrico – é um dispositivo destinado a dar pequenos e lentos deslocamentos ao canhão ou à platina. Serve para focalização fina.

Microscópio óptico:

- Ocular;
- Revólver;
- Objetiva;
- Parafuso macrométrico;
- Parafuso micrométrico;
- Platina;
- Espelho;
- Condensador.

Quanto ao sistema de iluminação, ele pode ser provido de: espelho ou fonte de luz direta, que deve estar preso à parte inferior do braço, refletindo ou projetando a luz para a parte inferior do condensador; diafragma ou íris, que, colocado sob o condensador, destina-se a restringir o diâmetro de feixe luminoso; condensador, que é um sistema ótico de refração, preso à parte inferior do braço sob a platina, podendo ou não possuir movimento vertical (e lateral para centralização), destinado a fazer convergir sobre a preparação a luz proveniente da fonte (consultar cap 3 de Microscopai de Luz).

O sistema de ampliação é formado pelas objetivas e oculares. A qualidade da visualização da imagem será proporcionada pelo poder de

resolução, que pode ser definido como a capacidade que este sistema possui de formar imagens distintas e nítidas de dois pontos situados muito próximos em uma preparação.

Objetivas de imersão (abertura numérica de uma objetiva)

Para se aproveitar uma maior quantidade de luz quando a objetiva é de grande aumento, trabalha-se com a objetiva imersa em um líquido de alta refração, em geral óleo de cedro (índice de refração de 1,575). Com o emprego desse óleo, pode-se fazer convergir o feixe luminoso proveniente do condensador, captando-se aqueles raios luminosos que, com objetivas secas, seriam perdidos. Estas objetivas são denominadas objetivas de imersão. A consequência direta do emprego dessas objetivas é o aumento da luminosidade. No caso de uma objetiva seca, não existe óleo, e o índice de refração é igual ao do ar, que é 1.

Manejo do microscópio óptico

- Colocar na objetiva de menor aumento e baixar a platina completamente. Se o microscópio foi usado corretamente antes, ele já deve estar nestas condições.
- Colocar a lâmina com a preparação sobre a platina e prendê-la com as pinças metálicas.
- Começar a observação com a menor objetiva (colocar na de 10x para observação de bactérias).
- Para obtenção do foco:
 - a) Aproximar ao máximo a lente da objetiva da lâmina, através do parafuso macrométrico. Este procedimento deverá ser realizado observando-se diretamente o local e não através da ocular, para que não haja o risco de incrustar na objetiva a preparação ou mesmo de quebrar a lâmina.

- b) Observar, através das oculares, a amostra e, através do parafuso macrométrico, ir separando lentamente a objetiva da preparação. Quando se observa a nitidez da amostra, gira-se o micrométrico para obter o foco fino.
- Ao mudar para a objetiva de 40x, deve-se redobrar a atenção, pois a partir desta o foco fica muito próximo da lâmina, sendo comum a ocorrência de danos.
 - Utilizando a objetiva de imersão:
 - a) Abaixar totalmente a platina.
 - b) Subir totalmente o condensador para visualizar claramente o círculo de luz que nos indica a zona onde devemos pingar o óleo de imersão.
 - c) Girar o revólver até a objetiva de imersão deixando-a na metade do caminho entre ela e a objetiva de 40x.
 - d) Colocar uma gota mínima de óleo de imersão sobre o círculo de luz.
 - e) Terminar de girar suavemente o revólver até a posição da objetiva de imersão
 - f) Olhando diretamente pela objetiva, levantar a platina lentamente até que a lente toque a gota de óleo. Nesse momento, a gota de óleo se levanta e se une à lente.
 - g) Focar cuidadosamente com o micrométrico. A distância de trabalho entre a objetiva de imersão e a preparação é mínima, menor do que com a de 40x. Deve-se então ter muito cuidado para não ocorrer qualquer problema durante a visualização.
 - h) Uma vez que se colocou o óleo de imersão sobre a preparação, não se pode voltar a utilizar a objetiva de 40x, pois esta objetiva se mancharia de óleo. Portanto, se desejar focar nova-

mente a mesma lâmina, utilize outro campo. Neste caso, deve-se abaixar a platina e repetir a operação a partir do passo três.

i) Uma vez finalizada a observação da preparação, se abaixa a platina e se coloca na objetiva de menor aumento girando o revólver. Neste momento, já se pode retirar a lâmina da platina. Nunca se deve retirar a amostra com a objetiva de imersão em posição de observação.

j) Limpar a objetiva de imersão com cuidado empregando um papel especial para microscopia. Verificar também se a objetiva de 40x está perfeitamente limpa.

Manutenção preventiva

- Ao finalizar o trabalho, deve-se deixar o microscópio na objetiva de menor aumento em posição de observação.
- Quando não se está utilizando o microscópio, deve-se mantê-lo coberto com capa, preferencialmente de tecido, para evitar que se suje e as lentes fiquem danificadas. Se não se utiliza o aparelho com frequência, deve-se guardá-lo em sua caixa dentro de um armário para protegê-lo do pó.
- Nunca se deve tocar as lentes com as mãos. Se elas se sujarem, devem ser limpas suavemente com papel de filtro ou papel para lentes.
- Não se deve deixar lâminas sobre a platina quando não se está utilizando o microscópio.
- Depois de utilizar a objetiva de imersão, deve-se limpar o óleo com lenços de papel especiais para ótica ou papel de filtro (menos recomendável). Em qualquer caso, deve-se passar o papel na lente em somente um sentido com suavidade. Se o óleo chegar a

secar na objetiva, deve-se limpá-la com uma mistura de álcool-éter (9:1). Não se deve abusar deste tipo de limpeza, porque o uso em excesso destes solventes poderá danificar as lentes. Nunca forçar os botões (parafusos) giratórios do microscópio (macrométrico, micrométrico, platina, revólver e condensador).

- A mudança das objetivas deverá ser realizada girando o revólver e visualizando diretamente sobre a preparação para prevenir o contato da lente com a amostra. Nunca mudar de objetiva segurando pelo tubo, nem fazê-lo observando através da ocular.

3.3. Banho-maria

O banho-maria é um equipamento utilizado em laboratórios, que permite aquecer substâncias de forma indireta (por imersão), ou seja, que não podem ser expostas a fogo direto. Também pode ser utilizado para descongelamento ou incubação de produtos biológicos.



Condições gerais:

A limpeza do equipamento deve ser feita com água potável e sabão neutro (Extran a 10%). Enxaguar bem e enxugar somente com gaze por fora. Não utilize solventes, tais como benzina, *thiner* e álcool.

Manejo:

- a) Verificar a instalação e se a voltagem da tomada é compatível com a do equipamento.
- b) Verificar o nível de água, observando que o volume ideal corresponde à metade do volume total.
- c) Verificar o tipo de água utilizada que deverá ser filtrada.

- d) Depois de ligado o equipamento, a água leva, em média, 15 minutos para aquecer.
- e) O tempo de uso vai variar de acordo com o material utilizado.
- f) Verificar sempre o nível da água, já que esta evapora e, por isso, deverá ser reposta.
- g) Com o fim do procedimento, retirar a tampa e, em alguns modelos, a capa de revestimento interno, para propiciar o despejo da água diretamente na pia.
- h) Após verificar se o equipamento está seco, recolocar a capa de revestimento e a tampa para que o equipamento fique pronto para novo uso.

3.4. Balança eletrônica de precisão

A balança eletrônica de precisão é utilizada para se pesar diferentes substâncias no laboratório de saúde.

Condições gerais:

Observar se a balança está instalada em local livre de altas temperaturas e da ação direta de correntes de ar muito fortes, tais como ventiladores. A balança deve estar instalada em local de fácil visibilidade para o operador e onde não haja vibração. Devem ser ajustados os pés reguláveis da mesma de modo que ela fique bem apoiada e nivelada (verifique a indicação do nível).

Deve-se fechar a 'porta' da balança sempre que se colocar um produto. Procure colocar o produto sobre o prato da balança com suavidade, lembrando-se sempre que se trata de um equipamento sensível. Para limpeza, utilize um pano úmido com água e sabão neutro. Não utilize solventes, tais como



benzina, *thiner* e álcool. Ao transportar o equipamento de um local para outro, sempre trave a balança e procure manuseá-la com cuidado, tomando todas as precauções para reinstalação.

Manejo:

- a) Verificar a instalação e se a voltagem da tomada é compatível com a do equipamento.
- b) A balança não deve ser desligada, permanecendo em *stand-by*.
- c) Aguarde até que haja marcação no visor.
- d) Aparte o botão relativo à calibração para iniciar a mesma.
- e) Calibre de acordo com o manual do fabricante.
- f) Quando a calibração estiver completa, aparecerá no visor vários zeros.
- g) Inicie então a pesagem.
- h) Coloque o recipiente a ser descontado sobre o prato da balança, que imediatamente mostrará seu peso no visor.
- i) Tecla 'tara' para zerar a balança.
- j) Coloque o produto a ser pesado no recipiente 'tarado', sem retirá-lo de cima do prato, e proceda a operação normal de pesagem.
- k) Caso queira eliminar a memorização da tara para obtenção do peso bruto, retire o recipiente com o produto da balança e, em alguns segundos, os visores retornarão à condição inicial ou aperte a tecla 'tara' com a balança vazia, para que o cancelamento desta função seja imediato.
- l) Após o uso, utilizar um pincel fino para retirar todos os resíduos provenientes da pesagem.
- m) Fechar o gabinete da balança e mantê-la em *stand-by*.

- n) Realizar a manutenção preventiva anualmente ou semestralmente de acordo com o fluxo de utilização.

3.5. Centrífuga

É um equipamento que acelera o processo de sedimentação devido ao movimento centrífugo de rotação acelerado, no qual as partículas de maior densidade são arremessadas para o fundo do tubo.

Condições gerais:

Observe se a centrífuga está instalada em local livre de altas temperaturas. Os pés reguláveis devem ser ajustados da mesma de modo que ela fique bem apoiada e nivelada (verifique a indicação do nível). Certifique-se das boas condições da instalação elétrica. Para limpeza, utilize um pano úmido com água e sabão neutro. Não utilize solventes, tais como benzina, *thiner* e álcool. Caso a mesma seja refrigerada, deve-se ligá-la com antecedência para que a temperatura esteja adequada antes da sua utilização.



Manejo:

- a) Verificar a instalação e se a voltagem da tomada é compatível com a do equipamento.
- b) Os tubos que irão para a centrífuga devem conter a mesma quantidade de material e devem ter o mesmo peso.
- c) Colocar os tubos, equilibrando no sentido transversal.
- d) Depois dos tubos equilibrados, deve-se fechar a centrífuga.
- e) Ligar a chave geral e ajustar o tempo e a velocidade de acordo com

o que a técnica pedir.

f) Após o término do tempo marcado, o equipamento desliga automaticamente.

g) Esperar parar totalmente e abrir a tampa, retirando os tubos.

h) Realizar a manutenção preventiva anualmente ou semestralmente de acordo com o fluxo de utilização.

3.6. Capela e Câmaras de segurança

Há muitos tipos de capelas e de câmaras, cada uma com seu próprio projeto e funcionalidade. Para identificar quais tipos você necessita ou estão presentes em seu laboratório ou saber exatamente qual tipo está presente em seu laboratório, apresentamos abaixo uma lista de definições, descrições e características técnicas, suas vantagens e desvantagens.



Capelas para Química geral & orgânica

Uma capela de exaustão é um gabinete com ventilação forçada, localizado em um ambiente laboratorial cujo *layout* deve estar corretamente projetado, de modo a proteger o operador mas não danificar o meio ambiente, utilizando um sistema de filtração que leve para fora do edifício os efluentes indesejáveis provocados por procedimentos efetuados no interior da capela.

Estes gabinetes podem ser construídos de alvenaria ou com materiais adequados para cada caso. É obrigatório que as capelas possuam uma

janela envidraçada que abra verticalmente e permaneça aberta em qualquer posição (altura), uma vez que está balanceada por um sistema de contrapesos. Em alguns casos, dispõe de um sistema defletor para direcionamento do fluxo de ar interno.

O termo 'capela de exaustão' é o mais difundido, mas outros termos também são utilizados, como capelas químicas, gabinetes, etc. As capelas de exaustão são, na realidade, um equipamento de proteção coletiva (EPC) do trabalhador em laboratório, sendo disponíveis no mercado em muitas formas, tamanhos, materiais e diferentes revestimentos, e devem ser configurados para acomodar uma grande variedade de procedimentos químicos. Entretanto, esta flexibilidade pode oferecer equipamentos que resultem em diferentes desempenhos e níveis de proteção ao operador (Para mais detalhes, veja o capítulo 1 de Biossegurança).

Câmaras ou Cabines de segurança biológica e fluxos laminares

As câmaras ou cabines de segurança biológicas (CSB) e os fluxos laminares são usados para a manipulação de agentes biológicos, produção de diluentes e imunobiológicos, meios de cultura e diversos materiais que precisam ser processados em ambiente estéril. Além disso, algumas capelas de fluxo laminar não apenas protegem o operador da exposição de produtos biológicos como também precisam garantir a segurança do produto e do ambiente. Dessa forma, existem diferentes modelos de cabines, mas todos possuem filtros absolutos ou filtros Hepa, que possuem alta eficiência (no mínimo, 99,97% na coleta de partículas de até 0,3 micros) e devem ser substituídos periodicamente de acordo com sua saturação.

Os fluxos podem ser encontrados em dois modelos, chamados de "bancada limpa" que não são de câmaras de biossegurança, pois ou liberam ar filtrado (HEPA) para a superfície de trabalho ou para o operador:

- **Fluxo vertical** – Protege, principalmente, o operador das substâncias que está manuseando.

- **Fluxo horizontal** – Protege, principalmente, o produto que está sendo processado. Somente poderão ser envasados ou manipulados materiais que não tragam riscos de contaminação ao operador.

As cabines de segurança biológica podem ser divididas em 3 classes, sendo a classe II com várias subdivisões:

- **Classe I** – Fornece segurança pessoal e ambiental, mas não do produto, funcionando como uma coifa provida de filtro HEPA para proteção ambiental. Sua utilidade no laboratório é muito limitada, é geralmente usada para acondicionar equipamentos que podem gerar aerossóis, como centrífugas.
- **Classe II** – Pode ser subdividida em vários tipos (A, B1, B2 e B3). Fornece proteção pessoal ambiental e do produto. O ar é captado pela grelha frontal protegendo o operador e passando por filtros HEPA, diminuindo a contaminação na superfície de trabalho interna. Na do tipo A, o ar filtrado é recirculado ao laboratório, sendo a mais comum nos laboratórios brasileiros devido ao fator custo/benefício. Dentre as câmaras do tipo B e B1, é a mais simples, funcionando como a do tipo A, porém com exaustão externa. Na do tipo B2, não há nenhuma recirculação de ar dentro da câmara, o ar que entra é filtrado, com retenção biológica e química e filtrado antes de ser eliminado para o exterior. Na B3, a mais cara desta categoria, o cuidado para não haver nenhum tipo de vazamento de resíduo químico ou biológico é maior, protegendo mais o ambiente.
- **Classe III** – Fornece proteção máxima ao ambiente e ao operador. Foi construída para atividades com nível 4 de biossegurança, é hermeticamente fechada com visor fixo, e tem luvas de borracha resistentes e acopladas. Seu acesso é feito por caixa de porta dupla que poderá ser descontaminada após a operação, além de os filtros possuírem um incinerador de ar.

Condições gerais:

Verificar a voltagem da tomada da capela (110 ou 220 volts).
Passar desinfetante não corrosivo antes e depois da operação se a categoria do equipamento permitir.

Manejo:

- a) Ligar a ventilação e a lâmpada ultravioleta por dez a quinze minutos. Durante esse tempo, não se deve aproximar da capela.
- b) Após esse tempo, desligar a lâmpada ultravioleta e ligar a luz fria.
- c) Se houver mostrador, verificar se a pressão da ventilação está ideal.
- d) Utilizar luvas durante a manipulação do material biológico, tomando cuidado para não fazer movimento muito brusco para não contaminar o material.
- e) Durante a manipulação do material, somente as mãos do operador poderão estar no interior do equipamento.
- f) Terminado o procedimento, desinfetar a bancada e desligar a luz fria e a ventilação.
- g) Se o equipamento apresentar algum problema no seu funcionamento, como falta de luz, por exemplo, os fusíveis ou as lâmpadas deverão ser trocadas antes de chamar a manutenção.
- h) Uma vez por ano, deve-se agendar com o técnico para que seja feita a manutenção preventiva.

3.7. Forno/estufa

Esse equipamento é muito utilizado em laboratórios de saúde, mas possui duas possibilidades de uso. A primeira se refere à esterilização de materiais e geralmente isso é feito na temperatura de 180°C, durante duas horas. Nesse caso, chamamos de 'forno' para secar e esterilizar materiais (forno Pasteur). A segunda tem como finalidade o acondicionamento de meios de cultura proporcionando o crescimento de microrganismos em temperaturas controladas, geralmente utilizando 36°C para bactérias e 25°C para fungos.



Condições gerais:

Tanto o forno quanto a estufa devem ter câmara externa e interna confeccionadas em aço com isolamento interno e na porta. A porta poderá ser do mesmo material da carcaça ou de vidro especial, que permita a visualização da parte interna. Existem vários modelos com capacidade que vai de vinte a mais de trezentos litros e número variado de prateleiras. Precisam ser providos de termostato de controle, indicador de temperatura (termômetro) e regulador de temperatura.

Manejo:

- a) O equipamento deverá ser mantido na temperatura desejada (controle interno com termômetro de máximo e mínimo).
- b) Não se deve abrir toda hora a porta do forno/estufa e nem deixar a porta aberta.
- c) Não se deve guardar nenhum tipo de alimento nem utilizar o equipamento para aquecê-los.

- d) Todo material guardado no forno/estufa deverá ser etiquetado, inclusive com o nome do responsável.
- e) Deverá ser observado o tempo de incubação dos lotes e dos diferentes microrganismos de acordo com suas necessidades, no momento da retirada dos produtos armazenados.
- f) Deverá ser observado o tempo necessário à esterilização/secagem no caso da utilização como forno.
- g) A cada dois meses, deve-se proceder à limpeza total.

A limpeza deve ser feita da seguinte maneira:

- Desligue o aparelho no botão “on/off” e retire a tomada;
- Abra as portas, deixando-as abertas durante todo o processo;
- Passe um pano para secar;
- Passe um pano com desinfetante hipoclorito de sódio (100 ppm).

4. Vidrarias de laboratório

As vidrarias de laboratório são categorizadas de acordo com o fim a que se destinam. Sendo assim, cada laboratório vai demandar características específicas e muitas vezes com alto grau de exigência, de tal forma que não se poderá generalizar as especificações, as lavagens e os tratamentos para todas as vidrarias. Por exemplo, um laboratório de química necessitará de vidrarias volumétricas aferidas enquanto um laboratório de bacteriologia terá como primeira exigência vidrarias estéreis. Se utilizarmos as vidrarias de um laboratório de química para atendermos as necessidades dos microbiologistas, isto é, esterilizarmos tal material em forno ou autoclave, deixaremos os técnicos de química na mão, pois, na primeira esterilização, toda vidraria perderá a aferição e as vidrarias volumétricas construídas para se ter precisão não poderão mais ser utilizadas para este fim – com a dilatação do vidro submetido ao calor, termina-se por descalibrar totalmente a referida vidraria.

As vidrarias volumétricas são construídas para conter precisamente um dado volume líquido e, com exceção das pipetas, possuem forma de pera, fundo chato e gargalo comprido. Podem ser providas ou não com tampa esmerilhada e normalmente são feitas de vidro resistente e com qualidade química que não altere o produto no seu interior. As vidrarias que têm como objetivo medir volumes líquidos devem ser calibradas para conter ou, então, para livrar os volumes requeridos.

Existem, ainda, utensílios semelhantes aos descritos a seguir, manufaturados em outros materiais como polímeros especiais. Seu uso depende da necessidade do laboratório e, em alguns casos, podem ser descartáveis.

Balão de fundo chato

Utilizado como recipiente para conter líquidos ou soluções, ou mesmo para fazer reações com desprendimento de gases. Pode ser aquecido em banho-maria quando não for necessária sua característica volumétrica precisa.



Balão de fundo redondo



Deverá ser utilizado acoplado a um suporte, uma vez que esse tipo de vidraria não possui estabilidade para ser colocado na bancada sem apoio. Normalmente, é empregado em sistemas de refluxo e evaporação a vácuo, conectado a um roto-evaporador.

Balão volumétrico

O balão volumétrico é um recipiente em forma de pera, de fundo plano e com um gargalo retilíneo, comprido, estreito e com tampa que possui volume definido. É utilizado para o preparo de soluções em laboratório.



Erlenmeyer

Este frasco é ideal para armazenar, aquecer e misturar produtos, podendo ser também utilizado em preparo de meios de cultura. Os modelos graduados são muito usados nos laboratórios de química para a realização de titulações com auxílio da bureta.



Becker



É um tipo de recipiente de uso geral em laboratório, normalmente utilizado para fazer reações entre soluções, dissolver substâncias sólidas, efetuar reações de precipitação e aquecer líquidos. Geralmente graduado, pode ser usado para efetuar medidas imprecisas (normalmente com precisão variante em 5% do marcado). Há dois tipos de *becker*: o de forma baixa e o de forma alta.

Tubo de ensaio

Tubos de vidro empregados para fazer reações em pequena escala, principalmente em Microbiologia e Hematologia. São utilizados com ou sem tampa, em várias atividades (ex.: centrifugação, triagem, cultura, etc.). Podem ser aquecidos utilizando acessórios apropriados, diretamente sob a chama do bico de Bunsen, em movimentos circulares.



Pipeta graduada

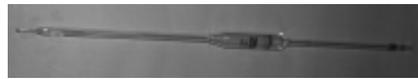


Vidraria constituída por um tubo de vidro graduado utilizado para medir e transferir

volumes. Permite medir volumes variáveis, portanto, não pode ser aquecida. Não é vidraria de escolha para realizar medições precisas em química, uma vez que para tal existem as pipetas volumétricas.

Pipeta volumétrica

Vidraria constituída por um tubo de vidro com um bulbo na parte central. O traço de referência relativo ao volume definido é gravado na parte do tubo acima do bulbo. É usada para medir líquidos com elevada precisão. Não deve ser aquecida.



Bureta



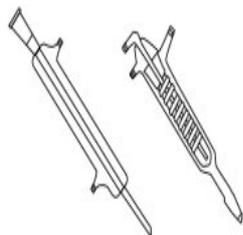
Aparelho utilizado em análises volumétricas, que consiste em um tubo longo com graduações permanentes em linhas bem delineadas a fim de facilitar a leitura. Acompanha torneira de vidro ou teflon que permite o escoamento dos líquidos de forma uniforme. Geralmente, usada em laboratórios de química para práticas de titulações.

Proveta

Instrumento cilíndrico graduado utilizado para medir e transferir volumes variáveis de líquidos em grandes quantidades, se necessário. Pode ser encontrada em diferentes volumes. Não pode ser aquecida.



Condensador



Utilizado na destilação, tem como finalidade condensar vapores gerados pelo aquecimento de líquidos. Os mais comuns são os de Liebig e o de serpentina.

Funil de separação

Utilizado na separação de líquidos não miscíveis e na extração líquido/líquido.



Kitassato



Utilizado em conjunto com o funil de Buchner em filtrações (sob sucção) a vácuo. É constituído de um vidro espesso e um orifício lateral.

Dessecador

Recipiente fechado hermeticamente, contendo um agente desumidificante, usado para guardar substâncias em atmosfera com baixo índice de umidade.



Bastão de vidro

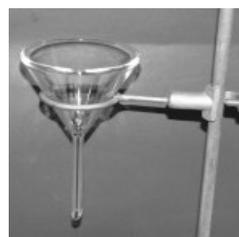


O bastão de vidro é utilizado para agitar substâncias, facilitando a

homogeneização. Auxilia também na transferência de um líquido de um recipiente para outro.

Funil analítico

Usado na filtração e para retenção de partículas sólidas, podendo ser colocado papel de filtro no seu interior. Não deve ser aquecido. Pode ser de vidro borosilicato ou de vidro alcalino. Possui diferentes tamanhos que vão definir sua capacidade volumétrica (ex.: 15 ml, 30 ml, 60 ml, 125 ml, 500 ml, 1.000 ml).



Funil de Buchner



Instrumento de porcelana utilizado em filtrações a vácuo. Pode ser usado com a função de filtro em conjunto com o kitassato.

Vidro de relógio

Peça de vidro de forma côncava usada para separar pequenas quantidades de substâncias, evaporar pequenas quantidades de soluções, cobrir béqueres e outros recipientes, além de auxiliar na pesagem de substâncias não voláteis e não higroscópicas. Por ser frágil ao calor direto, não pode ser aquecido.



Gral e pistilo



O gral também é chamado de almofariz. Usado na trituração e pulverização de sólidos em pequena escala. Pode ser de diferentes materiais (porcelana, ágata ou polietileno) e diversos tamanhos (100 ml, 180 ml, 305 ml, 610 ml e 1.160 ml).

Cadinho

Peça geralmente de porcelana, mas que também pode ser de ferro, chumbo ou platina, cuja utilidade é aquecer substâncias a seco e com grande intensidade de calor, por isto pode ser levado diretamente ao bico de Bunsen.



Cápsula de porcelana



Peça de porcelana que apresenta paredes finas que não resistem ao atrito, usada para evaporar líquidos das soluções e na secagem de substâncias em estufas. Pode ser empregada, também, para a fusão de materiais sólidos e ceras, não devendo ser utilizada na preparação de fórmulas farmacêuticas, pois podem liberar íons.

4.1. Outros equipamentos

Anel ou argola

Acessório usado para fixar alguns tipos de funil no suporte para a realização da filtração.

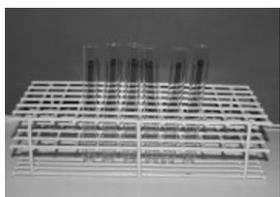


Espátulas e colheres

Instrumentos confeccionados em inox ou polipropileno utilizados para transferir pequenos volumes ou misturar soluções, sendo encontrados no mercado em diferentes tamanhos e formatos.



Estante para tubos de ensaio



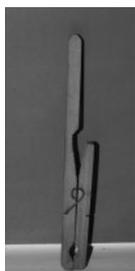
Instrumento confeccionado em madeira ou metal (aço inox, alumínio, etc.), usado como suporte para tubos de ensaio. Possui diferentes diâmetros e alturas para diferentes espessuras e comprimento de tubos. Pode ser levada à estufa e, em alguns casos, à câmara fria.

Garra de condensador

Acessório de metal utilizado para prender o condensador à haste do suporte ou outras peças como balões, erlenmeyers, etc.



Pinça de madeira



Acessório cuja finalidade é prender o tubo de ensaio para que ele seja levado à chama e possa ser manipulado, muitas vezes, fazendo uma pequena agitação durante o aquecimento.

Pinça metálica



Também chamada de tenaz, é um acessório usado para manipular objetos aquecidos, como cadinhos e cápsulas, entre outros.

Pissete ou frasco lavador

Garrafinha plástica com bico acoplado usada para lavagens de materiais através de jatos de água, álcool ou outros solventes. Também serve como recipiente para esses líquidos.



Suporte universal



Acessório feito em ferro utilizado em operações como filtração, suporte para condensador, bureta, sistemas de destilação, etc. Serve também para sustentar peças em geral.

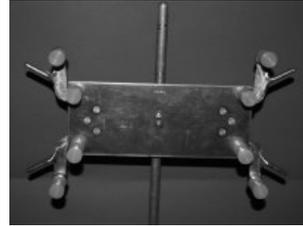
Tripé

Acessório usado para ser colocado sobre a chama, geralmente, do bico de Bunsen, com o objetivo de efetuar aquecimentos de soluções em vidrarias diversas de laboratório.



Garra dupla

Acessório confeccionado em metal utilizado para fixar buretas ao suporte universal, principalmente nas práticas de titulação.



Referências Bibliográficas

- BENNETT, J. W. & CHUNG, H. T. Alexander Fleming and discovery of penicillin. *Adv. Appl. Microbiol.*, 49: 163 – 184, 2001
- BEST, M. & NEUHAUSER, N.. Ignaz Semmelweis and the birth of infection control. *Qual Saf. Health Care.* 13(3): 233-234, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Controle de Infecção Hospitalar. *Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde.* Segunda Edição: Brasília, 1994.
- BRASIL. ANVISA, *Resolução 2606.* Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde, 11 de agosto de 2006.
- BREWER, CM, Variations in Phenol Coefficient Determinations of Certain Disinfectants. *American Journal of Public Health*, vol. 33, 261-264. March, 1943
- DUBOS, R.. *Pasteur and modern science.* Anchor Books and Doubleday & Co. Inc, Garden City: NY, 1960.
- FREITAS, Marcelo Bessa de, BRILHANTE Ogenis Magno e ALMEIDA, Liz Maria de. Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. *Cad. Saúde Pública* vol.17 no.3 Rio de Janeiro Maio/Junho, 2001.
- MOROZOWSKI, E. Contenção primária de riscos biológicos. Seleção instalação e uso de gabinetes de segurança biológica. HCL, Curitiba, 68p.1997.
- MOROZOWSKI, E. Contenção primária de riscos biológicos. Seleção instalação e uso de gabinetes de segurança biológica. HCL, Curitiba, 68p, 1997.
- TYNDALL, J.P. On heat as a germicide when discontinuously applied. *Proceedings of the Royal Society of London*, 25: 569, 1877.