

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS
MESTRADO PROFISSIONAL EM PESQUISA CLÍNICA

LUIZ EDUARDO DE CARVALHO PAES

**NOVOS PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO PARA
GERENCIAMENTO E MANIPULAÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS
CRIOPRESERVADAS EM NITROGÊNIO LÍQUIDO: ESTUDO DE
CASO NO LABORATÓRIO DE PESQUISA CLÍNICA E VIGILÂNCIA
EM LEISHMANIOSE**

Rio de Janeiro

2017

**NOVOS PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO PARA
GERENCIAMENTO E MANIPULAÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS
CRIOPRESERVADAS EM NITROGÊNIO LÍQUIDO: ESTUDO DE CASO NO
LABORATÓRIO DE PESQUISA CLÍNICA E VIGILÂNCIA EM LEISHMANIOSE**

LUIZ EDUARDO DE CARVALHO PAES

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Mestre em Ciências, sob a orientação do Prof. Dr. Armando de Oliveira Schubach e da Prof^a Dr^a Maria de Fátima Madeira.

Rio de Janeiro

2017

LUIZ EDUARDO DE CARVALHO PAES

**NOVOS PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO PARA
GERENCIAMENTO E MANIPULAÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS
CRIOPRESERVADAS EM NITROGÊNIO LÍQUIDO: ESTUDO DE CASO NO
LABORATÓRIO DE PESQUISA CLÍNICA E VIGILÂNCIA EM LEISHMANIOSE**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientadores: Prof. Dr. Armando de Oliveira Schubach

Profª Drª Maria de Fátima Madeira

Aprovada em 10/07/2017

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª. Elisa Cupolillo (Presidente e Revisor)
Doutora em Ciências (Biologia Celular e Molecular) - IOC/FIOCRUZ

Profª Drª Rosane Maria Temporal
Doutora em Ciências (Biologia Parasitária) - IOC/FIOCRUZ

Profª Drª Aline Fagundes da Silva (Membro)
Doutora em Vigilância Sanitária - INCQS/FIOCRUZ

Prof. Dr. Mauro Célio de Almeida Marzochi (Suplente)
Doutor em Parasitologia Aplicada - INI/FIOCRUZ

DEDICATÓRIA

Aos homens que pensam num futuro melhor para toda a humanidade e, em especial, a minha esposa Lúcia Regina e aos meus filhos Bruno, Marcelo e
Fernanda.

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus, pois somente graças a sua vontade me foi permitido vencer todos os obstáculos e trilhar os caminhos certos para que eu chegasse até aqui e concluísse mais este objetivo em minha vida.

Aos meus pais Lair e Izolette (*in memoriam*), pelo grande exemplo de vida, pois mesmo não me deixando bens materiais, deixaram conceitos e princípios que nenhum dinheiro pode pagar.

À minha família e aos meus grandes amigos do Riachuelo, pelo constante incentivo, apoio, carinho e pela grande torcida.

Ao meu orientador, amigo, mestre e “Guru” Dr. Armando de Oliveira Schubach pela confiança, incentivo e total apoio para o desenvolvimento deste estudo e por ter reacendido a chama em meu coração pela vontade de estudar e progredir.

À minha orientadora Dr^a Maria de Fátima Madeira, pela excelente acolhida em seu laboratório, confiança, incentivo, apoio e parceria para a realização desta pesquisa.

À Dr.^a Cláudia Maria Valete Rosalino, por ter me incentivado a entrar para o curso de mestrado profissional em pesquisa clínica do INI e me mostrar que eu era capaz não só de passar no exame de seleção, mas de concluir o curso com excelente aproveitamento.

Ao Diretor do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), 2013-2017, Dr. Wilson Savino e ao chefe do Laboratório de Pesquisas em Leishmaniose (LPL), Dr. Renato Porrozzi, por autorizarem a minha liberação do laboratório para ingressar no curso de mestrado profissional.

Ao Dr. Alexandre Vizzoni da Coordenação de Atividades Diagnósticas por nos ter cedido o espaço no Pavilhão Maria Deane onde foi montada a Sala de Criogenia.

Ao Dr. Gabriel Grimaldi Filho, por ter me acolhido no LPL do antigo Departamento de Imunologia do IOC e ter me iniciado no mundo da ciência.

Aos “velhos” amigos do Laboratório de Pesquisa em Leishmaniose (LPL), Elisa Cupolillo, Rosane Temporal, Ricardo Montarroyos, Carlos Henrique Martins,

Selma Quintella, Valmir Soares, Antônio Teva e os demais, pelo companheirismo, trabalho em equipe, incentivo e apoio.

Aos amigos do saudoso Departamento de Imunologia do IOC, Juarez Miotelo, Ruth Andrioli e Paulo David (*in memoriam*) que sempre me incentivaram e cobraram a continuação dos meus estudos.

Aos companheiros do LaPClinVigiLeish, Aline Fagundes, Célia Moreira, Marcela de Mello, Andreia Marcolini, Luciana Miranda e Gilmar Moreira pela acolhida e grande ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

A Tatiana Carvalho, pela assessoria administrativa e grande ajuda na aquisição dos equipamentos e materiais.

Aos funcionários e amigos da Dirac, Gilson Gomes Santos (usinagem), Agnaldo de Carvalho e Eduardo Vieira Gregório (funilaria) e João Felipe Nascimento (serralheria) pela confecção das peças metálicas utilizadas neste trabalho.

Aos companheiros do ambulatório Ananda Dutra, Débora Bezerra, Márcia Lucena, Madelon Novato, Cláudia Duarte, Camila Seiceite, Mateus e Frederico Bom Braga, João Gustavo Reis, Fernanda Braga, Renata Barcelos, pela acolhida e incentivo.

Em especial,

Aos meus amados filhos Bruno Santos Paes, Marcelo Brahim Paes e Fernanda Brahim Paes, que hoje mais do que nunca são o grande motivo da minha existência. Na verdade, são a extensão da minha própria vida, pois tudo que faço é pensando em deixar um futuro melhor para eles.

A Lúcia Regina do Nascimento Brahim Paes, minha esposa, amiga, companheira, consultora financeira, empreendedora, *chef gourmet*, enfermeira, costureira, professora e parceira para toda vida... Minha Amada, agradeço a Deus por você existir.

EPÍGRAFE

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes” (Marthin Luther King).

PAES, LEC. **Novos procedimentos operacionais padrão para gerenciamento e manipulação de amostras biológicas criopreservadas em nitrogênio líquido: Estudo de caso no Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmaniose.** Rio de Janeiro, 2017. Dissertação [Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.

RESUMO

Introdução: Atualmente a melhor técnica utilizada para garantir a preservação de material biológico é a criopreservação, que compreende a estocagem de material a baixas (em freezer) ou a ultra-baixas temperaturas (em nitrogênio líquido). O Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmaniose utiliza a técnica de criopreservação em nitrogênio líquido (N₂L) e armazena aproximadamente 5.000 estoques de *Leishmania* spp em criotubos (de 2 mL cada) distribuídos em seis botijões criogênicos (*containers*), totalizando 11.610 posições possíveis de armazenamento. Entretanto, o uso e a manipulação constante do N₂L oferecem alguns riscos (químicos, biológicos e ergonômicos). A manutenção e o manuseio das amostras biológicas estocadas não são realizados em um local apropriado, nem de forma segura, e o processo para a localização de amostras é lento. **Objetivo:** Desenvolver novos Procedimentos Operacionais Padrão (POP) para gerenciamento e manipulação de amostras biológicas criopreservadas em N₂L. **Materiais e Métodos:** Para cumprir os objetivos foram desenvolvidos três POPs: 1) Modernizar a metodologia de envase ou reposição de N₂L nos *containers* contendo as amostras biológicas [cepas de *Leishmania*]; 2) Desenvolver uma metodologia mais segura de manipulação dos criotubos contendo as amostras criopreservadas em *containers* de N₂L; e 3) Desenvolver um Banco de Dados informatizado (em uma planilha do *software Microsoft Office Excel 2016*) com a localização de todas as amostras biológicas criopreservadas nos *containers* de N₂L. **Resultados e Conclusões:** Com a adoção destes novos procedimentos para o gerenciamento e a manipulação de amostras biológicas, pretende-se tornar a metodologia mais prática, segura e econômica, minimizando os riscos químicos, biológicos e ergonômicos para as pessoas que manipulam o N₂L.

Palavras-chave: Nitrogênio líquido, criopreservação, procedimento operacional padrão, *Leishmania*.

PAES, LEC **New Standard Operating Procedures for management and maintenance biological samples cryopreserved in liquid nitrogen: a case-study at the Laboratory of Clinical Research and Surveillance in Leishmaniasis.** Rio of Janeiro, 2017. Thesis [Masters Professional in Clinical Research in Infectious Diseases] – National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation.

ABSTRACT

Introduction: Cryopreservation is the best process to guarantee the preservation of biological material, comprising the storage of these materials at low temperatures (in freezer) or at ultra-low temperatures (in liquid nitrogen). The Laboratory of Clinical Research and Surveillance in Leishmaniasis employs cryopreservation in liquid nitrogen (LN2) as an important process to maintain *Leishmania* parasites isolate from different sources. This laboratory maintains approximately 5,000 stocks under LN2, corresponding to more than 1,000 *Leishmania* strains. The stocks are distributed in six containers, counting for 11,610 possible positions of storage. Maintenance and handling of these stocks are not performed in a safe manner. Furthermore, the process for stock location is not well organized, resulting in a time-consuming activity. **Objective:** To develop Standard Operating Procedures (SOP) for management and maintenance of biological samples cryopreserved in LN2. **Materials and Methods:** Three SOPs were developed: 1) To improve the LN2 filling or replenishment methodology in containers containing biological samples (*Leishmania* strains); 2) To develop a safer methodology for handling biological samples cryopreserved in LN2 containers; and 3) To develop a computerized database (using Microsoft Office Excel 2016 software worksheet) presenting the location for all stocks of each biological sample maintained in the LN2 containers. **Results and Conclusions:** The adoption of the new procedures develop in this study, for maintenance and recovery of samples, intends to turn the methodology more practical, more economical and safer, minimizing the chemical, biological and ergonomic risks for people handling LN2.

Key words: Liquid nitrogen, cryopreservation, Standard Operating Procedures, *Leishmania*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura interna de um <i>container</i>	25
Figura 2 - Acessórios de um container que utiliza canister tipo rack	26
Figura 3 - Acessórios de um container que utiliza canister tipo caneca	26
Figura 4 - Containers no corredor e sem bases com rodízios	29
Figura 5 - A reposição do nitrogênio líquido sendo feita de forma manual	29
Figura 6 - A reposição do nitrogênio líquido sendo feita de forma manual	30
Figura 7 - A retirada de um canister tipo rack sendo realizada no próprio corredor	30
Figura 8 - Recolocação da tampa e o excesso de nitrogênio líquido sendo derramado no chão	30
Figura 9 - Desperdício de nitrogênio líquido no chão do corredor	30
Figura 10 - Preparo da Sala de Criogenia com a instalação dos equipamentos	35
Figura 11 - Confecção da base com rodízios	36
Figura 12 - Guincho metálico	36
Figura 13 - Equipamentos de Proteção Individual recomendados para o uso com nitrogênio líquido	37
Figura 14 - Esquema básico de um Aspersor utilizado na transferência de nitrogênio líquido	39
Figura 15 - Compressor/Aspirador de ar	39
Figura 16 - Sala de Criogenia destinada a manutenção e recuperação de cepas de <i>Leishmania</i> criopreservadas em nitrogênio líquido depois de pronta	43
Figura 17 - Montagem do sistema de envase e reposição de nitrogênio Líquido (aspersor, compressor e mangueiras de aço inox e de borracha)	44
Figura 18 - O Sistema de envase e reposição de nitrogênio líquido em operação fazendo a transferência de nitrogênio líquido do <i>container</i> de transporte para o <i>container</i> onde estão as cepas criopreservadas	45

Figura 19 - Os <i>containers</i> com as bases com rodízios instaladas.....	45
Figura 20 - O guincho sendo utilizado por uma pessoa que anteriormente não conseguia retirar os canisters maiores e mais pesados sozinha	47
Figura 21 - O guincho sendo utilizado para facilitar a retirada dos <i>canisters</i> maiores e mais pesados	47
Figura 22 - <i>Print</i> da tela do computador com Banco de Dados informatizado criado em uma Planilha do <i>Software da Microsoft Office Excel 2016</i>	48

LISTA DE TABELAS

Tabela A - Especificações dos <i>containers</i> do Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmaniose	27
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

Anac - Agência Nacional de Aviação Civil

Antaq - Agência Nacional de Transporte Aquaviário

ANTT - Agência Nacional de Transporte Terrestre

°C - Grau Celsius

CSB - *U.S. Chemical Safety Board* (Conselho de Segurança Química dos Estados Unidos)

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa

CLT – Consolidação das Leis do Trabalho

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Dirac - Diretoria de Administração do *Campus* da Fundação Oswaldo Cruz

DPC - Diretoria de Portos e Costas do Ministério da Marinha

EPIs - Equipamentos de Proteção Individual

EUA - Estados Unidos da América

EVP - Estudo de Viabilidade Patentária

Faperj - Fundação Carlos Chagas de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

Fiocruz - Fundação Oswaldo Cruz

Gestec - Gestão Tecnológica

Iata-DGR - *International Air Transport Association – Dangerous Goods Regulations* (Associação Internacional de Transporte Aéreo - Regulamentos sobre Mercadorias Perigosas)

Icao-TI - *International Civil Aviation Organization – Technical Instructions* (Organização Internacional da Aviação Civil - Instruções Técnicas)

IMDG - *International Maritime Dangerous Goods* (Mercadorias perigosas marítimas internacionais)

INI - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

L - litro

LaPClinVigiLeish - Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmaniose

LG - *Lucky Goldstar* (Empresa sul coreana de equipamentos eletrônicos)

mL - mililitro

m² - Metro quadrado

m³ - Metro cúbico

MU - Modelo de Utilidade

Niosh – *National Institute for Occupational Safety and Health* (Instituto Nacional para Segurança e Saúde Ocupacional)

NIT - Núcleo de Inovação Tecnológica

NR - Norma Regulamentadora

N₂ - Nitrogênio

N2L - Nitrogênio Líquido

OCDE - Organização de Cooperação e de Desenvolvimento Econômico

ONU - Organização das Nações Unidas

O₂ - Oxigênio

POM - Plano de Objetivos e Metas

POP - Procedimento Operacional Padrão (ou Padronizado)

PQ - Produtividade em Pesquisa

PSI - *Pound Square Inch* (Libra por Polegada Quadrada)

RBAC - Regulamento Brasileiro da Aviação Civil para o Transporte de Artigos Perigosos em Aeronaves Civis

Seinfra - Serviço de Infra Estrutura

Senec - Serviço de Engenharia de Equipamentos Científicos

SOL – Solicitação

SSST - Secretaria de Segurança e Saúde no Trabalho

VPPIS - Vice-Presidência de Produção e Inovação em Saúde

Sumário

1.	<i>INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA</i>	17
2.	<i>JUSTIFICATIVA</i>	25
3.	<i>OBJETIVOS</i>	32
	Objetivo Geral	32
	Objetivos Específicos	32
4.	<i>METODOLOGIA</i>	33
4.1.	Desenho do Estudo	33
4.2	Desenvolvimento de metodologia segura para manipulação de amostras biológicas criopreservadas em N2L	33
4.2.1	Montagem e adequação da Sala de Criogenia para o envase ou reposição de N2L e manipulação dos criotubos contendo amostras biológicas	33
4.2.2	Confeccção e instalação de bases com rodízios nos containers	35
4.2.3	Confeccção e instalação do guincho articulado	36
4.2.4	Uso correto de Equipamentos de Proteção Individual	37
4.3	Desenvolvimento de metodologia para o envase ou reposição de N2L	38
4.3.1	Montagem e instalação da nova metodologia para envase ou reposição de N2L nos containers onde estão criopreservadas as amostras biológicas	38
4.4.	Desenvolver um Banco de Dados informatizado (em uma planilha do software Microsoft Office Excel 2016) com a localização de todos os criotubos contendo as amostras biológicas criopreservadas nos containers de N2L	40
4.4.1.	Elaboração e Criação de um Banco de Dados Informatizado	40
4.5.	Aspectos Éticos	41
4.6.	Financiamento	41
5.	<i>RESULTADOS E DISCUSSÃO</i>	42
6.	<i>CONCLUSÃO</i>	49
7.	<i>CONSIDERAÇÕES FINAIS</i>	50
8.	<i>DESDOBRAMENTOS</i>	51
9.	<i>REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS</i>	52
10.	<i>GLOSSÁRIO</i>	57
11.	<i>APÊNDICES</i>	58
	APÊNDICE A – POP VL 023 - “Manipulação para retirada ou inclusão de amostras biológicas criopreservadas nos containers contendo Nitrogênio Líquido”	59

<u>APÊNDICE B - POP VL 022 - “Envase ou Reposição de Nitrogênio Líquido”</u>	65
<u>APÊNDICE C - POP VL 024 - “Orientação para gerenciamento do Banco de Dados informatizado com a localização dos criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas em containers de nitrogênio líquido”</u>	71
<u>12. ANEXOS</u>	76
<u>ANEXO A - Documento de dispensa do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com o título original do projeto</u>	77
<u>ANEXO B - Documento de dispensa do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com o título modificado após sugestão da banca examinadora</u>	78

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

Os parasitos do gênero *Leishmania* (ROSS, 1903) (Protozoa: Trypanosomatidae) são protozoários flagelados, heteroxênicos, que apresentam duas principais formas distintas: (1) a promastigota (com flagelo livre), presente no inseto vetor (essa comumente observada em meios de cultura *in vitro*) (2) a amastigota (com flagelo rudimentar intracelular), presente nos hospedeiros vertebrados.

O gênero *Leishmania* é taxonomicamente organizado em dois subgêneros: *Leishmania* (SAF'JANOVA, 1982) que engloba, principalmente, as espécies do Velho e algumas do Novo Mundo e *Viannia* (LAINSON & SHAW, 1987), que engloba espécies encontradas somente no Novo Mundo.

O ciclo evolutivo de *Leishmania* nos hospedeiros é bem definido (CHANG et al, 1985). Durante o repasto sanguíneo no vertebrado infectado, o flebotomíneo vetor ingere o sangue contendo macrófagos parasitados com amastigotas. Esse sangue é contido no intestino médio do inseto e, com a ruptura celular, as formas amastigotas se diferenciam nas formas promastigotas (MARTINS, 2008). A transmissão dos parasitos ocorre quando as fêmeas do vetor infectadas realizam novo repasto sanguíneo inoculando as formas promastigotas infectantes no hospedeiro (WALTERS, 1993; PIMENTA et al, 2003).

Os mecanismos de reprodução de *Leishmania* não são bem definidos. A divisão binária dos organismos, seja no interior do inseto ou em macrófagos, é o mecanismo essencial de propagação de *Leishmania* na natureza. Além de mutações evolutivas que os parasitos sofrem durante as interações com os hospedeiros (LAINSON & SHAW, 1987, TIBAYRENC et al, 1990), outros processos de trocas entre os organismos são também considerados para explicar a diversidade genética observada no gênero *Leishmania* (CUPOLILLO et al, 1997).

Os reservatórios das espécies de *Leishmania* são principalmente mamíferos silvestres pertencentes às ordens Carnívora, Rodentia, Marsupialia, Edentata, Primata e Artiodactyla. Estes mamíferos participam do ciclo primário de transmissão,

servindo como fonte de infecção para flebotomíneos e mantendo assim o ciclo silvestre (LAISON & SHAW, 1998). Contudo, sugere-se que alguns animais domésticos (por exemplo, cães e equinos), em determinadas situações, sejam responsáveis pela manutenção dos ciclos peridoméstico e urbano da Leishmaniose Tegumentar, no qual as espécies de flebotomíneos vetores estariam adaptadas ao ambiente domiciliar e/ou peridomiciliar (RANGEL et al,1990, RANGEL, 1995, BRASIL, 2016).

O Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmaniose (LaPClinVigiLeish) do Instituto de Infectologia Evandro Chagas (INI) está localizado no Pavilhão Maria Deane e participa da Rede de Laboratórios de Referência da Fiocruz e tem como linhas de pesquisa: 1) Clínica, diagnóstico, terapêutica e epidemiologia das leishmanioses; 2) Manifestações otorrinolaringológicas nas doenças infecciosas; 3) Biologia molecular aplicada ao diagnóstico e epidemiologia de infecções por parasitos: pesquisa translacional; 4) Diagnóstico das leishmanioses; 5) Epidemiologia das leishmanioses; 6) Tripanosomatídeos – Vigilância da ocorrência em diferentes hospedeiros no Estado do Rio de Janeiro; e 7) Doenças parasitárias – Ecoepidemiologia e tecnologias de controle. O LaPClinVigiLeish possui atualmente um acervo de aproximadamente 1.000 cepas de *Leishmania*, isoladas principalmente de pacientes humanos e caninos, que encontram-se criopreservadas em N2L (FISPQ, 2004). Como estas cepas são criopreservadas em mais de um criotubo, o número total é de aproximadamente 5.000 estoques de *Leishmania spp* distribuídos em seis botijões criogênicos (a partir de agora denominados *containers*) contendo N2L. Estas cepas foram isoladas a partir de fragmentos de pele ou mucosa obtidos por biópsias provenientes do ambulatório e do Serviço de Zoonoses do INI e caracterizadas bioquimicamente pela análise de isoenzimas (Multilocus Enzyme Electrophoresis - MLEE) (MARKET, MOLLER, 1959), de acordo com um protocolo padronizado (MOMEN et al, 1987; GRIMALDI et al, 1991; CUPOLILLO, 1994). Todo o material contido neste acervo tem sido utilizado em projetos de pesquisa que resultaram em publicações científicas, monografias, dissertações de mestrado e teses de doutorado.

Com o objetivo de garantir a reprodutibilidade e a continuidade de seus processos de investigação biomédica, os cientistas encaram a difícil tarefa de estabilizar geneticamente as células empregadas em seus estudos (SIMIONE, 1998). A manutenção por longos períodos de tempo de subculturas seriadas, além de consumir insumos, aumentando também os custos, também consome mais tempo de manipulação, elevando dessa forma as chances de contaminações, além da possibilidade de seleção de células com características genéticas diferentes da população de células originalmente selecionadas ou mesmo indução de mutações pontuais que podem gerar mudanças fenotípicas. No entanto, as populações de células podem ser estabilizadas, quando expostas a temperaturas criogênicas, técnica conhecida como criopreservação. Avanços científicos têm levado ao desenvolvimento de métodos que permitem manter viáveis, em baixas temperaturas, diferentes tipos celulares. Muitas técnicas de criopreservação vêm sendo utilizadas para a preservação de microrganismos, células teciduais isoladas, pequenos organismos multicelulares e alguns organismos mais complexos, como por exemplo, embriões (AGUIAR et al, 2012).

A técnica de criopreservação compreende a estocagem de material a baixas temperaturas (-20 °C a -80 °C) obtidas em freezer mecânico e a ultra-baixas temperaturas obtidas nas fases: de vapor (-150°C) ou na fase líquida (-196°C) do nitrogênio líquido. Os sistemas que utilizam o N₂L permitem o armazenamento a temperaturas constantes, enquanto os que utilizam o freezer mecânico estão sujeitos a variações de temperatura capazes de comprometer a qualidade das amostras estocadas (SU et al, 1996; WOLFE & BRYANT, 2001; PAOLI, 2005; AGUIAR et al, 2012).

O maior objetivo dessa técnica é minimizar o dano aos materiais biológicos, incluindo tecidos, células (animais e vegetais), protozoários, bactérias, fungos e vírus, reduzindo a taxa metabólica, durante o processo de congelamento e estocagem a frio. A técnica de criopreservação é o método de escolha em muitos bancos de microrganismos, pois oferece uma contínua fonte de células vivas geneticamente estáveis para uma variedade de fins, incluindo pesquisas e processos biomédicos (BROCKBANK et al, 2007).

O processo de criopreservação de células e tecidos, seja para a pesquisa, uso terapêutico ou para fins de reprodução assistida, apresenta vários riscos. Desde a coleta de amostras, do processamento de congelamento até a crioestocagem, o potencial para incidentes indesejáveis pode ameaçar o resultado de um projeto de pesquisa ou a existência e a credibilidade de um serviço clínico. Por exemplo, clínicas de reprodução assistida, bancos de esperma, banco de células e tecidos, etc., estão incorporados ao setor de saúde privado e dependem diretamente do sucesso de seus serviços e resultados para a manter sua reputação, suas referências e seus contratos financeiros. Este sucesso está ligado diretamente à sua capacidade de manter baixa as taxas de incidentes, pois incidentes adversos, principalmente os que caem em domínio público, poderão ter sérias consequências para o seu negócio como um todo.

Os riscos ou a probabilidade de um evento adverso podem ser classificados nas seguintes categorias: INEVITÁVEIS – são os eventos espontâneos que podem ser naturais ou provocados pelo ser humano, tais como: terremoto, fogo, inundações, terrorismo, etc., e que podem ocorrer a qualquer momento, independente da medida de controle adotada; NÃO CONFORMIDADE COM AS NORMAS – as normas têm padrões estabelecidos pelos órgãos reguladores ou profissionais e que podem ser incorporados em um código de prática de forma obrigatória ou voluntária. Especialmente para os serviços clínicos, o não cumprimento destes padrões, podem ameaçar e até culminar com a perda de seu licenciamento; e os EVITÁVEIS – são aqueles associados com a nossa prática cotidiana e que podem ser descobertos através de inspeção, observação e da própria experiência de erros cometidos no passado (TOMLINSON, 2008).

A fim de se prevenir contra estes incidentes, utiliza-se o gerenciamento de risco que é o método sistemático para antecipar ou prever a adversidade e representa um método mais racional e satisfatório para evitar um incidente desagradável. Este método deve se concentrar em minimizar perdas e pode ser facilitado, se o processo for organizado em partes mais gerenciáveis, incidindo sobre as áreas-chave de uma potencial perda. Na prestação de serviço em clínicas de criopreservação, estas incluem: lesão pessoal, perda de material armazenado,

danos ao material armazenado e erro de identificação do material armazenado, além da transmissão de infecções. Todos estes itens terão um impacto sobre as estruturas do serviço ou negócio, tais como, a garantia de qualidade, finanças e a conformidade com as regulamentações (TOMLINSON, 2005).

O gás nitrogênio ou azoto (como é mais conhecido em alguns países da Europa), segundo sua classificação no Grupo de Risco dos Gases, pertence ao Grupo I, o de gases não-inflamáveis, não-corrosivos e não tóxicos (CARVALHO, 2013). É também um gás incolor, inodoro, insípido, não reativo e não poluente que, quando comprimido a altas pressões, pode atuar como asfixiante por deslocamento do ar ambiente. Devido ao fato de ser inodoro, não é possível detectar através do olfato, se houve ou não vazamento de N_2 . É também considerado um gás inerte, pois sua combinação com outras substâncias só ocorre sob condições especiais. O N_2 é um gás ligeiramente mais leve que o ar e é o maior constituinte da atmosfera terrestre com cerca de 78%. Apesar do N_2 não ser tóxico, o anexo 11 da Norma Regulamentadora nº 15), considera o produto como asfixiante simples e não impõe limites de exposição, desde que no ambiente de trabalho, seja garantida a concentração mínima de oxigênio (O_2) de 18% em volume (NR 15, 2015). Entretanto, como essa concentração é muito próxima ao limite, permanecer em ambientes com atmosferas inferiores a 20% não é recomendado. Caso a concentração de O_2 fique abaixo deste nível, o risco de asfixia por deficiência de O_2 (anoxia) é grave e eminente. Grandes vazamentos de N_2 em determinados ambientes podem produzir atmosferas deficientes em O_2 que resultarão em asfixia se forem respiradas. Entende-se como espaço confinado (item 33.1.2 da Norma Regulamentadora nº 33) qualquer área ou ambiente não projetado para ocupação humana contínua, que possua meios limitados de entrada e saída, cuja ventilação seja insuficiente para remover contaminantes ou onde possa existir a deficiência no enriquecimento de oxigênio (NR 33, 2015). Para executar serviços em espaços confinados, são necessários equipamentos de proteção individual (EPIs) específicos, além de pessoal qualificado e treinado.

Em caso de asfixia os principais sintomas são: náuseas, vômitos, respiração rápida e ofegante, fadiga, pressão na testa e nos olhos, podendo ainda surgir perda

de consciência e morte. Diferentes graus de asfixia podem ocorrer quando a atmosfera contém menos de 20,9% de oxigênio em volume, a saber: Concentração de O₂ entre 20 e 14 % - Diminuição do desempenho físico e intelectual sem a percepção do indivíduo. Entre 14 e 10 % - Dificuldade de julgamento; irritabilidade; cansaço; e lesões graves podem não causar dor. Entre 10 e 6 % - Podem aparecer náuseas e vômitos; perda da capacidade de se movimentar vigorosamente; incapacidade de andar, de ficar em pé ou rastejar. Geralmente quando a situação chega nesse ponto, o fim está próximo e a pessoa pode perceber que está morrendo, mas não consegue reagir. A reanimação é possível se for realizada imediatamente. Finalmente, quando a concentração de O₂ chega entre 6 e 0% - O desmaio é quase imediato e acontece a morte indolor. Nesse momento, mesmo que aconteça o resgate, a probabilidade de danos cerebrais é quase certa (*Liquid Nitrogen - Code of practice for handling*, 2007).

O N₂ gasoso é distribuído em cilindros de aço a uma pressão de 150 a 200 bar, sendo bar uma unidade de pressão que equivale a 1 kg/cm² ou a 14,5 psi (*pound square inch* ou libra por polegada quadrada). Em sua forma líquida, é distribuído em tanques criogênicos a uma temperatura de -196 °C (GAMA GASES, 2007). Algumas companhias que comercializam o N₂L no Brasil, tais como White Martins, Gama Gases e Linde Gases, também se referem a ele como nitrogênio líquido refrigerado ou nitrogênio líquido altamente refrigerado e recomendam o cumprimento das normas e regulamentações (nacionais e internacionais) para fins de transporte, sejam eles terrestre (ferroviário ou rodoviário), marítimo (marítimo, fluvial ou lacustre) ou aéreo. Para o transporte terrestre, devem ser seguidas as recomendações da Agência Nacional de Transporte Terrestre (ANTT, 2004), o Decreto nº 96044 de 1988 (Regulamento para o transporte rodoviário de produtos perigosos) e a Resolução nº 420 (ANTT, 2004) (que aprova as instruções complementares ao regulamento para o transporte rodoviário de produtos perigosos). Para o transporte marítimo, devem ser seguidas as recomendações da Agência Nacional de Transporte Aquaviário (Antaq), da *International Maritime Dangerous Goods* (IMDG) e da Norma-5 da Diretoria de Portos e Costas do Ministério da Marinha (DPC). E para o transporte aéreo, devem ser seguidas as

recomendações da *International Civil Aviation Organization – Technical Instructions* (Icao-TI); da *International Air Transport Association – Dangerous Goods Regulations* (Iata-DGR); e da Agência Nacional de Aviação Civil (Anac); além da Resolução nº 129 de 08 de dezembro de 2009, o Regulamento Brasileiro da Aviação Civil para o Transporte de Artigos Perigosos em Aeronaves Civis (RBAC) nº 175 e a Instrução Suplementar (IS) nº 175-001.

O N₂ pode ser produzido na sua forma líquida, em escala industrial, através do método de destilação fracionada. Sua principal característica é a capacidade de manter a temperatura muito abaixo do ponto de congelamento da água (-196 °C), tornando-se útil em diversas aplicações, tais como: criogenia ou criopreservação de materiais biológicos tais como sangue, células reprodutivas (esperma e óvulos), medula óssea, órgãos para transplante, entre outros; congelamento e transporte de produtos alimentícios; crioterapia para remoção de lesões de pele; refrigeração de supercondutores de altas-temperaturas, possibilitando uma temperatura suficiente à supercondutividade; retirar aparas e rebarbas de material plástico e de borracha, assim facilitando o seu tritamento nas indústrias (OXIGENIO BRASIL, 2015).

Os maiores riscos associados ao N₂L são: queimaduras de frio, asfixia e explosão. **Queimadura de frio**, pois como sua temperatura é de -196 °C ocorre o efeito *frostbite* (rápido congelamento devido ao frio extremo) e dependendo do tempo de exposição, pode provocar lesões muito graves e gangrena. **Asfixia**, pois em grandes concentrações desloca o ar do ambiente diminuindo a concentração de O₂, principalmente em locais fechados. E de **explosão**, pois, apesar do N₂L não ser inflamável, quando levado a temperatura ambiente, a taxa de expansão é de 1:694 ou seja, ele se expande quase 700 vezes o volume original. Isso geralmente ocorre quando as ampolas ou criotubos são submersos em N₂L. Como existe uma diferença de pressão entre o exterior e o interior da ampola, se esta não estiver perfeitamente vedada, haverá a entrada de N₂L, o qual causará a explosão da ampola no momento do descongelamento, podendo contaminar ou ferir a pessoa que estiver manipulando (ISHAK, 1989; WHITE MARTINS, 2015). De acordo com o subitem 17.2.1.1. da Norma Regulamentadora nº 17 (NR 17, 2017) que trata do

transporte individual de cargas, dependendo da forma como os *containers* de N2L serão manipulados, ainda poderá existir o risco **ergonômico**.

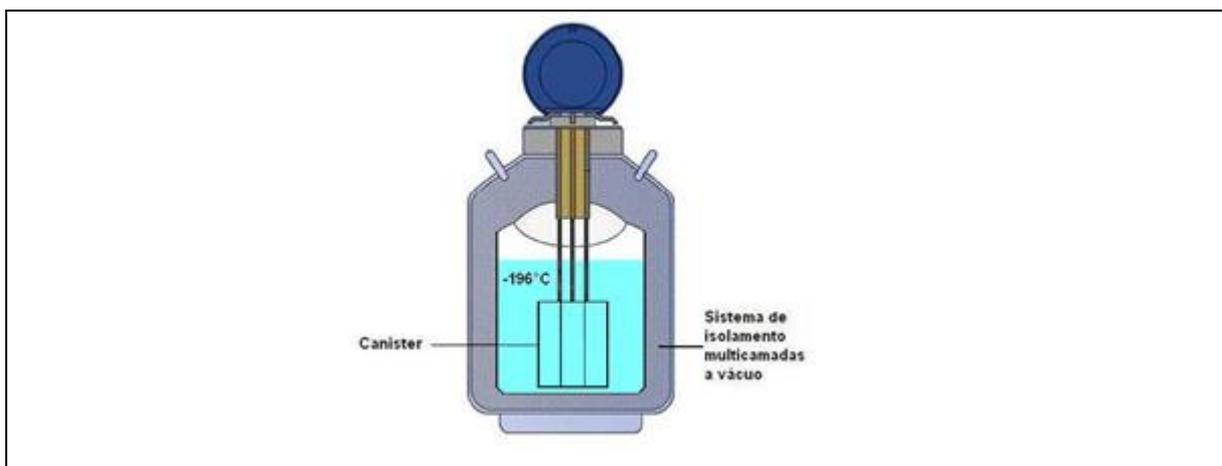
Apesar de pouco divulgados, existem relatos (na literatura e na Internet) de acidentes, inclusive com óbitos, causados por N2L. A maioria dos acidentes ocorridos com o N2L são devidos a queimadura de frio, porém só os casos mais graves são devidamente relatados, como os dois casos que ocorreram, respectivamente, em 1977 (ROBLIN et al, 1977) e em 1989 (LEU & CLODIUS, 1989) com severas queimaduras nos membros inferiores que culminaram em amputação. Devido ao recente modismo de utilizar o N2L em comidas e bebidas, também ocorreram dois casos inusitados em 2010 (WALSH et al, 2010) e em 2012 (POLLARD et al, 2013) quando pessoas que ingeriram bebidas alcoólicas misturadas ao N2L tiveram queimaduras gravíssimas no estômago, inclusive com a perda e retirada do órgão no último caso. Já os acidentes fatais, foram todos relacionados a asfixia. Segundo o Boletim nº 2003-10-B de junho de 2003 do Conselho de Segurança Química dos Estados Unidos (*U.S. Chemical Safety Board - CSB*), um estudo realizado nos Estados Unidos da América (EUA) durante o período de 1992 a 2002 relatou 85 incidentes com N2L dos quais 80 foram fatais e provocados por asfixia. Dentre os casos fatais ocorridos por asfixia, os mais divulgados foram os que ocorreram em 2005 na refinaria de Valero, no estado de Delaware, nos EUA (CSB, 2006); em 2013 com um motorista de caminhão na Rússia (RACZKOWSKA & SAMOJLOWICZ, 2013); e em 2015 na fábrica da LG na cidade de Paju a 40 Km de Seul, na Coreia do Sul (OLHAR DIGITAL, 2016). Por muito pouco, não fez parte desta estatística um acidente ocorrido em 2013 na cidade de Leon, no México, no qual os organizadores de uma agência publicitária, realizavam a filmagem de um comercial para televisão de uma bebida alcoólica (que é comumente misturada ao N2L em festas e baladas) e na tentativa de criarem um efeito especial simulando uma névoa similar ao *drink*, despejaram em uma piscina vários litros de N2L quase levando a óbito oito atores que participavam da filmagem (GALILEU, 2016).

2. JUSTIFICATIVA

O LaPClinVigiLeish possui um acervo de aproximadamente 1.000 cepas de *Leishmania* criopreservadas em N2L. Como cada cepa é criopreservada em mais de um criotubo, existem aproximadamente 5.000 estoques armazenados e distribuídos em um total de seis *containers* (“A”, “B”, “C”, “D”, “E” e “F”) contendo N2L e totalizando 11.610 posições possíveis de armazenamento.

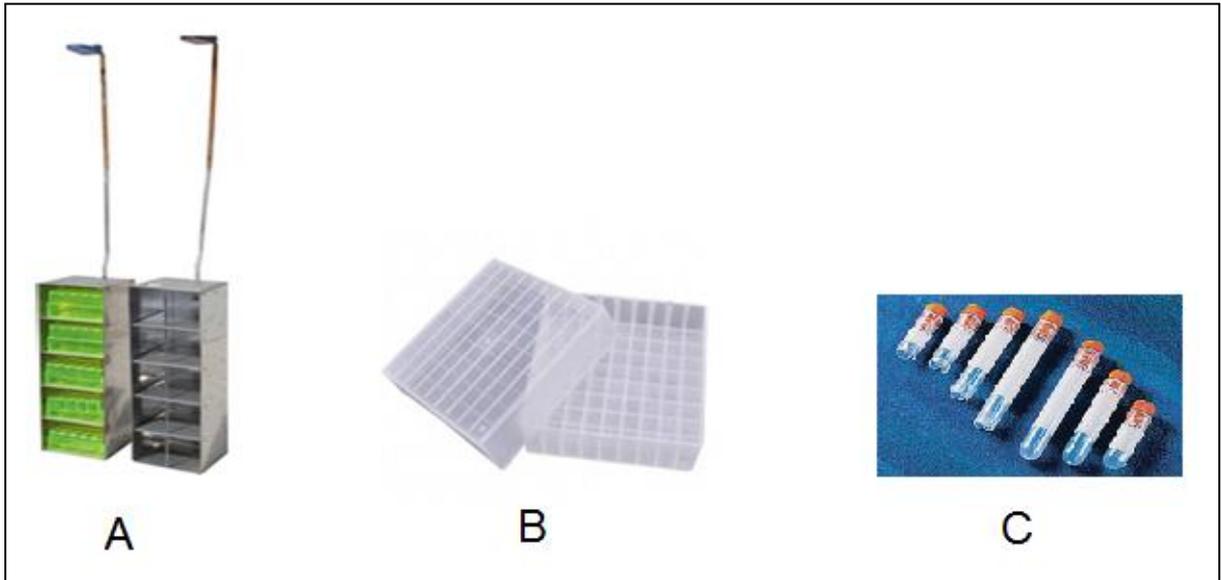
Os *containers* do LaPClinVigiLeish possuem tamanhos, volumes e capacidades de armazenamento diferentes, conforme descritos na Tabela 1. Entretanto, apesar destas diferenças, todos possuem uma estrutura básica semelhante a de uma garrafa térmica (Figura 1) e também possuem os mesmos acessórios, tais como: *canister* ou *rack* (peça metálica na forma de uma caneca ou estante) onde se encaixam as crioboxes (caixas plásticas com 25 ou 100 espaços) ou *cryoclips* (hastes metálicas com 5 espaços) e onde se armazenam os criotubos (tubos plásticos resistentes ao nitrogênio líquido e onde se armazenam as cepas de *Leishmania* criopreservadas), (Figuras 2 e 3).

Figura 1 – Estrutura interna de um *container*



Fonte: SILVA, MATA, DUARTE, 2015 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69162015000200313)

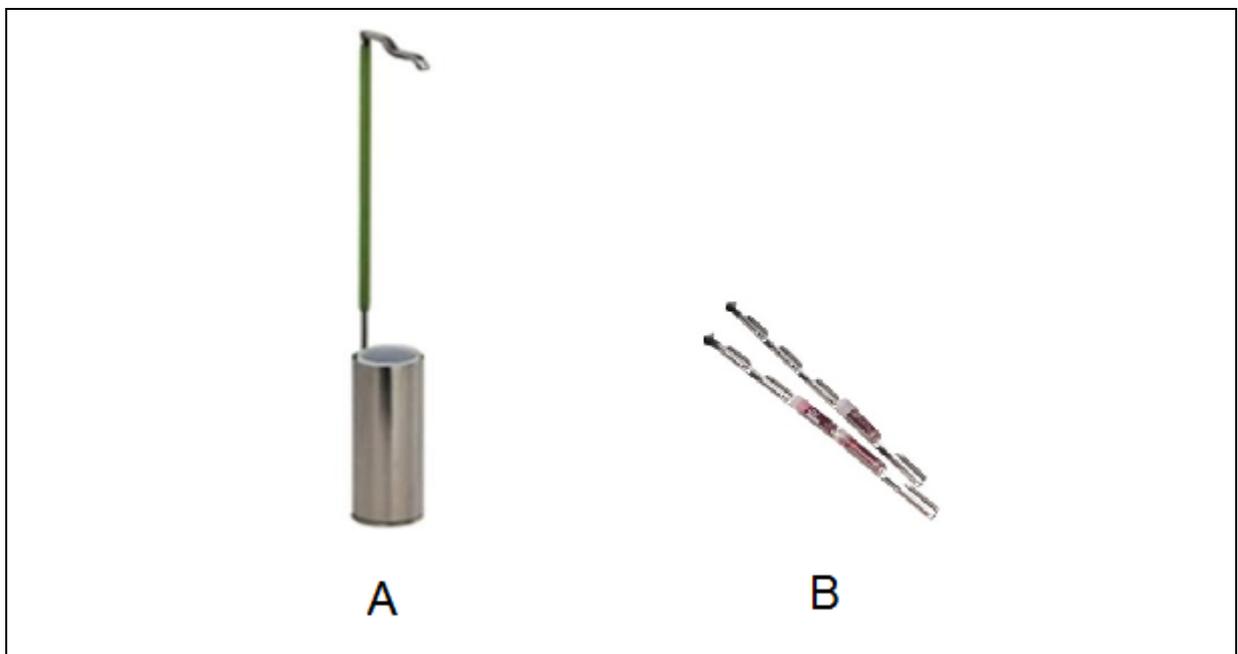
Figura 2 – Acessórios do *container* que usa *canister* tipo rack



Legenda: A) *canister* tipo rack; B) – *criobox*; e C) alguns modelos de *criotubos*

Fonte: Fig. A – Forlab <http://www.forlabdist.com.br/produto/botijao-criogenico-para-armazenagem-em-caixasracks-container-de-nitrogenio-liquido-%E2%80%93-sempercrio>; Fig. B – Experimentalis suprimentos para laboratórios <http://www.experimentalis.com.br/material-pl%C3%A1stico-para-laborat%C3%B3rio.php>; e Fig. C – Sigma-Aldrich <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/cls2028?lang=pt®ion=BR>

Figura 3 – Acessórios do *container* que usa *canister* tipo caneca



Legenda: A) *canister* tipo caneca; e B) *cryoclip* com alguns *criotubos*

Fonte: Fig. A – Ruralban <http://www.ruralban.com/inseminacao-artificial-e-t-e/botijoes-criogenicos/botijao-cryofarm-yds-3>; e Fig. B – Cole-Parmer Instrument Company, LLC (US) <https://www.coleparmer.com/c/cryogenic-accessories>

Tabela A – Especificações dos *containers* do Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses

<i>Container</i>	Volume (L)	Taxa de evaporação de nitrogênio p/dia (L)	Quantidade de <i>Canisters</i>	Quantidade de Criobox/ <i>Cryoclip</i>	Quantidade de Criotubos p/Criobox ou <i>Cryoclip</i>	Capacidade total de criotubos
A	35	0,27	5	5	25	625
B	35	0,27	5	5	25	625
C	35	0,27	6	27	5	810
D	165	0,85	6	8	100	4.800
E	121	0,99	4	10	100	4.000
F	35	0,27	6	5	25	750
Total de	espaços	para	armazenamento	em todos	os <i>containers</i>	11.610

Fonte: Dados do autor e dos Fabricantes (Wharton Taylor, Thermo Scientific e MVE)

A posição correta de armazenamento de cada criotubo (com o nome do *container*, número do *canister*, número da criobox ou *cryoclip*, posição da cepa [no interior da criobox ou do *cryoclip*], lote, data e o responsável pela criopreservação), é registrada em planilhas feitas em papel. Para retirar ou incluir um determinado criotubo contendo uma cepa de *Leishmania* nestes *containers*, deve-se recorrer a estas planilhas para localizar o criotubo a ser retirado ou o espaço vazio disponível para armazenagem de um novo. Tal processo é vagaroso e sujeito a erros de interpretação, devido às diferentes formas de grafia, além de outros problemas na rotulagem dos criotubos.

No momento em que algum criotubo for manipulado (Apêndice B), para a retirada ou inclusão no *container*, é necessário primeiramente a retirada do *canister* para se ter acesso a criobox ou ao *cryoclip* onde está o criotubo ou o espaço vazio, que no caso dos *containers* maiores (“D” e “E”) são mais pesados e quase impossíveis de serem erguidos por pessoas de pequena estatura e/ou porte físico. É sempre recomendado que se utilize corretamente os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs), além dos cuidados necessários para se evitar os riscos já mencionados de queimaduras, asfixia e explosão. Adicionalmente, deve-se tomar as medidas necessárias para que não ocorram problemas, tais como: descongelamento

desnecessário da cepa de *Leishmania* devido a um tempo muito longo de manuseio; contaminação da cepa e problemas de identificação como rotulagem errada, trocada, ilegível, apagada ou que se solte com facilidade, já que isso implicaria na perda do material (que em alguns casos é insubstituível), além de perdas de tempo e financeira.

Devido a evaporação constante do N₂L, os *containers* necessitam ser reabastecidos periodicamente para manter os níveis de N₂L uniformes. No LaPClinVigiLeish e em todos os outros laboratórios do INI, o envase ou a reposição dos *containers* com N₂L é realizado semanalmente. O reabastecimento dos *containers* contendo os estoques de *Leishmania spp* é realizado manualmente por um ou dois indivíduos do Serviço de Infraestrutura (Seinfra) no corredor do Pavilhão Maria Deane. Assim que os *containers* (próprios para o transporte e a transferência de N₂L) chegam cheios de N₂L, os funcionários do Seinfra necessitam levantar o *container* para verter o seu conteúdo para o interior do *container* que precisa ser reabastecido. Por não haver um local adequado para a estocagem dos *containers* de N₂L, nem uma base com rodízios para facilitar a sua locomoção, tanto o reabastecimento, quanto o procedimento de manipulação para a retirada ou inclusão de criotubos contendo amostras biológicas nos *containers* do LaPClinVigiLeish são realizados no corredor (onde a temperatura é sempre mais elevada que no interior do laboratório), colocando em risco não só as pessoas que estão realizando o procedimento de envase, como outras que estiverem passando pelo local (Figuras 4, 5, 6, 7, 8 e 9). No momento em que o N₂L é vertido manualmente para completar o nível dos *containers*, ele evapora muito rapidamente, condensando o vapor d'água presente no ar ambiente e formando uma espessa neblina. Além de enfumaçar o corredor, a neblina impede a visualização do bocal do *container* que está sendo abastecido, resultando com que o operador ultrapasse o nível máximo de capacidade do *container*, com o conseqüente transbordamento e derramamento de N₂L no chão. Outro risco é a possibilidade de explosão de algum criotubo quando retirado do N₂L e exposto a temperatura ambiente devido a rápida expansão do N₂, pois se o criotubo não estiver perfeitamente selado, provavelmente haverá N₂L em seu interior que ao se expandir em gás N₂ a uma razão de quase 700 vezes, o

criotubo não resistirá a pressão e se romperá em vários pedaços. Outro risco pode ser o de asfixia, se o ambiente do corredor não estiver suficientemente ventilado. É importante lembrar que se o operador não estiver usando os EPIs adequados e se outras pessoas não aguardarem o término do procedimento para transitar no corredor, podem acabar se acidentando. Vale ressaltar que este procedimento é realizado da mesma forma em todos os outros laboratórios do INI que utilizam N2L e que também necessitam fazer a sua reposição semanal. Além dos riscos de queimadura pelo frio, asfixia e explosão já descritos, a repetição frequente do procedimento acarreta um risco ergonômico para os funcionários do Seinfra que realizam esta tarefa.

Figura 4 – Containers no corredor e sem bases com rodízios



Fonte: Foto do autor

Figura 5 - A reposição do nitrogênio líquido sendo feita de forma manual



Fonte: Foto do autor

Figura 6 - A reposição do nitrogênio líquido sendo feita de forma manual



Fonte: Foto do autor

Figura 7 - A retirada de um *canister* tipo *rack* sendo realizada no próprio corredor



Fonte: Foto do autor

Figura 8 – Recolocação da tampa e o excesso de nitrogênio líquido sendo derramado no chão



Fonte: Foto do autor

Figura 9 – Desperdício de Nitrogênio líquido no chão do corredor



Fonte: Foto do autor

Espera-se que a implantação de novos procedimentos operacionais padrão para o envase ou reposição de nitrogênio líquido nos *containers*, para o gerenciamento e a manipulação de amostras criopreservadas em N2L impliquem no aumento do nível de biossegurança para os operadores envolvidos, na diminuição dos riscos (ergonômicos, químicos e biológicos) inerentes ao manuseio de N2L e na diminuição do tempo de localização dos criotubos contendo as amostras biológicas (cepas de *Leishmania* spp) para inclusão ou retirada dos *containers*. Espera-se também a redução no consumo de N2L, uma vez que a possibilidade de desperdício de N2L por extravasamento só ocorrerá se o operador não estiver seguindo o POP adequadamente (Apêndice A).

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Desenvolver novos procedimentos operacionais padrão para envase ou reposição de N2L, manipulação e controle de amostras biológicas criopreservados em N2L

Objetivos Específicos

1 - Desenvolver uma metodologia segura de manipulação dos criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas em *containers* de N2L

2 - Elaborar um POP descrevendo a sistemática para inclusão e retirada dos criotubos contendo amostras biológicas dos *containers* de N2L

3 - Modernizar a metodologia de envase ou reposição de N2L nos *containers* contendo as amostras biológicas

4 - Elaborar um POP descrevendo a sistemática para o envase ou reposição de N2L

5 - Desenvolver um Banco de Dados informatizado (em uma planilha do *software Microsoft Office Excel 2016*) com a localização de todos os criotubos contendo as amostras biológicas criopreservadas nos *containers* de N2L

6 - Elaborar um POP descrevendo como utilizar o Banco de Dados informatizado para localizar criotubos contendo amostras biológicas para a retirada ou um espaço vazio para inclusão de um novo criotubo

4. METODOLOGIA

4.1. Desenho do Estudo

Durante o período de julho de 2015 a março de 2017 foram desenvolvidos novos Procedimentos Operacionais Padrão para o envase ou reposição de N2L, o gerenciamento e a manipulação de amostras biológicas criopreservadas em N2L.

4.2 Desenvolvimento de metodologia segura para manipulação de amostras biológicas criopreservadas em N2L

Para alcançar o objetivo de desenvolver uma metodologia segura de manipulação das amostras biológicas criopreservadas em containers de N2L, foram realizadas diversas etapas, a saber: Montagem e adequação da Sala de Criogenia para o envase ou reposição de N2L e manipulação dos criotubos contendo amostras biológicas; Confeção e instalação de bases com rodízios nos containers; Confeção e instalação do guincho articulado; e Uso correto de Equipamentos de Proteção Individual.

4.2.1 Montagem e adequação da Sala de Criogenia para o envase ou reposição de N2L e manipulação dos criotubos contendo amostras biológicas

A fim de minimizar os riscos que podem ocorrer, tanto com as pessoas envolvidas nos procedimentos de envase ou reposição do N2L ou com a manipulação das amostras biológicas, quanto para aquelas que simplesmente estiverem transitando pelo corredor e próximas aos containers no momento em que algum destes procedimentos estiverem sendo efetuados, foi adequada uma pequena sala (de aproximadamente 2,25 m² e 6,75 m³) que nos foi cedida pela Coordenação de Atividades Diagnósticas da Vice Direção de Serviços Clínicos do

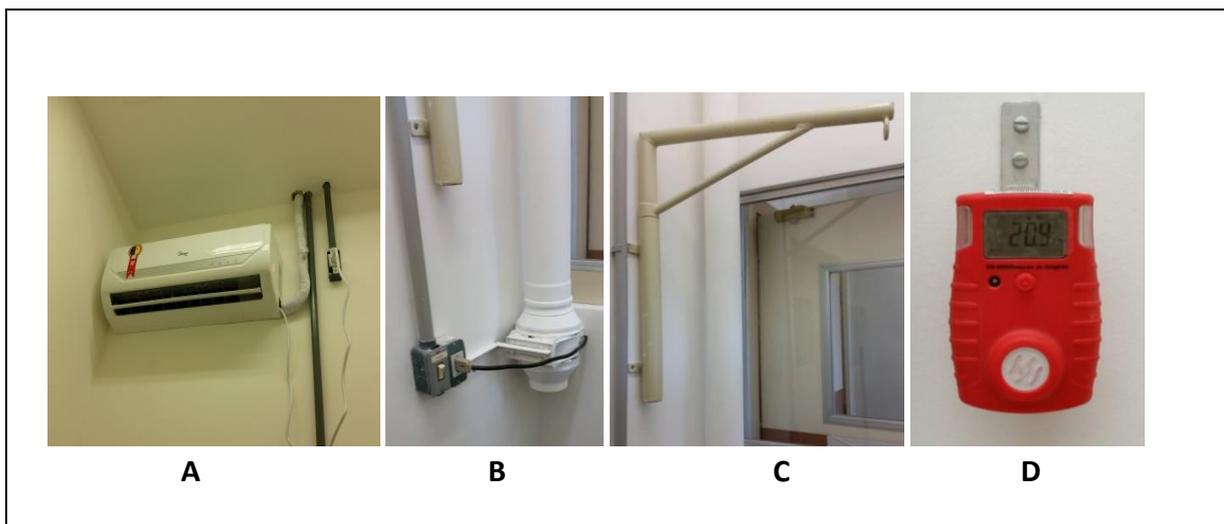
INI no Pavilhão Maria Deane, a fim de que os *containers* do LapClinVigiLeish fossem retirados do corredor e todos os procedimentos ligados ao uso de N₂L (envase, reposição e manipulação) fossem realizados em seu interior de forma mais segura. Nesta sala, que passou a ser denominada de Sala de Criogenia, foram instalados: uma bancada, um aparelho de ar condicionado, um exaustor, um guincho metálico articulado e um detector de oxigênio (oxímetro) (Figura 10).

Todos os *containers* utilizados para a estocagem de material biológico em N₂L produzidos atualmente e encontrados no mercado são projetados para manter a sua temperatura interna estável por vários dias ou semanas (utilizando o mesmo princípio de uma garrafa térmica), variando apenas o percentual de evaporação de acordo com o tamanho e a capacidade dos modelos existentes. Entretanto, de acordo com a temperatura externa e a quantidade de vezes que estes *containers* são abertos, a evaporação do N₂L pode aumentar. Logo, a estocagem dos *containers* em uma sala com ventilação e refrigeração adequadas, faz com que a evaporação do N₂L diminua em relação a outros *containers* que não estiverem estocados nas mesmas condições. Sendo assim, a instalação do ar condicionado e a conseqüentemente diminuição da temperatura no interior da sala, que tem ficado em torno dos 20°C (+ ou - 2°C), teve como objetivo reduzir a evaporação do N₂L e o conseqüente risco de que algum criotubo exploda no momento de sua retirada.

A instalação do exaustor teve como objetivo eliminar o excesso de N₂ e manter o nível de O₂ ambiente dentro dos parâmetros de segurança recomendados. Foi instalado também um detector de nível de concentração de oxigênio (oxímetro), com o objetivo de monitorar constantemente a concentração de O₂ no interior da sala. O oxímetro é ligado juntamente com o exaustor toda vez que há manipulação dos *containers* nesta sala. Com a utilização do oxímetro, os alarmes visual e sonoro são acionados toda vez que a concentração de O₂ atinge níveis inferiores a 19,5 %. Como o espaço físico da Sala de Criogenia é reduzido, não é possível que o procedimento de envase ou reposição de N₂L seja realizado de maneira segura em seu interior com a porta da sala totalmente fechada, pois durante esse procedimento, há um aumento da evaporação de N₂ e conseqüentemente uma diminuição na concentração de O₂. Já o procedimento de manipulação das amostras

biológicas pode ser realizado na Sala de Criogenia com a porta da sala fechada, tendo em vista que os níveis de concentração de O₂ costumam se manter dentro dos padrões de segurança aceitáveis.

Figura 10 – Preparo da Sala de Criogenia com a instalação dos equipamentos



Legenda: A) ar condicionado; B) exaustor; C) guincho metálico; e D) detector de oxigênio
Fonte: Fotos do autor

4.2.2 Confeção e instalação de bases com rodízios nos containers

Todo o material (vara de Metalon e rodízios) necessário para a confecção das bases com rodízios foi adquirido pelo autor dessa dissertação e entregue ao Serviço de Serralheria da Diretoria de Administração do Campus (Dirac). Após a confecção (Figura 11), as bases com rodízios foram instaladas na parte inferior de todos os *containers*, a fim de facilitar os seus deslocamentos e permitindo que os mesmos, fossem retirados do corredor e armazenados no interior da Sala de Criogenia, que será apresentada no tópico “Resultados e Discussão”.

Figura 11– Confeção das bases com rodízios



Fonte: Foto do autor

Figura 12– Guincho metálico



Fonte: Foto do autor

4.2.3 Confeção e instalação do guincho articulado

Todo o material (tubo de metal, roldana e corda) necessário para a confecção do guincho foi adquirido pelo autor do presente estudo e uma parte dele (o tubo de metal) foi entregue ao Serviço de Serralheria da Dirac. Após a confecção (Figura 12), o guincho foi fixado na parede da Sala de Criogenia onde foi adicionada uma corda e uma roldana com o intuito de facilitar e permitir que pessoas de pequena estatura e/ou porte físico, possam realizar sozinhas o içamento dos *canisters (racks)* pertencentes aos *containers* maiores e mais pesados. Tendo em vista de que ao se retirar um *canister* do *container* e a fim de se evitar que o N2L caia pelo chão e possa provocar algum acidente, além do desperdício, o responsável pelo procedimento, deve aguardar alguns segundos (segurando o *canister* no alto) até que todo o N2L residual escoe de dentro das caixas (crioboxes) para o interior do *container*.

4.2.4 Uso correto de Equipamentos de Proteção Individual

Com o objetivo de atender as normas de biossegurança, foi recomendado aos profissionais envolvidos tanto no procedimento de envase ou reposição do N2L quanto na manipulação das amostras biológicas criopreservadas nos *containers* de N2L o uso correto de EPIs, como jalecos de mangas compridas, calças compridas, sapatos fechados, luvas criogênicas (luvas confeccionadas em Nylon Cordura e 100% a prova d'água na parte externa, com três camadas de materiais isolantes na parte interna, concebidas para fornecer um alto nível de proteção às mãos e braços, contra temperaturas extremamente frias) e protetores faciais (Figura 13) (FISPQ, 2004). No caso do pessoal envolvido no procedimento de envase ou reposição do N2L, também foi sugerido o uso de aventais criogênicos (do mesmo tipo de material que é constituído a luva criogênica).

Figura 13 – Equipamentos de Proteção Individual recomendados para o uso com nitrogênio líquido



Legenda: A) jaleco de manga comprida; B) calça comprida; C) sapato fechado; D) luva criogênica; E) protetor facial e F) avental criogênico

Fonte: Fig. A – Dalmoro Equipamentos de Proteção, <http://www.dalmoro.com.br/produtos/344-jaleco-manga-longa-branco>, Fig. B – Meu bebê e eu, enxoval para bebês, <http://www.meubebeeu.com.br/colio-shop/>, Fig. C – Oxigênio Mogi, https://oxigeniomogi.websiteseguro.com/grupo_sub/sapato-seguran%C3%A7a/515/11, Fig. D - Shanghai Makoni Enterprise Co. Ltd., <https://www.alibaba.com/showroom/liquid-nitrogen-glove.html>, Fig. E – Palácio das Ferramentas e Parafusos LTDA, <https://www.palaciodasferramentas.com.>, e Fig. F – Ciencor Distribuidor Oficial Axygen no Brasil, <http://www.ciencor.com.br/catalogo/paginas/luvasdeprote%C3%A7%C3%A3ocryo.htm>.

4.3 Desenvolvimento de metodologia para o envase ou reposição de N2L

Para alcançar o objetivo de desenvolver uma metodologia para o envase ou reposição de N2L nos containers onde estão as amostras biológicas criopreservadas, foram realizadas as seguintes etapas: Montagem e instalação da nova metodologia para envase ou reposição de N2L nos *containers* onde estão criopreservadas as amostras biológicas.

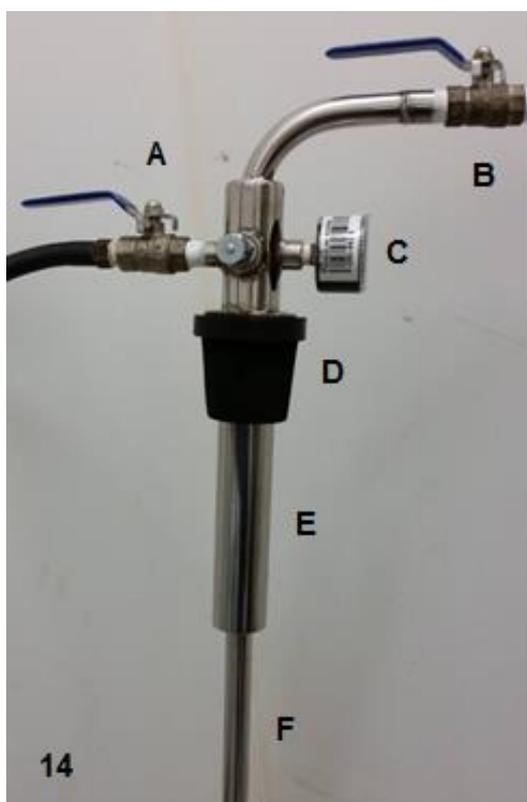
4.3.1 Montagem e instalação da nova metodologia para envase ou reposição de N2L nos containers onde estão criopreservadas as amostras biológicas

Após a adequação da Sala de Criogenia, foi realizada a montagem e a instalação do sistema de envase ou reposição de N2L em seu interior. Este sistema permite a transferência de líquidos (no caso o N2L) entre *containers* e consiste basicamente em um aspersor e um compressor de ar interligados por mangueiras de borracha e aço inox, conforme discriminado a seguir (Figuras 14 e 15). O aspersor, é uma peça de aço inox em cuja parte superior está localizado um manômetro, a válvula de entrada de ar (ligada na saída de ar de um compressor/aspirador ou bomba de vácuo por uma mangueira de borracha de $\frac{3}{4}$ de polegada) e a válvula de saída do N2L (conectada a uma mangueira flexível de aço inox de $\frac{3}{4}$ de polegada). Na parte inferior do aspersor existem dois tubos (um mais estreito e comprido por onde o N2L é expelido e outro mais largo e curto que envolve o primeiro tubo e por onde entra o ar que é insuflado). Neste tubo mais largo é encaixada uma rolha de borracha com o mesmo diâmetro da boca do *container* de transporte de N2L. Este sistema quando em funcionamento, faz com que o ar proveniente do compressor seja introduzido no interior do *container* de transporte, que devido à pressão gerada, obriga o N2L a sair pela outra extremidade onde está localizada a mangueira de aço inox, transferindo dessa forma o N2L para os *containers* de estocagem de amostras de *Leishmania* até que os seus níveis estejam completados.

É importante lembrar que apesar deste sistema de envase ou reposição de N2L funcionar através da pressão do ar obtida pelo compressor, não existe possibilidade de explosão gerada por uma pressão excessiva no interior do

container, pois mesmo que se esqueça o compressor ligado com alguma das válvulas do aspersor fechadas (gerando esse tipo de pressão), tanto a conexão da mangueira de borracha, quanto a rolha que é encaixada na boca do *container* de transferência serão rapidamente expelidas, já que não possuem nenhum tipo de fixação permanente como presilhas, abraçadeiras ou engates.

Figura 14 – Esquema básico de um Aspersor utilizado na transferência de nitrogênio líquido



Legenda: A) Válvula de entrada de ar, B) Válvula de saída do nitrogênio líquido, C) Manômetro, D) Rolha de borracha, E) Tubo por onde o ar é insuflado no container, e F) Tubo por onde o nitrogênio líquido é expelido do container

Fonte: Foto do autor

Figura 15 – Compressor / Aspirador de ar



Fonte: Foto do autor

De acordo com o modelo básico para confecção de POPs utilizado pelo LaPClinVigiLeish, foi elaborado um POP (POP VL 022) com todas as informações necessárias para a operação do sistema de envase ou reposição do N2L (Apêndice A).

4.4. Desenvolver um Banco de Dados informatizado (em uma planilha do software Microsoft Office Excel 2016) com a localização de todos os criotubos contendo as amostras biológicas criopreservadas nos containers de N2L

Para atender ao objetivo de desenvolver um banco de dados informatizado com a localização de todas as amostras biológicas criopreservadas nos containers de N2L foi elaborado um banco de dados usando Planilha do Software da Microsoft Office Excel 2016.

4.4.1. Elaboração e Criação de um Banco de Dados Informatizado

Foi criado um Banco de Dados Informatizado (em Planilha do Software da Microsoft Office Excel 2016 – Licença nº PJ6N8-K2F4M-T284Q-BRH3F-DJ2WT) para o rápido acesso as informações sobre a localização exata de todos os criotubos contendo cepas de *Leishmania spp* estocadas em todos os seis *containers* do LaPClinVigiLeish (*containers* “A”, “B”, “C”, “D”, “E” e “F”), contendo: o número do registro, a descrição da amostra, o nome do *container*, o número do *canister* ou do *rack*, o número da criobox ou do *cryoclip*, a posição do criotubo, o responsável, a data e o lote, totalizando 11.610 posições possíveis para retirada ou de espaços vazios para a inclusão de novos criotubos.

De acordo com o modelo básico para a confecção de POPs utilizado pelo LaPClinVigiLeish, foi elaborado um POP (POP VL 024) com todas as informações necessárias para a utilização do Banco de Dados Informatizado (Apêndice C).

4.5. Aspectos Éticos

Este projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do INI em 02/12/2015 e dispensado em 13/01/2016, pois devido à natureza do estudo, ficou evidenciado que não haveria necessidade de sua apreciação por um Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (Anexo A). Posteriormente foi solicitado um novo documento ao CEP (Anexo B) devido a alteração do título original da dissertação sugerida pela banca examinadora em 10/07/2017.

4.6. Financiamento

Este projeto foi financiado através do Programa de Objetivos e Metas (POM) do Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishamniose (LaPClinVigiLeish) do Instituto de Infectologia Evandro Chagas (INI) e por agências de fomento, através do financiamento de projetos coordenados pelos orientadores desse trabalho [bolsa Cientista do nosso Estado da Fundação Carlos Chagas de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – Faperj (AOS), bolsa Jovem Cientista da Faperj (MFM) e bolsa de Produtividade em Pesquisa (PQ) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (AOS)].

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após tomarmos todas as medidas para adequar e instalar os equipamentos necessários para a manipulação das amostras biológicas no interior da nova Sala de Criogenia (Figura 16), os procedimentos para a retirada ou inclusão de criotubos contendo as amostras biológicas nos containers de N2L do LaPClinVigiLeish agora podem ser realizados de maneira mais segura que os adotados anteriormente e que eram realizados no corredor do Pavilhão Maria Deane. O trabalho que ora é realizado em um ambiente controlado e monitorado evidencia uma melhora nas condições de trabalho, pois além de minimizar os riscos químicos e biológicos, com a colocação de bases com rodízios nos *containers* de N2L e a instalação do guincho, também reduziu o risco ergonômico, e possibilitou a retirada (içamento) dos *canisters* dos *containers* maiores e mais pesados por pessoas que anteriormente necessitavam de ajuda para realizar essa tarefa por possuírem baixa estatura e/ou pouca força física.

A Norma Regulamentadora nº 17 “visa estabelecer parâmetros que permitam a adaptação das condições de trabalho as características psicofisiológicas dos trabalhadores, de modo a proporcionar um máximo de conforto, segurança e desempenho eficiente” (NR 17, 2007), o subitem 17.2 (levantamento, transporte e descarga individual de materiais) no qual a análise ergonômica do trabalho cabe ao empregador, é o item mais polêmico da Norma e foi colocado para esclarecer ao auditor-fiscal do trabalho quanto a situações complexas em que fosse necessário a presença de um ergonomista, tanto que em 1990 foi encaminhada uma proposta à Secretaria de Segurança e Saúde no Trabalho (SSST) que incluía um quadro estabelecendo a carga máxima para levantamento levando-se em conta a idade (trabalhador adulto jovem e adolescente aprendiz), o sexo e a frequência do trabalho (raramente ou frequentemente). No que diz respeito a frequência, este quadro sugeria o peso máximo para levantamento de carga para homens adultos jovens de 50 Kg (quando raramente) e 18 Kg (quando frequentemente). Entretanto, como os valores desse quadro contrariavam o disposto no Capítulo V da Consolidação das Leis do Trabalho (CLT), que é de 60 Kg para adultos jovens, ele foi eliminado.

Lembrando que uma Norma Regulamentadora não pode contrariar a lei maior que é a CLT e que toda proposta de melhoria no que se refere a esse subitem deve passar pela mudança da CLT mediante aprovação no Congresso Nacional.

Outro ponto importante na criação da Sala de Criogenia e a consequente realização das atividades com N2L em seu interior, além da guarda dos *containers*, foi a liberação do corredor para que pessoas que não estão envolvidas com essa atividade possam transitar livremente sem se preocupar com os riscos inerentes ao manuseio de N2L e a própria segurança de todo acervo microbiológico (biobanco), já que de acordo com a Organização de Cooperação e de Desenvolvimento Econômico (OCDE) a segurança do acervo é um dos requisitos básicos para quem deseja atuar como um "Centro de Recursos Biológicos".

Figura 16 – Sala de Criogenia destinada a manutenção e recuperação de cepas de *Leishmania* criopreservadas em nitrogênio líquido depois de pronta



Fonte: Foto do autor

Assim que o sistema de envase e reposição de N2L foi montado e instalado na Sala de Criogenia (Figura 17), adotamos este novo procedimento para realizar o envase ou a reposição de N2L nos *containers* do LaPClinVigiLeish (Figura 18),

tendo em vista que após a realização de alguns testes para verificar se esta metodologia era realmente mais eficaz que a metodologia utilizada anteriormente (a de forma manual), nós conseguimos comprovar que este procedimento, além de mais prático e seguro, também mostrou uma economia no consumo de N2L de aproximadamente 33% em relação a anterior, pois na metodologia anterior eram utilizados semanalmente dois *containers* totalizando 90 L de N2L (um grande de 60 L e outro menor de 30 L) para fazer a reposição de cinco *containers* do LaPClinVigiLeish e atualmente apenas um *container* grande de 60 L é suficiente para o abastecimento dos atuais seis *containers*.

Figura 17 – Montagem do sistema de envase e reposição de nitrogênio líquido (aspersor, compressor e mangueiras de aço inox e borracha)



Fonte: Foto do autor

Figura 18 - O sistema de envase e reposição de nitrogênio líquido em operação



Fonte: Foto do autor

Com a instalação das bases com rodízios nas partes inferiores dos *containers* obteve-se uma maior mobilidade no manuseio e no deslocamento dos *containers*, que foram retirados do corredor e armazenados no interior da Sala de Criogenia (Figura 19).

Figura 19 – Os containers com as bases com rodízios instaladas



Fonte: Foto do autor

Após a instalação do guincho metálico e articulado, o ato de içar os *canisters* dos *containers* grandes e mais pesados, tornou-se mais prático e seguro, podendo agora ser operado inclusive por pessoas de pequena estatura e/ou porte físico, facilitando os procedimentos de manipulação para a retirada e inclusão de amostras biológicas (Figuras 20 e 21).

Para tentar minimizar as dificuldades em limitar o peso máximo que um trabalhador pode transportar sem comprometer a sua saúde e evitando o risco de lombalgia a NR17 recomenda o uso da equação ou Método Niosh (*National Institute for Occupational Safety and Health, USA*), que foi desenvolvido em 1981 e revisto posteriormente em 1991 e 1994 para avaliar a manipulação de cargas no trabalho sem risco elevado de desenvolver esse distúrbio. Essa equação para o levantamento de cargas utiliza vários fatores tais como: constante de carga, de distância horizontal, de altura, de deslocamento vertical, de assimetria, de frequência e de pega, que seguindo critérios biomecânicos, fisiológicos e psicofísicos determinam o limite de peso da carga que será levantada. Entretanto, fica difícil aplicar esta equação ao ato de envase ou reposição do N2L nos *containers* do LaPClinVigiLeish, pois segundo a própria equação “torna-se impossível aplicar a equação quando a carga levantada seja instável, situação em que a localização do centro de massas varia significativamente durante o levantamento. Este é o caso dos recipientes que contem líquidos ou dos sacos semivazios”.

Figura 20 – O guincho sendo utilizado por uma pessoa que anteriormente não conseguia retirar os *canisters* maiores e mais pesados sozinha



Fonte: Foto do autor

Figura 21 – O guincho sendo utilizado para facilitar a retirada dos *canisters* maiores e mais pesados



Fonte: Foto do autor

Com a criação de um Banco de Dados Informatizado feito em uma Planilha do Software da Microsoft Office Excel 2016 (Figura 22), as informações referentes a localização de todos os aproximadamente 5.000 estoques de *Leishmania* spp criopreservados e distribuídos pelas 11.610 posições possíveis dentro dos 6 (seis) *containers* de N2L do LaPClinVigiLeish não necessitam mais ser registradas em planilhas de papel e apesar dos tempos de busca para se localizar as amostras biológicas realizados nestas planilhas não terem sido mensurados, fica evidente que com o uso desta nova ferramenta, o tempo foi otimizado, pois basta digitar e inserir o

código da amostra biológica que se deseja localizar, que com apenas um “clic” todas as informações referentes a ela aparecem na tela do computador, agilizando o processo para a inclusão e retirada dos criotubos contendo as amostras biológicas dos *containers*.

Figura 22 – Print da tela do computador com o Banco de Dados informatizado criado em uma Planilha do Software da Microsoft Office Excel 2016

REGISTRO	DESCRIÇÃO DA AMOSTRA	CONTAINER	CANISTER	BOX / CRIOCLIP	POSIÇÃO	RESPONSÁVEL	DATA DA CRIO	LOTE
2		A (35VHC)	1	1.1	A1			
3		A (35VHC)	1	1.1	A2			
4		A (35VHC)	1	1.1	A3			
5		A (35VHC)	1	1.1	A4			
6		A (35VHC)	1	1.1	A5			
7		A (35VHC)	1	1.1	B1			
8		A (35VHC)	1	1.1	B2			
9		A (35VHC)	1	1.1	B3			
10		A (35VHC)	1	1.1	B4			
11		A (35VHC)	1	1.1	B5			
12		A (35VHC)	1	1.1	C1			
13		A (35VHC)	1	1.1	C2			
14		A (35VHC)	1	1.1	C3			
15		A (35VHC)	1	1.1	C4			
16		A (35VHC)	1	1.1	C5			
17		A (35VHC)	1	1.1	D1			
18		A (35VHC)	1	1.1	D2			
19		A (35VHC)	1	1.1	D3			
20		A (35VHC)	1	1.1	D4			
21		A (35VHC)	1	1.1	D5			
22		A (35VHC)	1	1.1	E1			
23		A (35VHC)	1	1.1	E2			
24		A (35VHC)	1	1.1	E3			
25		A (35VHC)	1	1.1	E4			
26		A (35VHC)	1	1.1	E5			
27		A (35VHC)	1	1.2	A1			
28		A (35VHC)	1	1.2	A2			
29		A (35VHC)	1	1.2	A3			

Fonte: Foto do autor

6. CONCLUSÃO

Com a adequação, montagem dos equipamentos, instalação do guincho e a guarda dos *containers* (após a colocação das bases com rodízios) na Sala de Criogenia, o procedimento de manipulação das amostras biológicas possibilitou que os riscos químicos, biológicos e ergonômicos fossem minimizados, além de permitir que os procedimentos possam ser realizados por pessoas que anteriormente necessitavam de ajuda para a retirada (içamento) dos *canisters* dos *containers* maiores e mais pesados. O fato dos *containers* de N2L deixarem de ficar expostos no corredor e agora serem armazenados na Sala de Criogenia, também contribuiu para aumentar a segurança do acervo microbiológico do LaPClinVigiLeish.

Após a montagem do sistema de envase ou reposição de N2L e com a adoção deste novo procedimento para o abastecimento semanal de N2L a fim de completar os níveis dos *containers* do LaPClinVigiLeish (mesmo não se podendo determinar pelo Método Niosh qual seria o peso máximo que um funcionário do Seinfra poderia levantar sem comprometer a sua saúde), pode agora ser realizado de forma mais prática e segura por uma única pessoa e sem a necessidade de se retirar o *container* de transferência do chão, pois de acordo com esse novo procedimento, todo o “trabalho pesado” é realizado pelo ar proveniente do compressor que força a saída do N2L, minimizando os riscos químicos e reduzindo o risco ergonômico para o operador. Este procedimento também mostrou uma economia de aproximadamente 33% no consumo de N2L em relação ao procedimento de envase ou reposição manual que era utilizado anteriormente no LaPClinVigiLeish, mas que ainda é utilizado em outros laboratórios do INI e da Fiocruz.

Após a implantação do Banco de Dados Informatizado (feito em uma Planilha do Software da Microsoft Office Excel 2016), acredita-se que houve uma redução no tempo de busca por informações referentes a localização de todos os aproximadamente 5.000 estoques de *Leishmania* spp criopreservados e distribuídos pelas 11.610 posições possíveis dentro dos 6 (seis) *containers* de N2L do LaPClinVigiLeish (mesmo não tendo sido mensurado no procedimento anterior) agilizando o processo de inclusão e retirada dos criotubos contendo amostras

biológicas dos *containers* de N2L. Como este novo procedimento deixou de ser realizado manualmente em folhas de papel, também diminuíram as chances de ocorrer alguma interpretação errônea por conta de uma grafia ruim, pouco legível ou apagada.

Três procedimentos operacionais padrão (POPs) foram elaborados e espera-se que com a adoção desses instrumentos o envase ou a reposição de N2L, o gerenciamento e manipulação de amostras biológicas criopreservadas em N2L possam ser realizadas por qualquer pessoa, desde que treinada e capacitada adequadamente, de forma segura, garantindo não só a qualidade, como a reprodutibilidade dos serviços.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o presente estudo tenha sido realizado no LaPClinVigiLeish, as técnicas e metodologias adotadas aqui relacionadas ao gerenciamento e a manipulação de amostras biológicas em condições de criopreservação, além do envase e reposição de N2L também poderão ser utilizadas por outros laboratórios da Instituição ou mesmo externos que utilizem nitrogênio líquido (N2L) como forma de criopreservar suas amostras biológicas, sejam elas provenientes de células (animais ou vegetais), tecidos, sangue, outros protozoários, bactérias, fungos ou vírus.

Apesar de ter sido criado o Banco de Dados informatizado (em uma Planilha do Software da Microsoft Office Excel 2016) e do gerenciamento das informações (sobre a localização dos criotubos contendo os estoques de *Leishmania* distribuídas pelos seis *containers* do LaPClinVigiLeish) terem sido transcritos das planilhas de papel para o Banco de Dados informatizado, é essencial que se faça um inventário físico completo dos *containers* para a confirmação destes dados.

8. DESDOBRAMENTOS

Foi sugerido que o projeto fosse encaminhado ao Núcleo de Inovação Tecnológica (NIT) do INI para avaliação de um possível pedido de patente como Modelo de Utilidade (MU). Seguindo esta recomendação, enviamos o projeto para ser avaliado pelo NIT que após vários esclarecimentos, encaminhou em setembro de 2016 para a Coordenação de Gestão Tecnológica (Gestec) da Fiocruz uma solicitação de Estudo de Viabilidade Patentária (EVP - SOL.00700210.2016 Título: “Modernização da metodologia de envase ou transferência de nitrogênio líquido (N₂L)” Nossa ref.: R000485). Entretanto, em fevereiro de 2017 recebemos da ÁREA DE PATENTES/GESTEC/VPPIS um parecer negativo (Parecer nº 02/17), informando que após as buscas realizadas nos Sites específicos, chegou-se à conclusão de que a referida solicitação “careceria de ato inventivo, uma vez que substituir o mecanismo gerador de pressão manual por um compressor de ar seria uma modificação trivial para um técnico no assunto, uma vez que seria uma mera automação de uma aplicação amplamente conhecida”.

9. REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS

ABNT NBR ISO 15189:2015 - **Laboratórios clínicos - Requisitos de qualidade e competência.**

Aga (**Nitrogênio**) [acesso em 15 de maio de 2015] Disponível em: <http://www.aga.com.br>.

Aguiar TDF, Teixeira MFS, Teles, CHA, Martins GRM, Bezerra Jr RQ, Costa EC. **Princípios básicos da criomicrobiologia: Enfoque nos tipos de microorganismos e nos principais agentes crioprotetores.** v.6, n.2, p.80-93, 2012.

Brasil Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância da Leishmaniose tegumentar Americana.** 2. ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2016.

Brockbank KGM, Covault JC, Taylor MJ. **Guide Cryopreservation. Part 1: Cryobiology and Cryopreservation.** Thermo Fisher Scientific Inc. p. 1-9; 2007.

Carvalho PR. **Boas práticas químicas em biossegurança.** Rio de Janeiro, Interciência; 2013.

Chang KP, Fong D, Bray RS. **Biology of *Leishmania* and Leishmaniose.** In K-P Chang, RS Bray (eds.), Leishmaniasis. Elsevier, London. P.1-30; 1985.

CSB, Confined Space Entry - **Worker and Would-be Rescuer Asphyxiated. Valero Refinery Case Study.** November 2, 1 – 22; 2006.

Cupolillo E, Grimaldi GJr, Momen H. **A general classification on New World *Leishmania* using numerical zymotaxonomy.** Am J Trop Med Hy 50 296-311; 1994.

Cupolillo E, Grimaldi GJr, Momen H. **Genetic diversity among *Leishmania* (*Viannia*) parasites.** Ann Trop Med Parasitol 91: 617-626; 1997.

FISPQ (Aga) (**Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico**) – **Nitrogênio.** 1ª Rev. Janeiro de 2004. [acesso em 20 de junho de 2015] Disponível em: <http://www.higieneocupacional.com.br/download/nitrogenio-aga.pdf>.

Galileu (**acidente com nitrogênio líquido**) [acesso em 10 de outubro de 2016] Disponível em: <http://revistagalileu.globo.com/Revista/Common/0,EMI339633->

17770,00-Nitrogenio+Em+Piscina+Provoca+Tragedia.html. Ed. 269 Dezembro de 2013.

Gama Gases, **Propriedade dos Gases – Nitrogênio**. (Revisão 05 – 20/12/2007) [acesso em 15 de maio de 2015] Disponível em: http://gamagases.com.br/propriedades_nitrogenio.htm.

Grimaldi GJr, Momen H, Naiffi RD, McMahan-Pratt D, Barret TV. **Characterization and classification of *Leishmania* parasites from humans, wild mammals, and sandflies in the Amazon region of Brazil**. Am J Trop Med Hyg 44: 645-661; 1991.

Ishak R, Linhares AC, Ishak MOG. **Biossegurança no laboratório**. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 31 (2) :126-131, 1989.

Lainson R, Shaw JJ. New World Leishmaniasis – **The Neotropical *Leishmania* species**. In: Colluer L, Balows A, Sussman M. Topley & Wilson`s. Microbiology and Microbial Infections – Vol 5, Parasitology. Londres: Editora Topley & Wilson`s. p. 241-266; 1998.

Lainson R, Shaw JJ. **Evolution, classification and geographical distribution**. Peters W; Killick-kendrick R, eds. The Leishmaniasis in Biology and Epidemiology. Vol 1. London: Academic Press, 1-120; 1987.

Lapage SP, Sneath PHA, Lessel EF, Skerman VBD, Seeliger HPR, Clark WA, editors **International Code of Nomenclature of Bacteria: Bacteriological Code**, 1990 Revision. Washington (DC): ASM Press; 1992.

Leu HJ, Clodius L. **An unusual cause of gangrene: cold Injury caused by liquid nitrogen**. Schweiz Med Wochenschr. Feb 11; 119 (6): 192-5. 1989.

Liquid Nitrogen - **Code of practice for handling**. Birkbeck University of London – Health and Safety Services. United Kingdom: Birkbeck, 2007. Retrieved. 02-08. 2012.

Lumsden WHR. **Problems in characterization and nomenclature of trypanosome populations**. Ann. Soc. Belge Méd. Trop. 57,4-5, 361-368. 1977.

Market C, Moller F. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic and species specific patterns. Proceeding of the National Academic Science of the USA, Washington, V45 p753-763, 1959.

- Martins MAS. **Estudo sobre algumas populações brasileiras de (*Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae:Phlebotominae): Morfologia e Hábitos Alimentares.** 2008. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa – Minas Gerais; 2008.
- Momen H, Salles CA, Grimaldi GJr, Silva AR, Miranda MGR, Cibulskis R. **Numeral zymotaxonomy of New World *Leishmania*.** ProcIII Simp Venezolano de Leishmaniasis. Lara Barq Venezuela p.1-3; 1987
- Norma Reguladora 15 (**NR 15**) [acesso em 15 de maio de 2015] Disponível em: <http://www.guiatrabalhista.com.br/legislacao/nr/nr15.htm>.
- Norma Reguladora 17 (**NR 17**) [acesso em 24 de abril de 2017] Disponível em: <http://www.guiatrabalhista.com.br/legislacao/nr/nr17.htm>
- Norma Reguladora 33 (**NR 33**) [acesso em 15 de maio de 2015] Disponível em: <http://www.guiatrabalhista.com.br/legislacao/nr/nr33.htm>.
- Olhar Digital (**acidente com nitrogênio líquido**) [acesso em 10 de setembro de 2016] Disponível em: <https://olhardigital.uol.com.br/noticia/2-pessoas-morrem-em-acidente-com-nitrogenio-na-lq/46159>
- Oxigênio Brasil (**Nitrogênio**) [acesso em 15 de maio de 2015] Disponível em: <http://www.oxigeniobrasil.com.br>.
- Paoli P. **Biobanking in microbiology: from sample collection to epidemiology, diagnosis and research.** FEMS Microbiol. Rev. 29:897-910; 2005.
- Pimenta FP, Nágila FC, Blanco EEN. **Interação Vetor-hospedeiro.** In: Rangel EF e Lainson R (edts); Flebotomíneos do Brasil, Fiocruz, pp: 275-289; 2003.
- Pollard JS; Simpson JE; Bukhari MI, **A lethal cocktail: gastric perforation following liquid nitrogen ingestion.** BMJ Case Reports. 2013.
- Raczkowska Z; Samojlowicz D, **A case of death of the driver due to environmental asphyxia by liquid nitrogen leakage in the cabin of the car during a road accident** Arch Med Sadowej Kryminol. Oct-Dec; 63 (4): 288-92; 2013.
- Rangel EF, Azevedo AC, Andrade CA, Souza NA, Wermelinger ED. **Studies on sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in a foci of cutaneous Leishmaniasis**

- in Mesquita**, Rio de Janeiro State, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 85, p. 39-45; 1990.
- Rangel EF. **Transmission of American Cutaneous Leishmaniasis in peridomestic foci in Rio de Janeiro State and other similar situations compared to the classical epidemiology in Amazon region.** Tropical Disease, Society and the Environment. Relatórios de Conferências 2: 103-110; 1995.
- Roblin, P, Richards A, Cole R. **Liquid nitrogen injury: A case report.** Burns, 23 (7-8) :638-40; nov-dec; 1977.
- Ross, R. Notes on the bodies recently described by Leishman and Donovan. Brit Med J 11:1261-1262;1903
- Saf'janova VM. Classification of the genus *Leishmania* Ross 1903. Chapter 11. In: **The Leishmaniasis. Protozoology, part 7. Academy of Sciences, USSR All Union Society of Leningrad** p 95-101; 1982.
- Simione FP. **Cryopreservation Manual.** Nalge International Coop. 1998 [acesso em 15 de maio de 2015]. Disponível em: <http://www.nalgenelabware.com/techdata/technical/cryo.pdf>.
- Su SC, Garbers S, Rieper TD, Toniolo P. **Temperature variations in upright mechanical freezers.** Cancer EpidemBiomar. 5:139-140; 1996.
- Tibayrenc M, Kjelberg F, Ayala FJ. **A clonal theory of parasitic protozoa: the populations structures of Entamoeba, Giardia, Leishmania, Naegleria, Plasmodium, Triachomonas and Trypanosoma and their medical and taxonomical consequences.** Proc Natl Acad Sci 87: 2414-2418; 1990.
- Tomlinson MJ. **Risk management in cryopreservation associated with assisted reproduction.** CryoLetters, 29(2), 165-174; 2008.
- Tomlinson MJ. **Managing risk associated with cryopreservation.** Human Reproduction, 20 (7), 1751-1756; 2005.
- Walsh MJ; Tharrat SR; Offerman SR. **Liquid nitrogen ingestion leading to massive pneumoperitoneum without identifiable gastrointestinal perforation.** J Emerg Med. 38(5):607-9; Jun 2010.
- Walters LL. **Leishmania differentiation in natural and unnatural sand fly hosts.** J Euk Microbiol 40: 196-206; 1993.

White Martins (**Nitrogênio**) [acesso em 15 de maio de 2015] Disponível em:
<http://www.whitemartins.com.br>.

Wolfe J & Bryant G. **Cellular cryobiology: thermodynamic and mechanical effects**. Int J Refrig. 24:438-450; 2001.

10. GLOSSÁRIO

Amostra - a parte de uma população coletada em uma única ocasião (LUMSDEN, 1977).

Canister – pode ser do tipo caneca ou *rack* (estante). Peça metálica onde se encaixam as crioboxes (no tipo *rack*) ou os *cryoclips* (no tipo caneca).

Cepa - um conjunto de populações originárias de uma determinada espécie e definida pela posse de um ou mais caracteres designados (LUMSDEN, 1977). Outra designação segundo o *International Code of Nomenclature of Bacteria: Bacteriological Code*: Uma cepa é composta pelos descendentes de um único isolamento em cultura pura. Normalmente, uma cepa é constituída por uma sucessão de culturas e muitas vezes é derivada de uma única colônia (LAPAGE et al, 1992).

Container - o mesmo que botijão criogênico ou frasco *dewar* para nitrogênio líquido.

Criobox - o mesmo que caixa criogênica. Caixa plástica resistente ao nitrogênio líquido onde se armazenam os criotubos.

Cryoclip - o mesmo que *cane*, vara, vareta ou palheta. Peça de alumínio onde se encaixam os criotubos.

Criotubo - o mesmo que tubo criogênico. Tubo plástico resistente ao nitrogênio líquido onde se armazenam as amostras biológicas criopreservadas.

Cryoslleve - tubo de plástico ou papelão que envolve um *crioclip* para evitar que os criotubos se soltem dentro do *container*.

Dewar - frasco com duas paredes espelhadas internamente, entre as quais existe vácuo, usado especificamente para armazenar gases liquefeitos; frasco Dewar, também conhecido como garrafa térmica.

Estoques - populações derivadas por passagem seriadas “in vivo” e “in vitro” a partir de um isolamento primário, sem qualquer implicação de homogeneidade ou caracterização (LUMSDEN, 1977).

População - grupo de organismos presentes em um dado momento em um determinado hospedeiro ou cultura (LUMSDEN, 1977).

Rack – tipo de canister em foma de estante.

11. APÊNDICES

APÊNDICE A – POP VL 023 - “Manipulação para retirada ou inclusão de amostras biológicas criopreservadas nos containers contendo Nitrogênio Líquido”

APÊNDICE B - POP VL 022 - “Envase ou Reposição de Nitrogênio Líquido”

APÊNDICE C - POP VL 024 - “Orientação para gerenciamento do Banco de Dados informatizado com a localização dos criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas em containers de nitrogênio líquido”

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Manipulação para inclusão ou retirada de criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas nos <i>containers</i> de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 023</p>
<p>Emissão: 08/06/2017</p>	<p>Revisão: ---</p>	<p>Nº 00</p>

1. OBJETIVO

Estabelecer o procedimento de manipulação para inclusão ou retirada de criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas nos *containers* de nitrogênio líquido, onde está todo o acervo (cepas de *Leishmania*) do Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses do INI.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses do INI.

3. DEFINIÇÃO/SIGLAS

CANISTER: O mesmo que *rack* ou caneca. Peça metálica onde se encaixam as crioboxes ou os *cryoclips*.

CONTAINER: O mesmo que botijão criogênico.

CRIOBOX: O mesmo que caixa criogênica. Caixa plástica resistente ao nitrogênio líquido onde se armazenam os criotubos.

CRYOCLIP: O mesmo que *cane*, vara, vareta ou palheta. Peça de alumínio onde se encaixam os criotubos.

CRYOFLEX TUBING: Tubo plástico flexível, que pode ser selado por calor, a fim de envolver um criotubo que contenha uma cepa mais “perigosa”.

CRIOTUBO: O mesmo que tubo criogênico. Tubo plástico resistente ao nitrogênio líquido onde se armazenam as cepas de *Leishmania* criopreservadas.

FROSTBITE - Rápido congelamento devido ao frio extremo (que dependendo do tempo de exposição, pode provocar lesões muito graves e até gangrena).

INI: Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

N.A.: Não se Aplica.

O-RING – Tipo de junta de vedação em forma de anel feito de borracha ou silicone, também conhecido como junta tórica.

<p>ELABORAÇÃO LaPClinVigiLeish</p>	<p>ANÁLISE CRÍTICA LaPClinVigiLeish</p>	<p>APROVAÇÃO LaPClinVigiLeish</p>
<p>Luiz Eduardo de Carvalho Paes</p>	<p>Luciana de Freitas Campos Miranda</p>	<p>Aline Fagundes da Silva</p>

Cópia Não Controlada – Reprodução Proibida

Página 1 de 6

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<h2>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</h2>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Manipulação para inclusão ou retirada de criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas nos <i>containers</i> de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 023</p>

POP: Procedimento Operacional Padronizado ou Procedimento Operacional Padrão.

LaPClinVigiLeish: Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses.

EPIs: Equipamentos de Proteção Individual.

mL: mililitro.

N₂: Nitrogênio.

N₂L: Nitrogênio Líquido.

O₂: Oxigênio.

4. RESPONSABILIDADES

4.1. Profissionais do setor:

Ter ciência dos procedimentos adequados ao uso deste POP, do uso adequado dos EPIs e manter o ambiente de trabalho dentro dos padrões de segurança.

4.2. Chefia do setor:

4.2.1. Garantir as condições de realização do que esta apregoado neste POP e garantir o seu cumprimento.

NOTA: Estas atribuições, a critério da Chefia do Laboratório, podem ser realizadas por um profissional do Laboratório por ela designado.

5. FLUXOGRAMAS

N.A.

6. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES

Inclusão ou retirada de criotubos contendo as amostras biológicas

Primeiramente, deve se solicitar a(s) pessoa(s) autorizada(s) a gerenciar o Banco de Dados informatizado [elaborado no *Software Microsoft Office Excel* (planilha de cálculo) 2016 (ou similar) e que deverá estar previamente instalado em algum PC (*Personal Computer*) ou *Notebook* do laboratório], para localizar e informar a posição nos *containers* dos criotubos (contendo as amostras biológicas [cepas de *Leishmania*]) que serão retirados ou os espaços vazios para a inclusão de novos criotubos.

Para a inclusão ou retirada de criotubos contendo amostras biológicas dos *containers* do LaPClinVigiLeish é necessário levar para a sala de criogenia um mapa com a localização dos criotubos ou dos espaços vazios e uma caixa de isopor contendo um pouco de gelo seco, a fim de

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<h2>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</h2>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Manipulação para inclusão ou retirada de criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas nos <i>containers</i> de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 023</p>

se manter a amostra congelada até o momento de ser inserida em algum *container* ou no caso de retirada, de se evitar o seu descongelamento prematuro e também de diminuir o risco de explosão (por diferença de pressão) de algum criotubo no momento em que este for retirado do nitrogênio líquido.

Obs.: Para a criopreservação das cepas em N2L, recomenda-se o uso de criotubos (tubos para criogenia) com as seguintes especificações:

Tubo com capacidade de 2 mL; confeccionado em polipropileno de alta resistência; resistente a temperatura de -196°C; com tampa de rosca interna, com *O-ring* de silicone ou borracha para uma vedação segura; com fundo arredondado (em “U”) com ou sem base para apoio; esterilizado por radiação gama; livre de DNA, DNase, RNase e pirogênio; com graduação externa e área de marcação. Poucas marcas do mercado atendem totalmente estas especificações, outras recomendam que os seus produtos sejam utilizados somente no vapor do N2L e que caso a imersão do criotubo seja necessária, eles aconselham selar o criotubo com um *cryoflex tubing*.

6.1. Instruções de uso para Inclusão de criotubos contendo as amostras biológicas:

6.1.1. Abrir a porta da Sala de Criogenia onde estão os *containers* do LaPClinVigiLeish e ligar o interruptor de luz e do exaustor (o do exaustor já está ligado direto com o interruptor da luz para evitar que seja esquecido). **Obs.:** Este procedimento pode ser realizado com a porta da sala fechada desde que o detector de oxigênio (oxímetro) esteja ligado a fim de monitorar a concentração de O₂ do ambiente.

6.1.2. Colocar os EPIs adequados e obrigatórios (jaleco, protetor facial e luvas para criogenia) a fim de se evitar os riscos de queimadura de frio pelo efeito *frostbite*.

6.1.3. Ligar o oxímetro (detector de O₂) a fim de monitorar a concentração de O₂ na sala e evitar o risco de asfixia. **Obs.:** O oxímetro trabalha com uma faixa de aceitação de concentração de oxigênio entre 19,5 e 23,5%. Se a concentração de O₂ for inferior ou superior a faixa de aceitação, um alarme visual e sonoro será acionado, indicando que a pessoa deverá se evadir do local.

6.1.4. Verificar no mapa qual o *container*, o *canister*, a criobox (ou *cryoclip*) e a posição em que o(s) criotubo (s) será(ão) colocado(s).

6.1.5. Abrir o cadeado do referido *container*, retirar a tampa, retirar o *canister* (ou *cryoclip*) que poderá ser auxiliado com o uso do guincho; e a criobox onde será(ão) inserido(s) o(s) criotubo(s).

Obs.: No caso de se utilizar o guincho, primeiramente deve-se colocar o *container* sob o guincho, depois ajustar a posição do braço articulado para que a roldana fique sobre a abertura do *container*. Feito isso, deve-se introduzir o laço da extremidade da corda na haste do *canister* e puxa-lá para baixo, fazendo com que o *canister* suba. Com o *canister*

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Manipulação para inclusão ou retirada de criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas nos <i>containers</i> de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 023</p>

posicionado com a sua parte inferior ainda dentro do *container*, deve-se aguardar alguns segundos até que todo N2L residual escorra de todas as crioboxes para o interior do *container*, evitando o risco de acidentes e o desperdício de N2L.

6.1.6. O *canister* pode ser colocado na bancada para a retirada da criobox ou dependendo da conveniência, pode permanecer suspenso pela corda para a retirada da criobox.

6.1.7. Colocar a criobox dentro da caixa de isopor.

6.1.8. Abrir a tampa da criobox, colocar o(s) criotubo(s) na(s) posição(ões) desejada(s) no seu interior e quando terminar, fechar a tampa da criobox novamente.

6.1.9. Retornar a criobox para a sua posição no *canister*.

6.1.10. Colocar o *canister* no interior do *container* ou baixar a corda lentamente (no caso dele ter permanecido suspenso) até que o *canister* esteja todo submerso no N2L, retire o laço da corda da haste do *canister*.

6.1.11. Reposicione o braço articulado do guincho para a posição inicial.

6.1.12. Feche a tampa do *container*, recoloque o cadeado e anote a(s) posição(ões) do(s) criotubo(s) no mapa.

6.1.13. Guardar os EPIs.

6.1.14. Desligar o oxímetro e o interruptor de luz (e do exaustor).

6.1.15. Retirar a caixa de isopor contendo gelo seco e devolver a sobra no recipiente adequado.

6.1.16. Trancar a porta da Sala de Criogenia.

6.1.17. Levar o mapa com as informações sobre a localização dos criotubos (contendo as amostras biológicas) introduzidos no *container* para a(s) pessoa(s) autorizada(s) a gerenciar o Banco de Dados Informatizado e solicitar que sejam realizadas as atualizações.

6.2. Instruções de uso para retirada de criotubos contendo as amostras biológicas:

6.2.1. Abrir a porta da Sala de Criogenia onde estão os *containers* do LaPClinVigiLeish e ligar o interruptor de luz e do exaustor (o do exaustor já está ligado direto com o interruptor da luz para evitar que seja esquecido). **Obs.: Este procedimento pode ser realizado com a porta da sala fechada desde que o detector de oxigênio (oxímetro) esteja ligado a fim de monitorar a concentração de O₂ do ambiente.**

6.2.2. Colocar os EPIs adequados e obrigatórios (jaleco, protetor facial e luvas para criogenia) a fim de se evitar os riscos de queimadura de frio pelo efeito *frostbite*.

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<h2>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</h2>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Manipulação para inclusão ou retirada de criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas nos <i>containers</i> de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 023</p>

6.2.3. Ligar o oxímetro (detector de O₂) a fim de evitar o risco de asfixia. **Obs.: O oxímetro trabalha com uma faixa de aceitação de concentração de oxigênio entre 19,5 e 23,5%. Se a concentração de O₂ for inferior ou superior a faixa de aceitação, um alarme visual e sonoro será acionado, indicando que a pessoa deverá se evadir do local.**

6.2.4. Verificar no mapa qual o *container*, o *canister*, a criobox (ou *cryoclip*) e a posição em que o(s) criotubo(s) será(ão) retirado(s).

6.2.5. Abrir o cadeado do referido *container*, retirar a tampa, retirar o *canister* (ou *cryoclip*) que poderá ser auxiliado com o uso do guincho; e a criobox onde será(ão) retirado(s) o(s) criotubo(s).

Obs.: No caso de se utilizar o guincho, primeiramente deve-se colocar o *container* sob o guincho, depois ajustar a posição do braço articulado para que a roldana fique sobre a abertura do *container*. Feito isso, deve-se introduzir o laço da extremidade da corda na haste do *canister* e puxa-lá para baixo, fazendo com que o *canister* suba. Com o *canister* posicionado com a sua parte inferior ainda dentro do *container*, deve-se aguardar alguns segundos até que todo N₂L residual esorra de todas as crioboxes para o interior do *container*, evitando o risco de acidentes e o desperdício de N₂L.

6.2.6. O *canister* pode ser colocado na bancada para a retirada da criobox ou dependendo da conveniência, pode permanecer suspenso pela corda para a retirada da criobox.

6.2.7. Colocar a *criobox* dentro da caixa de isopor.

6.2.8. Abrir a tampa da *criobox*, retirar o(s) criotubo(s) da(s) referida(s) posição(ões) no seu interior e quando terminar fechar a tampa da criobox novamente.

6.2.9. Retornar a criobox para a sua posição no *canister*.

6.2.10. Colocar o *canister* no interior do *container* ou baixar a corda lentamente (no caso dele ter permanecido suspenso) até que o *canister* esteja todo submerso no N₂L, retire o laço da corda da haste do *canister*.

6.2.11. Reposicione o braço articulado do guincho para a posição inicial.

6.2.12. Feche a tampa do *container*, recoloque o cadeado e anote a(s) posição(ões) do(s) criotubo(s) retirado(s) no mapa.

6.2.13. Guardar os EPIs.

6.2.14. Desligar o oxímetro e o interruptor de luz (e do exaustor).

6.2.15. Retirar a caixa de isopor contendo gelo seco e devolver a sobra no recipiente adequado.

6.2.16. Trancar a porta da Sala de Criogenia.

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<h2>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</h2>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Manipulação para inclusão ou retirada de criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas nos <i>containers</i> de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 023</p>

6.2.17. Levar o mapa com as informações sobre a localização dos espaços vazios no *container* para a(s) pessoa(s) autorizada(s) a gerenciar o Banco de Dados Informatizado e solicitar que sejam realizadas as atualizações.

8. FORMULÁRIOS UTILIZADOS

N.A.

9. REFERÊNCIAS

ABNT NBR ISO/IEC 15186: 2015 – Laboratórios clínicos – Requisitos de qualidade e competência.

FISPQ (Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico) – Nitrogênio. 1ª Rev. Janeiro de 2004. [acesso em 20 de junho de 2015] Disponível em: <http://www.higieneocupacional.com.br/download/nitrogenio-aga.pdf>

LIQUID NITROGEN - Code of practice for handling. Birkbeck University of London – Health and Safety Services. United Kingdom: Birkbeck, 2007. Retrieved 2012-02-08.

MSDS – P-4630-J – Nitrogen, Refrigerated Liquid – Praxair Inc. 2

NR-15 [acesso em 15 de maio de 2015] Disponível em <http://www.guiatrabalhista.com.br/legislacao/nr/nr15.htm>

NR-33 [acesso em 15 de maio de 2015] Disponível em <http://www.guiatrabalhista.com.br/legislacao/nr/nr33.htm>

10. DISTRIBUIÇÃO

Sala de Criogenia do Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses do INI.

11. HISTÓRICO DE REVISÕES

No. DA REVISÃO	DATA	ITEM ALTERADO	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO	RESP. PELA ALTERAÇÃO	JUSTIFICATIVA
00	---	N.A.	N.A., pois é a 1ª versão do documento	N.A.	Emissão inicial

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Envase ou Reposição de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 022</p>
<p>Emissão: 08/06/2017</p>	<p>Revisão: ---</p>	<p>Nº 00</p>

1. OBJETIVO

Estabelecer o procedimento para o envase ou a reposição de Nitrogênio Líquido (N₂L) nos *containers* de estocagem das amostras biológicas, onde está criopreservado todo o acervo de cepas de *Leishmania* do Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses do INI.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses do INI.

3. DEFINIÇÃO/SIGLAS

INI: Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

N.A.: Não se Aplica.

POP: Procedimento Operacional Padronizado ou Procedimento Operacional Padrão

LaPClinVigiLeish: Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses.

EPIs: Equipamentos de Proteção Individual

N₂: Nitrogênio

N₂L: Nitrogênio Líquido

cm: Centímetro

pol: Polegada

L: Litro

O₂: Oxigênio

4. RESPONSABILIDADES

4.1. Profissionais do setor:

Ter ciência dos procedimentos adequados ao uso deste POP, do uso adequado dos EPIs e manter o ambiente de trabalho dentro dos padrões de segurança.

4.2. Responsável Técnico pelo envase ou reposição do N₂L:

4.2.1. Fazer a reposição periódica (semanal) de N₂L em todos os *containers* grandes (com capacidades aproximadas de 121 L e 165 L) e pequenos (capacidades aproximadas de 35 L)

ELABORAÇÃO LaPClinVigiLeish	ANÁLISE CRÍTICA LaPClinVigiLeish	APROVAÇÃO LaPClinVigiLeish
Luiz Eduardo de Carvalho Paes	Luciana de Freitas Campos Miranda	Aline Fagundes da Silva
<p>Cópia Não Controlada – Reprodução Proibida</p>		

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Envase ou Reposição de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 022</p>

para compensar a evaporação, mantendo os níveis de N2L próximos a 19 polegadas (pol) ou 48 centímetros (cm) no *container* “D”, 22 pol ou 56 cm no *container* “E” e de 13 pol ou 33 cm nos *containers* “A”, “B”, “C” e “F”).

4.2.2. Registrar a data e os *containers* onde foram feitas as reposições periódicas de N2L no formulário FVIG 069.

4.3. Chefia do setor:

4.3.1. Garantir as condições de realização do que esta apregoado no POP e garantir o cumprimento determinado no POP;

NOTA: Estas atribuições, a critério da Chefia do Laboratório, podem ser realizadas por um profissional do Laboratório por ela designado.

5. FLUXOGRAMAS

N.A.

6. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES

6.1. Identificação do equipamento:

Dispositivo para transferência de N2L que consiste em uma peça (aspersor) de aço inox com manômetro, válvula de entrada de ar (ligada na saída de ar de um compressor/aspirador ou bomba de vácuo por uma mangueira de borracha de ¾ de pol), válvula de saída do N2L (conectada a uma mangueira flexível de aço inox de ¾ de pol) onde a peça é encaixada em uma rolha de borracha com o mesmo diâmetro da boca do *container* de transporte de N2L.

6.2. Instruções de uso:

Podem ser utilizados 2 procedimentos diferentes para se fazer o envase ou a reposição de N2L nos *containers* do LaPClinVigiLeish.

6.2.1. Envase ou Reposição de N2L utilizando um compressor/aspirador elétrico

6.2.1.1. Abrir a porta da Sala de Criogenia onde estão os *containers* do LaPClinVigiLeish e ligar o interruptor de luz e do exaustor (o do exaustor já está ligado direto com o interruptor da luz para evitar que seja esquecido). **Obs.:** Manter a porta aberta durante o procedimento para evitar o risco de asfixia.

6.2.1.2. Colocar os EPIs adequados e obrigatórios (jaleco, protetor facial e luvas de criogenia) a fim de se evitar os riscos de queimadura de frio pelo efeito *frostbite* (congelamento ultra rápido).

6.2.1.3. Ligar o oxímetro (detector de O₂) a fim de monitorar a concentração de O₂ na sala e evitar o risco de asfixia. **Obs.:** O oxímetro trabalha com uma faixa de aceitação de concentração de oxigênio entre 19,5 e 23,5%. Se a concentração de O₂ for inferior ou

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Envase ou Reposição de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 022</p>

superior a faixa de aceitação, um alarme visual e sonoro será acionado, indicando que a pessoa deverá se evadir do local.

6.2.1.4. Fazer a conexão do dispositivo de transferência do N2L entre o *container* de transporte e os *containers* à serem completados, introduzindo a parte inferior do aspensor (onde está posicionada a rolha de borracha) na boca do *container* de transporte de N2L com a válvula de saída fechada e com o compressor desligado.

6.2.1.5. Abrir o cadeado correspondente, retirar a tampa do *container* que deverá ser completado e introduzir a extremidade da mangueira de aço inox.

6.2.1.6. Ligar o compressor/aspirador e abrir a válvula de saída de N2L do aspensor. **Obs.: Evitar o contato das peças congeladas (parte inferior do aspensor e mangueira de aço inox) com a pele sem a devida proteção, a fim de evitar o risco de queimadura de frio.**

6.2.1.7. O N2L deverá ser colocado nos *containers* até cobrir a última gaveta ou *cryoclip* dos *canisters*. No caso do *container* “D” próximo a 19 polegadas (pol) ou 48 centímetros (cm), do *container* “E” 22 pol ou 56 cm e dos *containers* “A”, “B”, “C” e “F” de 13 pol ou 33 cm.

6.2.1.8. Utilizar a régua de medição apropriada, caso seja necessário confirmar o nível de N2L.

6.2.1.9. Após o N2L atingir a marca desejada, fechar a válvula de saída de N2L do aspensor, recolocar a tampa do *container*, fechar o cadeado e repetir o processo, repassando a mangueira de aço inox para o próximo *container* que será enchido e reabrir a válvula de saída de N2L do aspensor. **Obs.: Dependendo do tempo que levará para se repetir o processo de envase ou reposição do próximo container, o compressor poderá ser desligado, a fim de se evitar o acúmulo de pressão no interior do container.**

6.2.1.10. Após fazer a reposição de todos os *containers*, desligar o compressor, desconectar o sistema de reposição de N2L do *container* de transporte e guardar o aspensor no encaixe da prateleira.

6.2.1.11. Registrar no formulário de controle de reposição de nitrogênio líquido [FVIG 069] a data e os *containers* que foram completados.

6.2.1.12. Desligar o oxímetro e o interruptor de luz (e do exaustor).

6.2.1.13. Guardar os EPIs.

6.2.1.14. Trancar a porta da Sala de Criogenia após colocar o *container* de transporte para fora da sala.

6.2.2. **Reposição de N2L por envase manual (Obs.: Este procedimento deverá ser executado por no mínimo duas pessoas e só deverá ser utilizado como último recurso e se o procedimento anterior não puder ser realizado).**

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Envase ou Reposição de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 022</p>

6.2.2.1. Abrir a porta da Sala de Criogenia onde estão os *containers* do LaPClinVigiLeish e ligar o interruptor de luz (o do exaustor já está ligado direto com o interruptor da luz para evitar que seja esquecido). **Obs.: Manter a porta aberta durante o procedimento para evitar o risco de asfixia.**

6.2.2.2. Colocar os EPIs adequados e obrigatórios (jaleco, protetor facial e luvas de criogenia) a fim de se evitar os riscos de queimadura de frio.

6.2.2.3. Ligar o oxímetro. **Obs.: O oxímetro trabalha com uma faixa de aceitação de concentração de oxigênio entre 19,5 e 23,5%. Se a concentração de O₂ for inferior ou superior a faixa de aceitação, um alarme visual e sonoro será acionado, indicando que a pessoa deverá se evadir do local.**

6.2.2.5. Duas pessoas deverão levantar o *container* de transporte e verter o N₂L deste *container* para o interior do *container* que deverá ser completado até cobrir a última gaveta ou *cryoclip* dos *canisters*. No caso do *container* “D” próximo a 19 polegadas (pol) ou 48 centímetros (cm), do *container* “E” 22 pol ou 56 cm e dos *containers* “A”, “B”, “C” e “F” de 13 pol ou 33 cm.

6.2.2.6. Utilizar a régua de medição apropriada, caso seja necessário confirmar o nível de N₂L.

6.2.6.7. Após o N₂L atingir a marca desejada, parar de verter o N₂L, colocar o *container* de transporte no chão, recolocar a tampa do *container*, fechar o cadeado e repetir o processo para o próximo *container* que deverá ser completado.

6.2.2.8. Registrar no formulário de controle de reposição de nitrogênio líquido [FVIG 069] a data e os *containers* que foram completados.

6.2.2.9. Desligar o oxímetro e o interruptor de luz (e do exaustor).

6.2.2.10. Guardar os EPIs.

6.2.2.11. Trancar a porta da Sala de Criogenia após colocar o *container* de transporte para fora da sala.

7. ANEXOS

Anexo 1 – Formulário FVIG 069 referente ao POP-VL 022.

8. FORMULÁRIOS UTILIZADOS

FVIG 069.

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Envase ou Reposição de Nitrogênio Líquido</p>		<p>POP VL 022</p>

9. REFERÊNCIAS

- ABNT NBR ISO 15189: 2015 – Laboratórios clínicos – Requisitos de qualidade e competência.
- FISPQ (Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico) – Nitrogênio. 1ª Rev. Janeiro de 2004. [acesso em 20 de junho de 2015] Disponível em: <http://www.higieneocupacional.com.br/download/nitrogenio-aga.pdf>
- LIQUID NITROGEN - Code of practice for handling. Birkbeck University of London – Health and Safety Services. United Kingdom: Birkbeck, 2007. Retrieved 2012-02-08.
- MSDS – P-4630-J – Nitrogen, Refrigerated Liquid – Praxair Inc. 2
- NR-15 [acesso em 15 de maio de 2015] Disponível em <http://www.guiatrabalhista.com.br/legislacao/nr/nr15.htm>
- NR-33 [acesso em 15 de maio de 2015] Disponível em <http://www.guiatrabalhista.com.br/legislacao/nr/nr33.htm>

10. DISTRIBUIÇÃO

Sala de Criogenia do Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses do INI.

11. HISTÓRICO DE REVISÕES

No. DA REVISÃO	DATA	ITEM ALTERADO	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO	RESP. PELA ALTERAÇÃO	JUSTIFICATIVA
00	---	N.A.	N.A., pois é a 1ª versão do documento	N.A.	Emissão inicial



Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmaniose



Controle de Reposição Mensal de Nitrogênio Líquido

Mês: _____ Ano: _____

CONTAINER							Responsável
DATA	A	B	C	D	E	F	Nome/Rubrica
	() Sim () Não						
	() Sim () Não						
	() Sim () Não						
	() Sim () Não						
	() Sim () Não						
	() Sim () Não						
	() Sim () Não						
	() Sim () Não						

Observações:

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Orientação para gerenciamento do Banco de Dados informatizado com a localização dos criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas em <i>containers</i> de nitrogênio líquido</p>		<p>POP VL 024</p>
<p>Emissão: 08/06/2017</p>	<p>Revisão: ---</p>	<p>Nº 00</p>

1. OBJETIVO

Estabelecer um padrão para o correto gerenciamento do Banco de Dados Informatizado com a localização dos criotubos contendo cepas de *Leishmania* criopreservadas em *containers* de nitrogênio líquido elaborado em uma planilha do *software Microsoft Office Excel 2016* para gerenciar os dados referentes a localização dos criotubos (contendo amostras biológicas [cepas de *Leishmania*]) que estão ou serão criopreservados em nitrogênio líquido (N2L) nos *containers* do Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses do INI.

3. DEFINIÇÃO/SIGLAS

INI: Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

N.A.: não se aplica.

POP: Procedimento Operacional Padronizado ou Procedimento Operacional Padrão

LaPClinVigiLeish Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses

N2L: Nitrogênio Líquido

4. RESPONSABILIDADES

4.1. Profissionais do setor:

Somente as pessoas designadas e/ou autorizadas pela chefia poderão gerenciar o Banco de Dados realizando as alterações necessárias a fim de mantê-lo atualizado. Ter ciência dos procedimentos adequados ao uso deste POP e manter o ambiente de trabalho dentro dos padrões de segurança.

<p>ELABORAÇÃO Laboratório VigiLeish</p>	<p>ANÁLISE CRÍTICA Laboratório VigiLeish</p>	<p>APROVAÇÃO Laboratório VigiLeish</p>
<p>Luiz Eduardo de Carvalho Paes</p>	<p>Luciana de Freitas Campos Miranda</p>	<p>Aline Fagundes da Silva</p>

Cópia Não Controlada – Reprodução Proibida

Página 1 de 5

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Orientação para gerenciamento do Banco de Dados informatizado com a localização dos criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas em <i>containers</i> de nitrogênio líquido</p>		<p>POP VL 024</p>

4.2. Chefia do setor:

Garantir as condições de realização do que está apregoado no POP e garantir o cumprimento determinado no POP.

NOTA: Estas atribuições, a critério da Chefia do Laboratório, podem ser realizadas por um profissional do Laboratório por ela designado.

5. FLUXOGRAMAS

N.A.

6. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES

6.1. Identificação do equipamento:

O Software Microsoft Office Excel 2016 ou similar (planilha de cálculo da *Microsoft*) deverá estar previamente instalado em algum PC (*Personal Computer*) ou *Notebook* do laboratório onde somente as pessoas autorizadas poderão acessá-lo.

6.2. Instruções de uso:

6.2.1. – Gerais

A planilha contém 9 (nove) colunas ou campos, denominados de: **REGISTRO, DESCRIÇÃO DA AMOSTRA, CONTAINER, CANISTER, BOX/CRIOCLIP, POSIÇÃO, RESPONSÁVEL, DATA DE CRIO e LOTE**. Somente os campos denominados REGISTRO, DESCRIÇÃO DA AMOSTRA, RESPONSÁVEL, DATA DE CRIO e LOTE poderão ser editados. Os demais campos, previamente marcados nas colunas coloridas, tais como: CONTAINER, CANISTER, BOX/CRIOCLIP e POSIÇÃO não deverão ser editados, pois corre-se o risco de danificar a estrutura do referido Banco de Dados.

6.2.2. Para inserir uma nova amostra biológica

6.2.2.1. – Inserir o “Login” e “Senha” para abrir o Banco de Dados.

6.2.2.2. - Preencher correta e atenciosamente os campos necessários para a inclusão de uma nova amostra biológica conforme discriminado a seguir:

a) REGISTRO = Número de ordem de entrada da amostra biológica registrada no LaPClinVigiLeish.

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Orientação para gerenciamento do Banco de Dados informatizado com a localização dos criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas em <i>containers</i> de nitrogênio líquido</p>		<p>POP VL 024</p>

- b) **DESCRIÇÃO DA AMOSTRA** = Informações relativas a amostra biológica, tais como: espécie, nome do paciente ou do cão, tipo de isolado e etc.
- c) **RESPONSÁVEL** = Pessoa responsável pela criopreservação.
- d) **DATA DE CRIO** = Data em que foi realizada a criopreservação.
- e) **LOTE** = Corresponde ao número de vezes em que a amostra foi inserida no criobanco. Ex.: A 1ª vez que a amostra for criopreservada recebe o número de LOTE 01. Se a amostra de LOTE 01 for descongelada e uma alíquota desta amostra for criopreservada novamente, esta nova alíquota receberá o número de LOTE 02 e assim sucessivamente.
- f) Os campos em que não constarem todas as informações deverão ser preenchidos com os dizeres “**sem inform.**” em letras minúsculas, exceto quando for preenchida a palavra VAZIO no campo REGISTRO, já que esta é a única informação relevante para se encontrar um espaço vazio.

6.2.2.3.– Após a inserção dos novos dados, salvar e encerrar o Banco de Dados.

6.2.3. Para apagar uma amostra biológica existente

6.2.3.1. – Inserir o “Login” e “Senha” para abrir o Banco de Dados.

6.2.3.2. – Localizar os campos necessários para a exclusão da amostra conforme discriminado a seguir:

- a) **REGISTRO** = Apagar o número de ordem de entrada da amostra biológica e digitar no local a palavra VAZIO.
- b) **DESCRIÇÃO DA AMOSTRA** = Apagar todas as informações relativas a amostra e deixar o campo em branco.
- c) **RESPONSÁVEL** = Apagar o nome da pessoa responsável pela criopreservação e deixar o campo em branco.
- c) **DATA DE CRIO** = Apagar a data em que foi realizada a criopreservação e deixar o campo em branco.
- d) **LOTE** = Apagar o número do lote e deixar o campo em branco.

6.2.3.3. – Após a exclusão dos dados, salvar e encerrar o Banco de Dados.

6.2.4. Para filtrar uma informação

Obs.: Para utilizar a opção de filtro, deve-se levar o cursor para o 1º registro da planilha onde se encontram os nomes dos campos/colunas.

6.2.4.1. – Inserir o “Login” e “Senha” para abrir o Banco de Dados.

- a) Escolha o campo/coluna em que você deseja realizar o filtro. Definido o campo/coluna, siga as instruções abaixo:
- b) Por exemplo, se você deseja filtrar uma amostra biológica pelo campo/coluna REGISTRO, clicar com o botão esquerdo do mouse na seta ao lado direito do campo/coluna REGISTRO para visualizar as opções de busca.
- c) Desmarcar a opção (Selecionar tudo).
- d) Procurar o registro desejado e marcar esta opção.

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Orientação para gerenciamento do Banco de Dados informatizado com a localização dos criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas em <i>containers</i> de nitrogênio líquido</p>		<p>POP VL 024</p>

e) Clicar em OK.

6.2.4.2. – Após a realização do filtro, a localização da amostra com as informações referentes ao CONTAINER, CANISTER, BOX/CRIOCLIP e POSIÇÃO, aparecerão de acordo com a quantidade de amostras inseridas no Banco de Dados.

6.2.4.3. – Este procedimento poderá ser utilizado da mesma forma para filtrar outras informações, bastando seguir o exemplo acima e escolher um dos campos desejados (DESCRIÇÃO DA AMOSTRA, RESPONSÁVEL, DATA DA CRIO ou LOTE).

6.2.4.4. – Após a localização das informações, se for necessário, realizar as alterações, salvar e encerrar o Banco de Dados.

6.2.5. Para localizar um espaço vazio a fim de inserir uma amostra biológica

6.2.5.1. – Inserir o “Login” e “Senha” para abrir o programa.

6.2.5.2. – As informações sobre os espaços vazios estão inseridas no campo REGISTRO.

a) Posicione o cursor do mouse na seta do lado direito da aba REGISTRO e clicar com o botão esquerdo do mouse para visualizar as opções de busca.

b) Desmarcar a opção (Selecionar tudo).

c) Procurar a opção VAZIO e marcar esta opção.

d) Clicar em OK.

6.2.5.3. – Feito isso, a localização de todos os espaços vazios informados no Banco de Dados, aparecerão com as informações referentes ao CONTAINER, CANISTER, BOX/CRIOCLIP e POSIÇÃO.

6.2.5.4. – Após a localização das informações, se for necessário, realizar as alterações, salvar e encerrar o Banco de Dados.

7. ANEXOS

N.A.

8. FORMULÁRIOS UTILIZADOS

N.A.

9. REFERÊNCIAS

ABNT NBR ISO 15189: 2015 – Laboratórios clínicos – Requisitos de qualidade e competência.

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: Orientação para gerenciamento do Banco de Dados informatizado com a localização dos criotubos contendo amostras biológicas criopreservadas em <i>containers</i> de nitrogênio líquido</p>		<p>POP VL 024</p>

10. DISTRIBUIÇÃO

Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses do INI.

11. HISTÓRICO DE REVISÕES

No. DA REVISÃO	DATA	ITEM ALTERADO	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO	RESP. PELA ALTERAÇÃO	JUSTIFICATIVA
00	---	N.A.	N.A., pois é a 1ª versão do documento		Emissão inicial

12. ANEXOS

ANEXO A - Documento de dispensa do Comitê de  tica em Pesquisa (CEP) com o título original do projeto

ANEXO B - Documento de dispensa do Comitê de  tica em Pesquisa (CEP) com o título modificado após sugestão da banca examinadora



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas



Rio de Janeiro, 13 de janeiro de 2016.

Do: Comitê de Ética em Pesquisa do INI

Para: Dr. Armando de Oliveira Schubach

Prezado Dr. Armando,

Em relação ao projeto **“Novos Procedimentos Operacionais Padrão para manutenção e recuperação de amostras de *Leishmania* criopreservadas em Nitrogênio Líquido”**, dissertação de mestrado do aluno Luiz Eduardo de Carvalho Paes, encaminhado a este Comitê em 02/12/2015, informamos que, pela natureza do estudo e após análise desta Coordenação, evidenciou-se que não há necessidade de sua apreciação por um Comitê de Ética em Pesquisa; poderá ser submetido à publicação e divulgação dos resultados, com esta comunicação do CEP.

Atenciosamente,

Dr^a Léa Ferreira Camillo-Coura
Coordenadora do Comitê
de Ética em Pesquisa
Mat. SIAPE 003709620
IPEC / FIOCRUZ

V.L.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas



Instituto Nacional de Infectologia

Evandro Chagas

Rio de Janeiro, 26 de julho de 2017.

Do: Comitê de Ética em Pesquisa do INI

Para: Dr. Armando de Oliveira Schubach

Prezado Dr. Armando,

O projeto **“Novos Procedimentos Operacionais Padrão para manutenção e recuperação de amostras de *Leishmania* criopreservadas em Nitrogênio líquido”**, dissertação de mestrado profissional do aluno Luiz Eduardo de Carvalho Paes, encaminhado a este Comitê em 02/12/2015, teve seu título substituído por **“Novos procedimentos operacionais padrão para gerenciamento e manipulação de amostras biológicas criopreservadas em nitrogênio líquido: Estudo de caso no Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmaniose”**; não houve alterações em objetivos, conteúdos e metodologia.

Neste caso informamos que, pela natureza do estudo e após análise desta Coordenação, evidenciou-se que não há necessidade de sua apreciação por um Comitê de Ética em Pesquisa; poderá ser submetido à publicação e divulgação dos resultados, com esta comunicação do CEP.

Atenciosamente,

Dra. Léa Ferreira Camillo-Coura
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa
Mat. SIAPE 003709820
INI/FIOCRUZ

A.R.