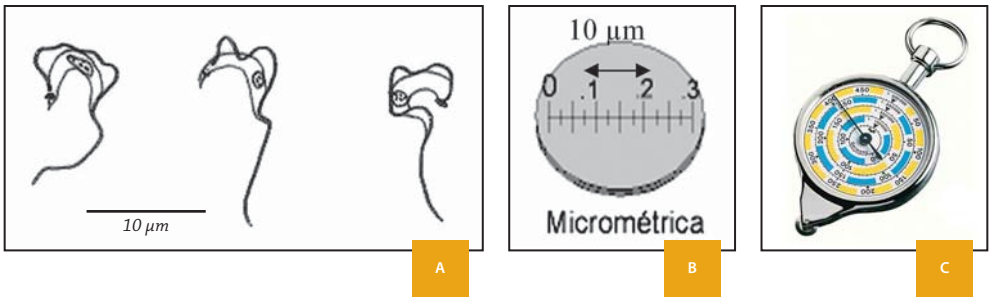
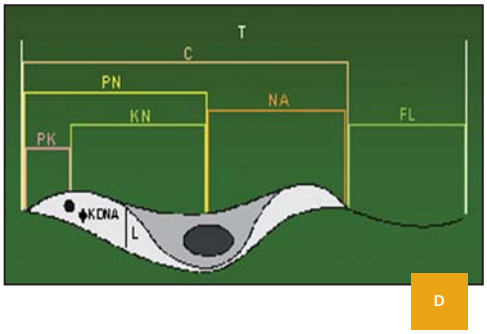
Anexos do Módulo II

É o procedimento técnico onde são tiradas as medidas dos parasitos, em centímetros, com o auxílio de régua e curvímetro, das imagens dos parasitos que foram desenhadas com auxílio de uma câmara clara acoplada ao microscópio.

Antes do início dos desenhos é necessário fazer uma escala onde o trabalho será realizado. Para isso, desenha-se um traço equivalente a 10 µm com base numa lâmina micrométrica (1 mm/ 0,1), observando a combinação ocular x objetiva em que os desenhos serão feitos. O traço obtido é medido com uma régua para a dedução do fator de multiplicação, a partir do qual se fará a conversão de cm em milímetros (cm —> mm). Após o desenho, no papel, deverá ser feita a mensuração com o curvímetro pela parte mediana do parasita de acordo com o segmento que interesse.



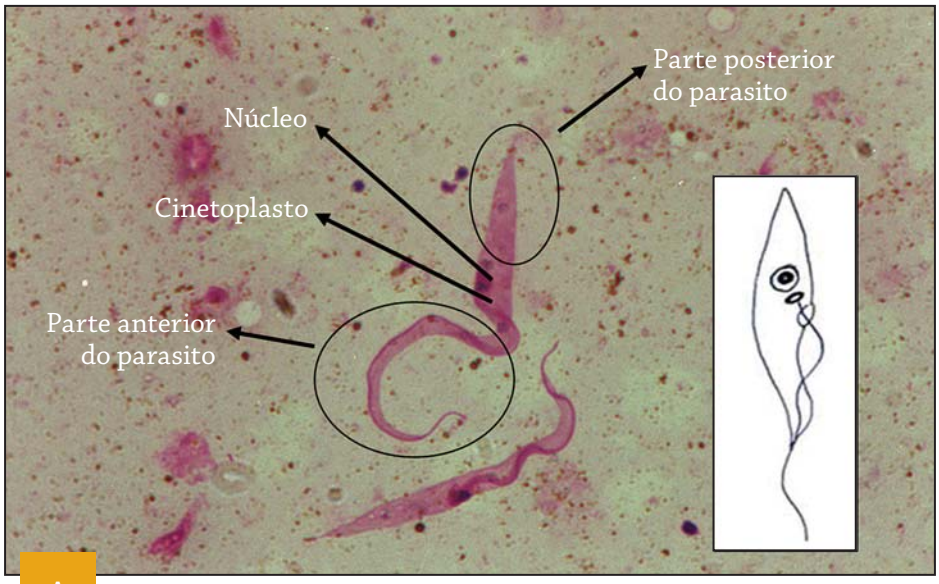


Fontes: http: www.rc.unesp.br/igce/petrologia/nardy/moocularlipo.html e www.gisiberica.com/curvimetros/cu008.6.jpg.

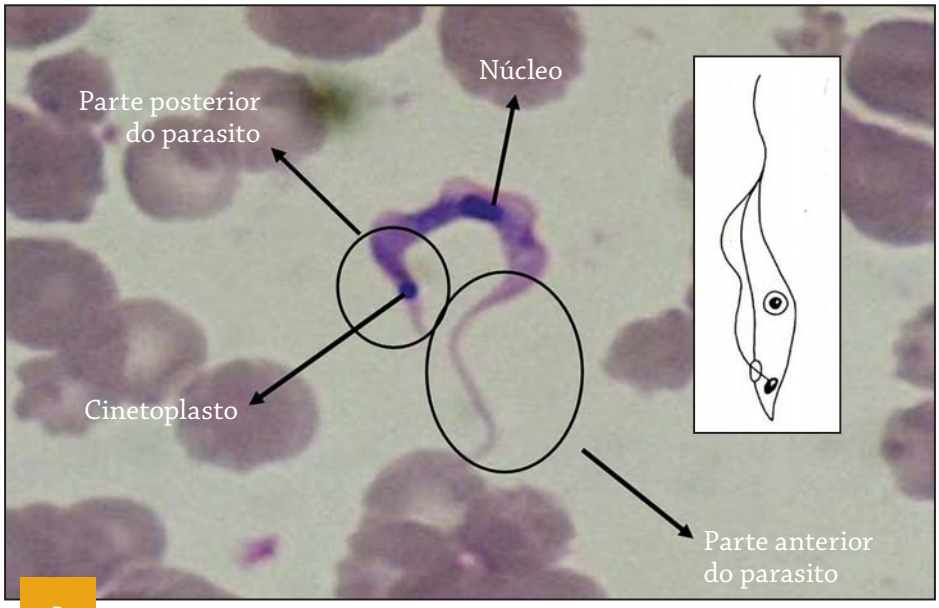
Figura 14: Desenho sugestivo de *T.cruzi* feito com a utilização de câmara clara (A), escala micrométrica (B), curvímetro (C) e esquema com as diferentes medidas morfométricas (D).

Escala micrométrica (objetiva) onde cada traço maior corresponde a 10 µm e que deverá ser copiada no papel através da câmara clara para o cálculo do fator de conversão.

C ..... comprimento de corpo sem o flagelo livre
FL ..... comprimento do flagelo
PN..... distância que vai da extremidade posterior ao meio do núcleo
L ..... largura do corpo (sem membrana ondulante)
NA ..... distância do meio do núcleo a extremidade anterior
T ..... comprimento do corpo incluindo o flagelo
PK..... distância que vai da extremidade posterior ao meio do cinetoplasto
KN ..... distância do meio do cinetoplasto ao meio do núcleo
Ø kDNA... diâmetro do cinetoplasto



A

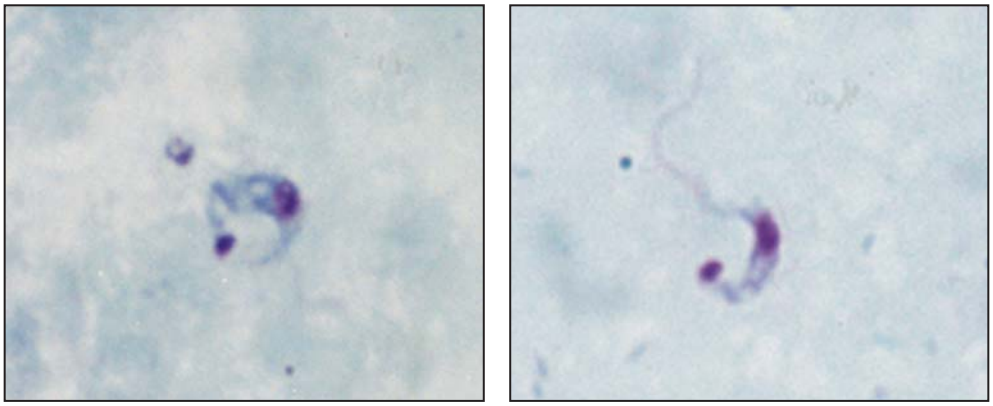


B

Fotos de Carlos José de Carvalho Moreira.
Desenhos adaptados do site http://webs.cb.uga.edu/~striepen/medpara/tryps3.ppt
por Carlos José de Carvalho Moreira e Angela C. V. Junqueira.

Figura 15: Morfologia de uma forma epimastigota (A) e de uma forma tripomastigota (B).

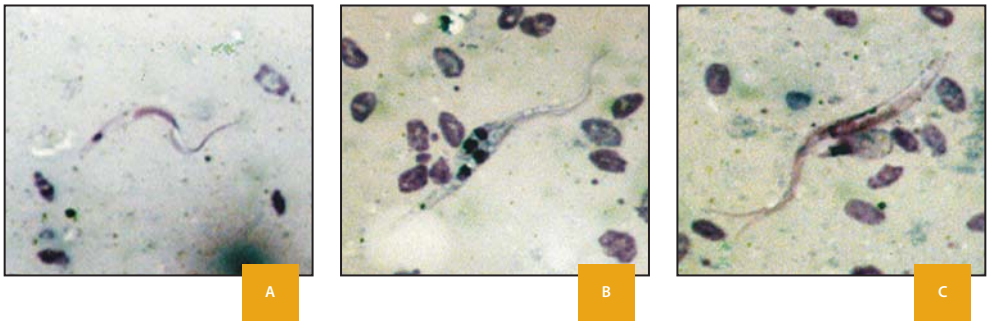
Formas tripomastigotas de *T.cruzi*, em lâminas de sangue de indivíduos com suspeita de malária.



Fotografias de Maria Celeste D. Spata e Ângela C. V. Junqueira.

Figura 16: Morfologia de formas tripomastigotas sanguíneas.

Formas de *T.cruzi*, em lâminas de tubo digestivo de triatomíneos infectados experimentalmente.



Fotografias de Maria Celeste D. Spata.

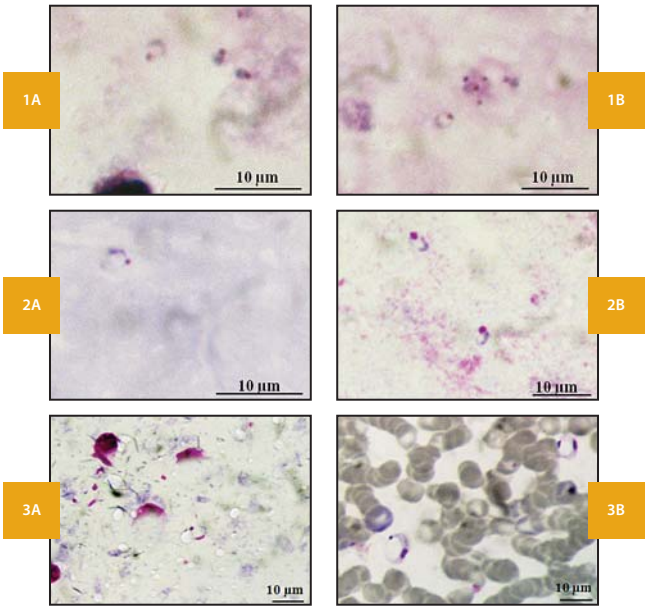
Figura 17: Morfologia de formas tripomastigota (A) e epimastigotas (B, C).

Formas de *Trypanosoma rangeli,* em lâmina de sangue, glândula salivar e hemolinfa de triatomíneos infectados experimentalmente.

Fotografias de Maria Celeste D. Spata.

Figura 18: Morfologia de formas do *T. rangeli* no hemolinfa (A) e nas fezes (B, C).

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DE FORMAS SANGÜÍNEAS



Fotografias de Angela C. V. Junqueira.

Figura 19: Formas trofozoítas de *Plasmodium falciparum* (1A, 1B), trofozoítas de *Plasmodium vivax* (2A, 2B) e tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* (3A, 3B).

Avaliação - 1 - AVALIAÇÃO ATRAVÉS DOS RESULTADOS DAS LEITURAS DAS LÂMINAS DOS MICROSCOPISTAS DE MALÁRIA

Antes de ser implantada de forma ampla a vigilância da doença de Chagas compartilhada com a vigilância da Malária na Amazônia Brasileira, como parte de um estudo piloto, estamos estudando a possibilidade de que seja avaliada junto com os responsáveis pelo Programa de Malária do Ministério da Saúde, a possibilidade de que os dados da **Ficha de Notificação/SINAN/Malária** sejam compartilhados com as seguintes informações adicionais na referida ficha:

47. Realizada pesquisa de *Trypanosoma sp.* na lâmina:

1.Sim 2.Não

48. Caso sim, resultado do exame:

1. Negativo 2.*T.cruzi* (Tc) 3. *T.rangeli* (Tr) 4. Infecção mista (Tc+Tr)

5. Dúvida na identificação da espécie do gênero Trypanosoma

49. Parasitemia em cruzes

1_ < +/2 (menor que meia cruz); 2_ +/2 (menor que meia cruz)

3_ + (uma cruz); 4_ ++ (duas cruzes); 5_ +++ (três cruzes);

6_ ++++ (quatro cruzes)

50. No caso de infecção mista (Tc+Tr) a parasitemia em cruzes:

1_ *T.cruzi*

1_ < +/2 (menor que meia cruz); 2_ +/2 (menor que meia cruz)

3_ (uma cruz); 4_ ++ (duas cruzes); 5_ +++ (três cruzes);

6_ ++++ (quatro cruzes)

2_ *T.rangeli*

1_ < +/2 (menor que meia cruz); 2_ +/2 (menor que meia cruz)

3_ + (uma cruz); 4_ ++ (duas cruzes); 5_ +++ (três cruzes);

6_ ++++ (quatro cruzes)

Através da anotação dos dados acima na **Ficha de Notificação/SINAN/Malária,** será possível um aumento na notificação dos casos de doença de Chagas aguda (DCA). Essa informação seria disponibilizada para a equipe do Programa Nacional de Controle da Doença de Chagas **(PNCDCh/SVS/MS)** permitindo um estudo da **"busca passiva"** dos casos de DCA na Amazônia Brasileira. Um caso índice deverá desencadear a **"busca ativa"** de outros casos positivos, pois a ele podem estar associados outros tantos casos de Doença de Chagas Aguda **(DCA)** como de Doença de Chagas Crônica **(DCC).** Essa investigação deverá se iniciada, imediatamente, através da pesquisa direta dos comunicantes do caso índice. Ressaltamos que para isso ocorra, a equipe do Programa de Malária deverá ser consultada e aprovar tal inclusão.

Avaliação -2 - AVALIAÇÃO ATRAVÉS DOS LABORATORISTAS RESPONSÁVEIS PELA LEITURA DA CONTAGEM ESPECÌFICA DE LEUCÓCITOS NAS PROVAS HEMOGRAMA

1. Realizada pesquisa de *Trypanosoma sp.* na lâmina para contagem específica de leucócitos:

   1.Sim 2.Não

2. Caso sim, resultado do exame:

   1. Negativo 2. *T.cruzi* (Tc) 3. *T.rangeli* (Tr) 4. Infecção mista (Tc+Tr)

   5. Dúvida na identificação da espécie do gênero Trypanosoma

3. Parasitemia em cruzes

   1_ < +/2 (menor que meia cruz); 2_ +/2 (menor que meia cruz)

   3_ + (uma cruz); 4_ ++ (duas cruzes); 5_ +++ (três cruzes);

   6_ ++++ (quatro cruzes)

4. No caso de infecção mista (Tc+Tr) a parasitemia em cruzes:

   1_ *T.cruzi*

   1_ < +/2 (menor que meia cruz); 2_ +/2 (menor que meia cruz)

   3_ + (uma cruz); 4_ ++ (duas cruzes); 5_ +++ (três cruzes);

   6_ ++++ (quatro cruzes)

   2_ *T.rangeli*

   1_ < +/2 (menor que meia cruz); 2_ +/2 (menor que meia cruz)

   3_ (uma cruz); 4_ ++ (duas cruzes); 5_ +++ (três cruzes);

   6_ ++++ (quatro cruzes)

Avaliação - 3 - AVALIAÇÃO ATRAVÉS DOS LABORATORISTAS QUE EFETUARAM OUTRAS PROVAS PARASITOLÓGICAS DIRETAS DE CONCENTRAÇÃO: Método de Strout ( ) ou Microhematócrito ( ) ou QBC® ( ).

1.Realizada pesquisa de Trypanosoma sp anteriormente na gota espessa

1.Sim 2.Não

2.Caso sim, qual o resultado da gota espessa:

1. Negativo 2. *T.cruzi* (Tc) 3. *T.rangeli* (Tr) 4. Infecção mista (Tc+Tr)

5. Dúvida na identificação da espécie do gênero Trypanosoma

3. Qual o resultado das provas parasitológicas diretas de concentração

1. Negativo 2. Positivo para Tripanosoma sp

Para confirmar a identificação deverá ser efetuada uma distensão (esfregaço) do material para identificação da espécie

MONTAGEM PERMANENTE DE LÂMINAS CORADAS UTILIZANDO ENTELLAN® (*)

1) Após finalização de procedimento de coloração, pegar com um bastão de vidro aproximadamente uma gota de Entellan® (ou mais, dependendo da quantidade de material sobre a lâmina) e depositar sobre o esfregaço. Tomar o cuidado de colocar o entellan de uma só vez, formando uma gota única, homogênea e sem bolhas;

2) Pegar uma lamínula limpa em álcool-éter 1:1 e colocá-la sobre a gota de Entellan®. Essa etapa também deve ser realizada com cuidado, procurando depositar a lamínula de forma mais paralela possível em relação à lâmina e de uma vez só, evitando ao máximo a formação de bolhas;

3) Em seguida, a lâmina deverá ser colocada na horizontal em bancada ou suporte sem inclinação, para que o Entellan® se espalhe lentamente por capilaridade ao longo de toda a lamínula. Deve-se aguardar a lâmina estar completamente seca para ser analisada em microscópio ótico (aumento de 1000 vezes). Isso demora mais de 24 horas;

4) Se a amostra corada ocupar grande parte do comprimento da lâmina empregar uma lamínula retangular (tipo a usada na técnica de fluorescência indireta). É importante que todo o espaço ocupado pela amostra biológica sobre a lâmina fique "coberto" com uma lamínula;

5) Se o Entellan® endurecer, colocar um pouco de xilol dentro do frasco e a seguir deixar aquecer por algumas horas;

6) Verificar o tipo de corante usado na coloração, pois no caso do Entellan® ele tende a descorar alguns corantes, tipo eosina azul de metileno.

(*) = Caso não disponha de Entellan®, empregar bálsamo do Canadá sintético;

CÁLCULO DE FATOR DE CORREÇÃO DE UM MICROSCÓPIO (Brener, 1961)

MATERIAL

- Microscópio – objetiva de 40x

- Lamínula - tamanho 22x22

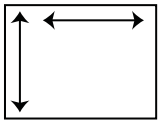
- Pipeta de Salhi ou pipeta automática – dividida em 5µl

- Lâmina – tamanho comum

METODOLOGIA

Colocar 5µl de sangue, com pipeta de Salhi (ou micropipeta automática) na lâmina e sobre esta lamínula 22x22. Distribuir esse sangue por toda a lamínula. Contar quantos campos existem de um lado ao outro da lamínula, no sentido horizontal e vertical, pelo menos 3 vezes. Feito isto tiraremos a média.

Ex:



Contagem horizontal = 49 campos microscópicos

Contagem vertical = 49 campos microscópicos

Após achar a média, no caso 49, calcular o total de campos presentes por toda a lamínula.

49 x 49 = 2401 (total de campos)

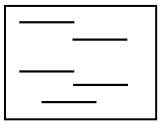
Como a contagem é feita em 50 campos, dividir o número total de campos da lamínula por 50, com a finalidade de achar quantos 50 campos existem na lamínula toda. Logo 2401 / 50 = 48,02

No exemplo acima o fator de correção é 48.

CONTAGEM DO NÚMERO DE PARASITOS

Após verificar o número de formas tripomastigotas em 50 campos microscópicos, multiplicar este valor pelo fator de correção.

Ex:



1 forma tripomastigota em 50 campos = 1 x 48 = 48 formas

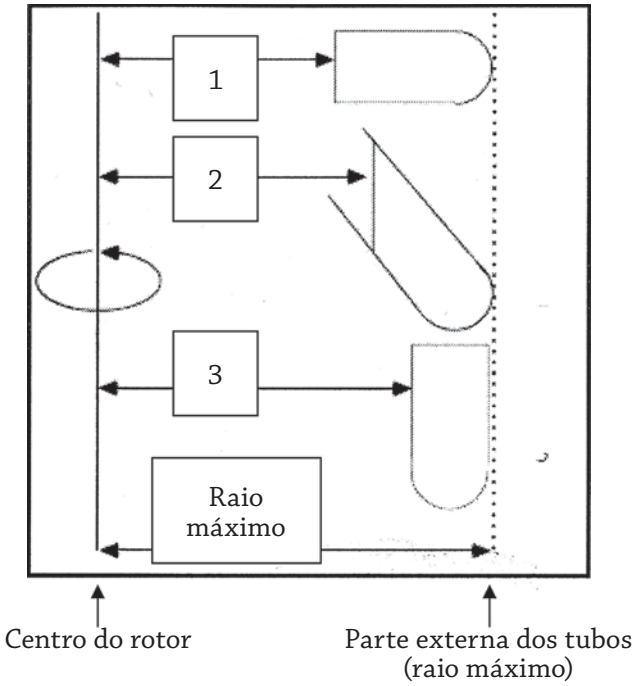
1 traço = 10 campos / 5 traços= 50 campos

CÁLCULO DA FORÇA CENTRÍFUGA RELATIVA (FCR/G) A PARTIR DO NÚMERO DE ROTAÇÕES POR MINUTO (RPM) OU CÁLCULO DO NÚMERO DE ROTAÇÕES POR MINUTO (RPM) A PARTIR DA FORÇA CENTRÍFUGA RELATIVA (FCR/G)

1) Cálculo do raio máximo:

Em primeiro lugar temos que conhecer com exatidão o raio de rotação da centrífuga, que depende do tipo de rotor utilizado. Nem todos os fabricantes de centrífuga informam esta medida no manual do aparelho. Neste caso, devemos efetuar os procedimentos descritos a seguir:

Como a figura ilustra, o raio deve ser medido desde o centro do rotor até o final dos tubos, quando em rotação. A seta indica o raio máximo (R_{max}), que corresponde à medida do centro do eixo até a parte mais externa dos tubos.



Fonte: Princípios Básicos da Centrifugação
(Modificada do site: www.coleparmer.com/techinfo/techinfo.asp?htmlfile=basiccentrifugation_PO.htm&ID=911).

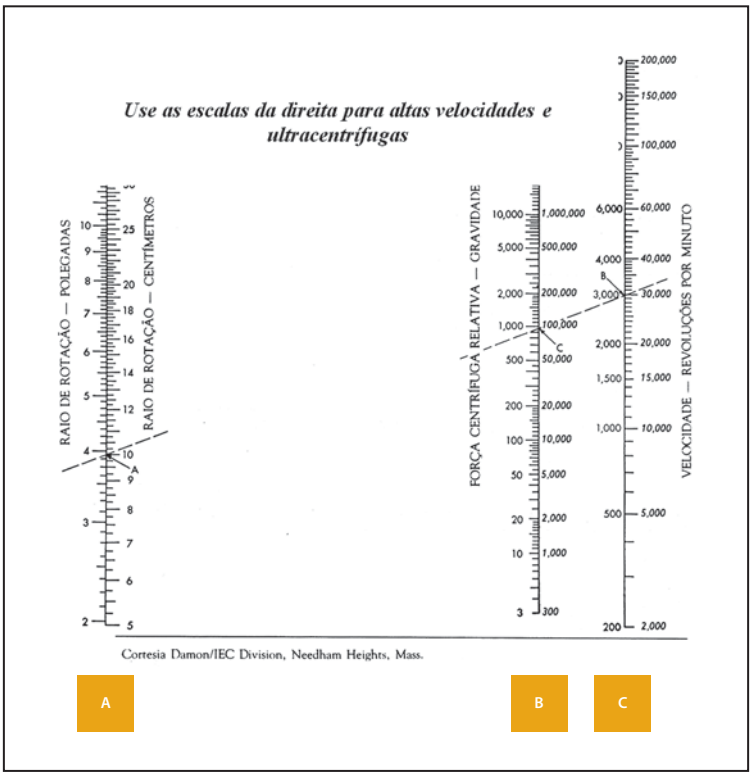
Figura 20: A figura acima exemplifica diferentes tipos de rotores: móvel ou horizontal (caso 1), em ângulo fixo (caso 2) e vertical (caso 3).

2) Cálculo de *g* ou *rpm* a partir de duas variáveis conhecidas:

A seguir demonstraremos duas possibilidades de fazer as conversões através do uso de uma escala denominada nomograma de força centrífuga ou através da utilização de uma fórmula matemática.

2.1) Utilizando o nomograma (*) de força centrífuga:

Após a mensuração do raio de rotação da centrífuga, podemos utilizar o nomograma de força centrífuga impresso abaixo, onde as escalas A, C e B representam respectivamente raio, *g* (força centrífuga relativa - gravidades) e *rpm* (velocidade - revoluções por minuto).



Fonte: Campbell, J M; Campbell J B.
Matemática de Laboratório: aplicações médicas e biológicas São Paulo: Ed. Roca, 1986, 348 p.

Figura 21: Nomograma.

No exemplo do nomograma: para encontrar a força centrífuga relativa (g) a uma distância radial de 10 cm do centro de rotação (10 cm de raio), ao se operar a centrífuga a uma velocidade de 3000 rpm, temos que colocar uma régua na tabela, conectando o ponto de 10 cm na escala de rotação do raio com o ponto de 3000 rpm na escala de velocidade. Veja o ponto de intersecção na escala de força centrífuga relativa. No nosso caso, será igual a 1000 g (vide página anterior).

(*) A nomografia é um processo de cálculo usado pela engenharia para a resolução de problemas matemáticos utilizando gráficos chamados de nomogramas. Estes são traçados a partir de um conjunto de eixos convenientemente dispostos, em forma ordenada, permitindo resolver grupos de problemas semelhantes.

2.2) Utilizando a fórmula matemática:

FCR (força centrífuga relativa ou g) = 0,00001118 x r x N^2, onde:

FCR (força centrífuga relativa) = g

r = raio de rotação (cm)

N = velocidade de rotação (rpm)

Fonte: Campbell, J M; Campbell J B. Matemática de Laboratório: aplicações médicas e biológicas. São Paulo: Ed. Roca, 1986, 348 p.

Exemplo 1: tendo o valor de rpm e querendo calcular o valor de g

No caso do exemplo acima, em que utilizamos o nomograma, onde temos o raio igual a 10 cm e o número de rotações por minuto igual a 3.000, podemos calcular o valor de g pela fórmula. Então:

g (FCR) = 0,00001118 x 10 x N^2

g = 0,0001118x (3.000) 2

g = 0,0001118 x 9.000.000

g = 1.006,2, ou seja, g = ~ 1.000, que foi o valor encontrado no nomógrafo, no caso do exemplo anterior.

Exemplo 2: tendo o valor de g e querendo calcular o valor de rpm

O *Manual Prático de Subsídio à Notificação Obrigatória no SINAN* (anexo 2, página 20), que explica a técnica de micro hematócrito, recomenda centrifugar 75 µl de sangue incoagulável em tubo capilar, entre 5 e 10 minutos a 160 g em microcentrífuga. Podemos aplicar a fórmula para achar o valor correspondente a rotações por minuto (rpm), partindo do princípio de que a centrífuga só apresente escala para rpm. Supondo que o raio da minha centrífuga seja de 15 cm, teríamos:

$160 = 0{,}00001118 \times 15 \times N^2$

$160 = 0{,}0001677 \times N^2$

$160 / 0{,}0001677 = N^2$

$954.084{,}67 = N^2 \longrightarrow N^2 = 954.084{,}67$

$N = \sqrt{954.084{,}67}$, então, $N = 976{,}77$ rpm (~ 980 rpm).

MÉTODO TRADICIONAL DE AVALIAÇÃO DE PARASITEMIA SEMIQUANTITATIVA (EM CRUZES) PARA MALÁRIA QUE PODE SER EMPREGADO NA CONTAGEM DO *T.cruzi*

Utilizar os mesmos critérios estabelecidos para a contagem de Plasmodium sp para as lâminas onde forem detectadas formas tripomastigotas sanguíneas, enumerados abaixo:

1) Número de campos a examinar = 100.

2) Número inferior a 40 parasitos nos 100 campos examinados: anotar o número encontrado. Por exemplo: 37 formas tripomastigotas sanguíneas.

3) Quando o número total de parasitos contados situar-se entre 40 e 60 parasitos por 100 campos, registrar: 1/2 (meia cruz).

4) A partir de um parasito por campo, o resultado será registrado como uma, duas, três ou quatro cruzes, conforme o quadro a seguir:

Figura 21: Exemplo de Contador manual de células.

Parasitos contados	Número de campos microscópicos	Cruzes
40 a 60	100	½ +
1	1	+
2-20	1	++
21-200	1	+++
+ 200	1	++++

Adaptado de MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE 2005. Manual de diagnóstico laboratorial da malária (Serie A. Normas e Manuais Técnicos). Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 116 p.

Observações:

Para a contagem ter um valor semiquantitativo é de suma importância que a lâmina contenha uma distribuição uniforme do sangue.

PROCEDIMENTO DE PUNÇÃO DIGITAL PARA COLETA DE SANGUE VISANDO O PREPARO DE GOTA ESPESSA OU ESFREGAÇO

1) Calçar luvas de látex descartáveis e limpar vigorosamente a pele do local de punção (parte lateral do segundo ou terceiro dedo da mão, lóbulo da orelha ou, em lactentes, o dedo grande do pé ou calcanhar) com gaze ou algodão embebido em álcool a 70%; posteriormente, enxugar com gaze ou algodão secos;

2) Comprimir o dedo suavemente (como em ordenha) para obter outra gota de sangue esférica sobre a pele seca. Cuidar para não tocar o ponto de saída do sangue;

3) Segurar a lâmina firmemente pelas bordas da extremidade onde se encontra a etiqueta de identificação;

4) Aproximar a lâmina ao dedo do paciente (pela face onde consta a identificação) até tocar o alto da gota de sangue (evitando o contato com a pele). Se a quantidade de sangue for insuficiente, pode-se colocar outra gota ao lado da primeira;

5) Colocar a lâmina, com a face para cima, na superfície de trabalho;

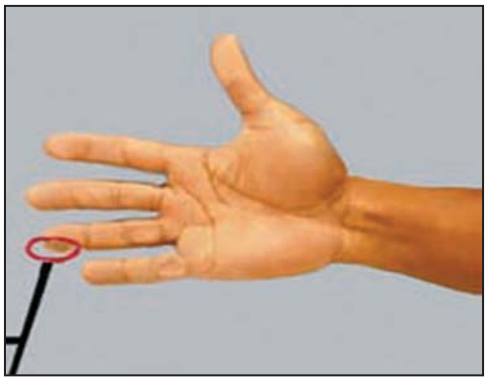
6) Com o canto e os primeiros 5 mm da borda maior da segunda lâmina, espalhar o sangue formando um retângulo de tamanho e espessura adequado (aproximadamente 1, 2 cm^2);

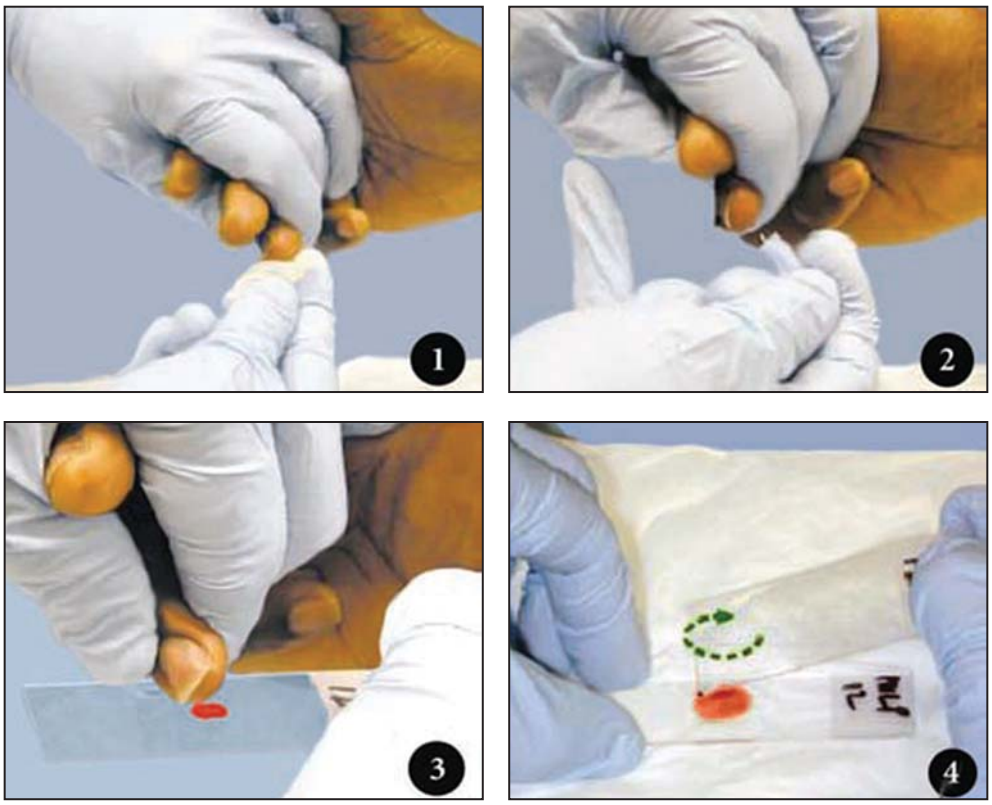
7) Limpar o local puncionado com gaze ou algodão embebido em álcool a 70% e, se necessário, pressioná-lo;

8) Secar a lâmina (em temperatura ambiente, ar morno, caixa com lâmpada ou estufa), cuidando para que o sangue não se fixe por calor excessivo;

9) Para iniciar a pré-coloração, esperar até que o sangue esteja totalmente seco. Caso contrário pode haver perda total de material.

Fonte: Adaptado de MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE 2005. Manual de diagnóstico laboratorial da malária (Serie A. Normas e Manuais Técnicos). Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 116p.





Fonte: RÉPUBLIQUE DÉMOCRATIQUE DU CONGO/MINISTÈRE DE LA SANTÉ/PROGRAMME NATIONAL DE LUTTE CONTRE LE PALUDISME (apud MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Manual de diagnóstico laboratorial da malária (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 116 p.

Figura 23: Procedimento para coleta de sangue.

PRINCIPAIS PROCEDIMENTOS DE BIOSSEGURANÇA EM LABORATÓRIOS DE PARASITOLOGIA:

Devemos sempre ter em mente que o laboratório é um ambiente hostil, onde convivem no mesmo espaço equipamentos, microorganismos, pessoas, reagentes inflamáveis, soluções, papéis, etc.

As boas práticas de biossegurança em laboratórios de Parasitologia são condutas que tentam evitar os casos de Infecções Adquiridas no Laboratório (IAL). As pessoas mais expostas a riscos de IAL são as que trabalham nos laboratórios clínicos e de pesquisa, por causa do manuseio de materiais potencialmente infectantes em larga escala.

Abaixo estão relacionadas algumas das principais normas para evitarmos acidentes laboratorias e consequentemente nos contaminarmos:

1) REGRAS GERAIS:

- Antes de entrar no laboratório prenda o cabelo, coloque uma calça comprida de tecido resistente; calce sapatos fechados anti-derrapantes (de preferência sapatos de couro) e vista uma camisa de algodão grosso (figura 26);
- Antes de começar as atividades laboratoriais, coloque os **Equipamentos de Proteção Individual (EPI)** adequados. Eles serão relacionados mais a frente;
- Lave as mãos antes e imediatamente após o manuseio de materiais químico e biológico independente do contato direto;
- Nunca pipete com a boca. Só use pipetadores automáticos ou manuais (ex.: pêras de borracha);
- Na tentativa de identificar um produto químico, nunca inale o conteúdo de frascos que tenham perdido o rótulo;
- Nunca coma, beba, ou prepare alimentos dentro do laboratório;
- Nunca fume no laboratório;
- Nunca guarde alimentos em geladeiras e congeladores utilizados para armazenamento de material biológico e/ou químico e vice-versa;
- Se você apresentar alguma ferida na mão, no pulso ou em qualquer outra parte do corpo que venha a ficar exposta durante o trabalho no laboratório não trabalhe com material patogênico ou químico;
- Evite transportar materiais químicos e/ou biológicos com agentes patogênicos vivos de um lugar para outro no laboratório. Isso aumenta o risco de acidentes. Use caixas apropriadas para esse fim (figura 24).

Fonte: Informe do IOC; Publicação do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz - Ano XII - n0 44- 30/11/2006.

Figura 24: Tipo de caixa selecionada durante o curso de transporte de material biológico, desenvolvido pela CIBio/IOC.

OBS: O transporte de amostras biológicas gera dois tipos de preocupações: a primeira relacionada à manutenção da integridade das mesmas: a) temperatura de transporte e o tempo; b) as condições de biossegurança de quem realiza o transporte e daqueles que possam vir a ter contato eventual com o material transportado.

2) PRINCIPAIS EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL (EPIs)

Dispositivos ou equipamentos utilizados para proteção individual do profissional e na prevenção de acidente nas atividades de trabalhos executados em setores e unidades que oferecem riscos de acidentes.

2.1) GORRO

O gorro é a medida de proteção que evita a contaminação dos cabelos por aerossóis, micropartículas constituídas por microorganismos, matéria orgânica e por fragmentos expelidos pela boca.

Abaixo temos algumas observações para o correto uso dos gorros:

- Prender o cabelo;
- Cobrir todo o cabelo com o gorro;
- Deixar as orelhas protegidas pelo gorro;
- Evitar brincos;
- Ao retirar o gorro, puxe-o pela parte superior central e descarte-o no recipiente de resíduos.

2.2) VISEIRA FACIAL ou ÓCULOS DE PROTEÇÃO

Devem ter a melhor transparência possível não distorcendo as imagens. Protegem os olhos e o rosto contra espirros decorrentes de procedimento que envolva material molhado, radiação de fontes eletromagnéticas (laser, microondas, ultravioleta, raios x e radiação térmica), fadiga visual associado à luz muito forte, fraca ou reflexo (Figura 25).

Abaixo temos algumas observações para o correto uso de viseiras ou óculos de proteção:

- O visor facial deve ser lavado, após o trabalho, com água e sabão se houver sangue ou secreção visível, após cada procedimento, enxaguando abundantemente com água corrente;

- Além da lavagem com água e sabão, deve-se fazer uma desinfecção com produto químico adequado ao material que constitui o visor ou dos óculos. Aos mais friáveis, que sofrem avaria com glutaraldeído ou álcool a 70%, utilizar água oxigenada;

- Esses procedimentos devem ser realizados protegendo as mãos com luvas.

Fotografia de Carlos José de C. Moreira.

Figura 25: Uso do gorro, óculos de proteção e máscara.

2.3) LUVAS

As luvas servem como barreira de proteção, prevenindo contra a contaminação das mãos durante a manipulação de material contaminado.

O uso das luvas não substitui a necessidade da lavagem das mãos porque elas podem apresentar pequenos orifícios não aparentes ou danificar-se durante o uso, podendo contaminar as mãos quando removidas.

Abaixo temos algumas observações para o correto uso das luvas:

- Usar luvas de látex sempre que houver chance de contato com sangue, fluídos do corpo, trabalho com microrganismos e animais de laboratório;
- Não usar luvas fora da área de trabalho;
- Não abrir portas usando luvas;
- Não atender telefone usando luvas;
- Nunca reutilizar as luvas, e sempre descartá-las de forma segura.

2.4) MÁSCARA

Podem ter diferentes constituições. Oferecem proteção contra partículas, substâncias ácidas, substâncias alcalinas, aldeído e para outras substâncias tóxicas.

Máscaras descartáveis com paredes duplas ou triplas são fundamentais para a proteção contra a inalação ou ingestão de aerossóis pelos profissionais e na transmissão de microorganismos.

2.5) JALECOS

São usados para formar uma barreira de proteção e reduzir o risco de transmissão de microrganismos. Previnem a contaminação das roupas, protegendo a pele da exposição a sangue e fluidos corpóreos, salpicos e derramamentos de material infectado.

Devem sempre ser de mangas longas, confeccionados em algodão ou fibra sintética (não inflamável).

Abaixo temos algumas observações para o correto uso de jalecos:

- Uso de jaleco é permitido somente nas áreas de trabalho;
- Os jalecos nunca devem ser colocados no armário onde são guardados objetos pessoais;
- Devem ser descontaminados antes de serem lavados.

Fotografia de Carlos José Carvalho Moreira.

Figura 17: Morfologia de formas tripomastigota (A) e epimastigotas (B, C).

OBS.: Devemos trabalhar seguindo todas as recomendações citadas anteriormente, pois um agente infeccioso pode estar presente em diversos fluidos corporais como sangue, licor, urina, sêmem, etc.

3) CONCEITOS E NORMAS REFERENTES À DESINFECÇÃO, ESTERILIZAÇÃO E LIMPEZA;

3.1) DESINFECÇÃO:

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

3.2) ESTERILIZAÇÃO:

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

3.3) LIMPEZA:

Processo sistemático e contínuo para a manutenção do asseio ou, quando necessário, para a retirada de sujidade de uma superfície.

Obs: RDC 302/2005, da ANVISA.

Item 5.8 - Limpeza, Desinfecção e Esterilização.

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

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

Em caso de dúvidas sobre algum tipo de procedimento recomendamos o site: http://www.anvisa.gov.br

4) PRINCIPAIS COMPOSTOS DESINFETANTES

4.1) ÁLCOOIS

São mais utilizados os álcoois etílico e isopropílico. São bactericidas, eliminando também o bacilo da tuberculose, os fungos e os vírus. Não tem efeito contra os esporos bacterianos. Sua concentração ideal está entre 60 e 90% por volume. Causam a desnaturação das proteínas quando na presença de água.

4.2) COMPOSTOS BICLORADOS

Geralmente usam-se os hipocloritos de sódio ou cálcio. Tem amplo espectro de antimicrobiano e ação rápida. Alguns fatores levam à sua decomposição, interferindo em suas propriedades: temperatura, concentração, presença de luz e pH. Acredita-se que estes produtos agem por inibição de algumas reações enzimáticas dentro das células, por desnaturação de proteínas e por inativação do ácido nucléico.

4.3) FORMALDEÍDO

É usado como desinfetante ou esterilizante nas formas gasosa ou líquida. É comumente encontrado como formalina, sendo esta sua diluição aquosa a 37%. A formalina é um potente bactericida, fungicida, agindo também contra vírus, bacilos da tuberculose e esporos bacterianos. Tem uso limitado por ser um composto cancerígeno.

4.4) PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (água oxigenada)

É um composto bactericida, esporicida, fungicida, eliminando também os vírus. Agem produzindo radical hidroxila livre que ataca a membrana lipídica, o DNA e outros componentes essenciais à vida da célula. É usado como desinfetante em concentração de 3%, para superfícies não orgânicas. Não é usado como esterilizador, pois tem atividade inferior à do glutaraldeído.

4.5) FENÓIS

Em altas concentrações, os fenóis agem como veneno protoplasmático, penetrando e rompendo a parede celular por precipitação de proteínas. Em baixas concentrações, causa morte celular por inativação dos sistemas enzimáticos essenciais à manutenção da integridade da parede celular. São usados para desinfecção do ambiente hospitalar, incluindo superfícies de laboratórios e artigos médico-cirúrgicos.

4.6) COMPOSTOS IODADOS

Geralmente composto por iodo e um agente solubilizante. São exemplos de compostos iodados a polivinilpirrolidona iodada, e o iodophor (Biocid ®). Tem ação desinfetante, bactericida, viricida, fungicida e esporicida. O composto iodado penetra a parede celular dos microorganismos, rompendo a estrutura e a síntese das proteínas e do ácido nucléico.

4.7) GLUTARALDEÍDO

O dialdeído saturado é largamente utilizado como desinfetante de alto nível e quimioesterilizador. Sua solução aquosa necessita de pH alcalino para eliminar esporos bacterianos. Age alterando os ácidos desoxirribonucléico e ribonucléico, bem como a síntese protéica dos microorganismos. É mais comumente usado como desinfetante de alto nível para equipamento médico. É tóxico, e, portanto, o pessoal que o manuseia deve se proteger usando luvas e óculos.

4.8) COMPOSTOS QUATERNÁRIOS DE AMÔNIA

São bons agentes de limpeza, porém podem ser inativados por material orgânico, não sendo mais, por esta razão, utilizados como desinfetantes ou anti-sépticos. Tem sua ação antimicrobiana, atribuída à inativação de enzimas produtoras de energia, desnaturando proteínas essenciais das células e rompendo a membrana celular. São recomendados para sanitarizar superfícies como chão, móveis e paredes (meio hospitalar).

Observações:

I - Quando iniciar um novo procedimento imagine os possíveis casos de acidente, como evitá-los e o que fazer caso eles ocorram. Isso torna o socorro muito mais rápido e eficiente, podendo salvar vidas.

II- Ponderamos que todas as informações acima deverão ser complementadas com leitura dos Manuais de Biossegurança e com um curso no referido tema.

III- O bom senso associado com o conhecimento técnico tanto das medidas de biossegurança quanto dos mecanismos de transmissão dos agentes infecciosos e parasitários são extramente importantes, tanto para saber praticar a proteção individual como a dos que nos rodeiam.