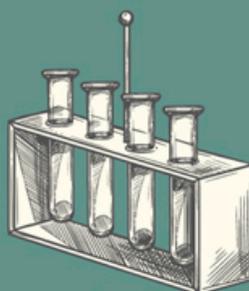
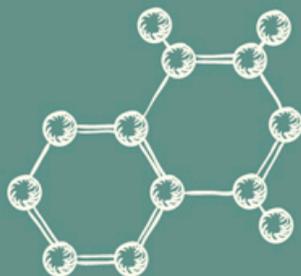
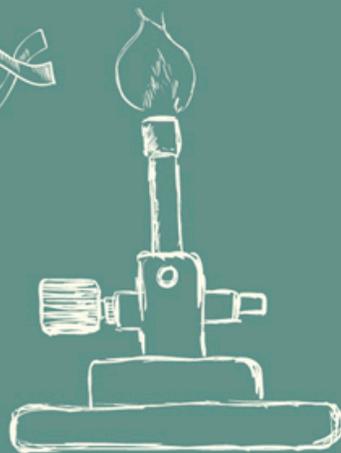


Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022

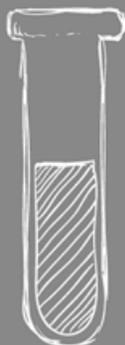
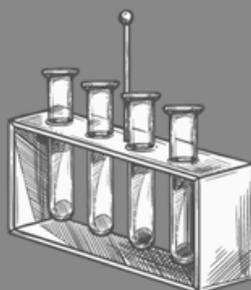
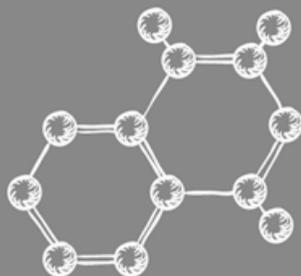
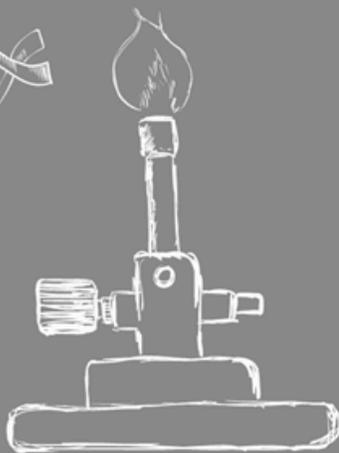


Paulo Afonso Granjeiro
Adriano Guimarães Parreira
Daniel Bonoto Gonçalves
José Antônio da Silva

- organizadores -

Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022



Paulo Afonso Granjeiro
Adriano Guimarães Parreira
Daniel Bonoto Gonçalves
José Antônio da Silva

- organizadores -

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

Edição de arte da capa

Vinícius Souza Tarabal

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras

Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Universidade do Estado de Mato Grosso

Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados

Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. Edevaldo de Castro Monteiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Prof^ª Dr^ª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^ª Dr^ª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^ª Dr^ª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^ª Dr^ª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Práticas em bioquímica analítica

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Flávia Roberta Barão
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadores: Paulo Afonso Granjeiro
 Adriano Guimarães Parreira
 Daniel Bonoto Gonçalves
 José Antônio da Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
P912	<p>Práticas em bioquímica analítica / Organizadores Paulo Afonso Granjeiro, Adriano Guimarães Parreira, Daniel Bonoto Gonçalves, et al. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.</p> <p>Outro organizador José Antônio da Silva</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-258-0709-6 DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.096221411</p> <p>1. Bioquímica. I. Granjeiro, Paulo Afonso (Organizador). II. Parreira, Adriano Guimarães (Organizador). III. Gonçalves, Daniel Bonoto (Organizador). IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 572</p>
Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166	

Atena Editora
 Ponta Grossa – Paraná – Brasil
 Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

PREFÁCIO

Medida pelos mais variados parâmetros, é incontestável a expansão das informações científicas produzidas nas últimas décadas. Em particular, a Bioquímica atravessa um período de aumento exponencial de conhecimentos.

Muitos desses conhecimentos têm sido aplicados, com uma velocidade e uma eficiência sem precedentes, na melhoria das condições de vida e bem-estar dos seres humanos. A saúde pública, a produção de alimentos, as matrizes energéticas, o cuidado com o meio ambiente e inúmeros outros setores da vida social têm sido beneficiados pelo contínuo fluxo das informações originadas nos laboratórios de pesquisa.

Para os profissionais envolvidos no ensino de Bioquímica, o crescimento vertiginoso dessa área agravou um crônico paradoxo curricular: o aumento do volume de informações e a manutenção do tempo destinado ao seu ensino.

Uma consequência perceptível desse conflito é a redução das atividades práticas de muitas disciplinas, em franca contradição com o fato de ser a Bioquímica uma ciência experimental. As atividades práticas de laboratório precisam, por isso, ser criteriosamente escolhidas para cumprir seu papel educativo.

A seleção dos experimentos de Bioquímica passa agora a ter um suporte valioso: três docentes da Universidade Federal de São João del Rei e um docente da Universidade Estadual de Minas Gerais, auxiliados por seus estudantes, reuniram, em um *e-book*, **Práticas em Bioquímica Analítica**, um conjunto de experimentos testados, aplicados rotineiramente e minuciosamente descritos.

Cada experimento ou módulo é iniciado com uma introdução teórica, seguida dos objetivos que devem ser alcançados pelos alunos e, naturalmente, pelos materiais e métodos a serem utilizados e o protocolo detalhado da atividade a ser realizada. Quando pertinente, é introduzida uma seção intitulada *Curiosidades*, com informações contextualizadas sobre o assunto em estudo. Para um aprofundamento no assunto, cada experimento é seguido de uma lista de referências bibliográficas. Estão contempladas as unidades programáticas principais do estudo de Bioquímica, precedidas por um excelente capítulo versando sobre segurança e boas práticas de laboratório.

Naturalmente, a totalidade de experimentos apresentados não poderia ser aplicada nas disciplinas comuns de diferentes habilitações – eles foram padronizados para o curso de Bacharelado em Bioquímica. Entretanto, trata-se de um rico repertório de atividades que poderão ser usadas de forma independente ou servir como modelo para adaptações e ajustes às condições de cada instituição e aos objetivos de cada docente.

Os docentes e alunos de Bioquímica ficam agradecidos à equipe autora das **Práticas em Bioquímica Analítica!**

Bayardo Baptista Torres

Professor Sênior - Departamento de Bioquímica. Laboratório de Ensino de Bioquímica. Universidade de São Paulo - USP

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

BIOSSEGURANÇA

Daniel Bonoto Gonçalves
Adriano Guimarães Parreira
Anderson Fernandes de Melo
Wanderson Duarte Penido
Anna Kelly Moura Silva
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Raquel Valinhas e Valinhas
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214111>

CAPÍTULO 2..... 13

PREPARO DE SOLUÇÕES

Daniel Bonoto Gonçalves
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Adriano Guimarães Parreira
Vinícius Souza Tarabal
Wanderson Duarte Penido
Júlia Antunes Tavares Ribeiro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214112>

CAPÍTULO 3..... 18

EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE SEMENTES

Jose Antonio da Silva
Maria Auxiliadora de Oliveira
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Klédna Constância Portes Reis
Anna Kelly Moura Silva
Júlia Antunes Tavares Ribeiro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214113>

CAPÍTULO 4..... 25

PRECIPITAÇÃO DE PROTEÍNAS DE SEMENTES

José Antonio da Silva
Maria Auxiliadora de Oliveira
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Diego Fernandes Livio
Raquel Valinhas e Valinhas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214114>

CAPÍTULO 5..... 32

DOSAGEM DE PROTEÍNAS – MÉTODO BRADFORD

José Antonio da Silva
Maria Auxiliadora de Oliveira
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Diego Fernandes Livio
Raquel Valinhas e Valinhas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214115>

CAPÍTULO 6..... 37

MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

José Antonio da Silva
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves
Priscila Amaral Diniz
Anderson Fernandes de Melo
Diego Fernandes Livio
Anna Kelly Moura Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214116>

CAPÍTULO 7..... 45

DOSAGEM DE INIBIDORES DE PROTEASES

José Antonio da Silva
Luísa Ferreira da Cruz
Júlia Antunes Tavares Ribeiro
Diego Fernandes Livio
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214117>

CAPÍTULO 8..... 55

ENSAIO DE HEMAGLUTINAÇÃO

José Antonio da Silva
Júlia Antunes Tavares Ribeiro
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves
Vinícius Souza Tarabal
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves Gonçalves
Anderson Fernandes de Melo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214118>

CAPÍTULO 9..... 63

ELETROFORESE DE PROTEÍNAS EM GEL

José Antonio da Silva
Luísa Ferreira da Cruz
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves

Priscila Amaral Diniz
Anna Kelly Moura Silva
Klédna Constância Portes Reis

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214119>

CAPÍTULO 10..... 73

GRAU DE PURIFICAÇÃO E RENDIMENTO DE PROTEÍNAS

José Antonio da Silva
Paulo Afonso Granjeiro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141110>

CAPÍTULO 11..... 79

PRODUÇÃO E EXTRAÇÃO DE LIPÍDIOS

Paulo Afonso Granjeiro
Diego Fernandes Livio
Maria Auxiliadora de Oliveira
Adriano Guimarães Parreira
Vinícius Souza Tarabal
Tuânia Natacha Lopes Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141111>

CAPÍTULO 12..... 91

CARACTERIZAÇÃO DE LIPÍDIOS

Paulo Afonso Granjeiro
Diego Fernandes Livio
Maria Auxiliadora de Oliveira
Adriano Guimarães Parreira
Vinícius Souza Tarabal
Tuânia Natacha Lopes Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141112>

CAPÍTULO 13..... 103

PRODUÇÃO DE CARBOIDRATOS

Paulo Afonso Granjeiro
Raquel Valinhas
Heloísa Carneiro Colares
Tuânia Natacha Lopes Silva
Luísa Ferreira da Cruz
Felipe Ferreira Silva
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141113>

CAPÍTULO 14.....	112
CARACTERIZAÇÃO DE CARBOIDRATOS	
Paulo Afonso Granjeiro	
Heloísa Carneiro Colares	
Raquel Valinhas	
Luísa Ferreira da Cruz	
Felipe Ferreira Silva	
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141114	
CAPÍTULO 15.....	121
EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS	
Daniel Bonoto Gonçalves	
Felipe Ferreira Silva	
Priscila Amaral Diniz	
Heloísa Carneiro Colares	
Klédna Constância Portes Reis	
Wanderson Duarte Penido	
Anderson Fernandes de Melo	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141115	
CAPÍTULO 16.....	129
CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS	
Daniel Bonoto Gonçalves	
Felipe Ferreira Silva	
Priscila Amaral Diniz	
Heloísa Carneiro Colares	
Klédna Constância Portes Reis	
Wanderson Duarte Penido	
Anderson Fernandes de Melo	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141116	
RESPOSTAS DAS QUESTÕES.....	137
SOBRE OS ORGANIZADORES	147
SOBRE OS AUTORES	149

CAPÍTULO 1

BIOSSEGURANÇA

Daniel Bonoto Gonçalves

Adriano Guimarães Parreira

Anderson Fernandes de Melo

Wanderson Duarte Penido

Anna Kelly Moura Silva

Nayara Lizandra Leal Cardoso

Raquel Valinhas e Valinhas

Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

1. INTRODUÇÃO

O termo Biossegurança é complexo, interdisciplinar e pode variar de acordo com o contexto no qual está inserido. De maneira geral, a Biossegurança, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é o conjunto de medidas destinadas a prevenir, minimizar ou eliminar riscos inerentes às atividades de laboratórios, seja ele de pesquisa, ensino, desenvolvimento tecnológico ou prestação de serviços, que possam comprometer a saúde dos profissionais e meio ambiente (ANVISA, 2013). Isso significa dizer que a biossegurança está intimamente ligada às ações tomadas no ambiente laboratorial, que irão garantir a

segurança e integridade física tanto pessoal, quanto ambiental, e a qualidade dos resultados.

O Brasil possui duas vertentes de biossegurança. A biossegurança legal trata de assuntos ligados a Organismos Geneticamente Modificados e células tronco, e a Biossegurança praticada, que será abordada aqui, abrange os riscos químicos, físicos, biológicos, radioativos, ergonômicos e de acidentes que podem ocorrer em ambientes laboratoriais (SANGIONI *et al.*, 2013).

Ambientes laboratoriais universitários que são utilizados para aulas práticas e também para pesquisa, apresentam agentes de risco, sendo dessa forma necessário aos usuários agirem baseados nos princípios da biossegurança. Estes riscos são avaliados em função dos tipos de agentes e atividades a serem realizadas, e, mediante essa avaliação pode ser classificado em 4 níveis: NB-1; NB-2; NB-3 e NB-4. Os níveis de biossegurança são utilizados para definir, de forma crescente, os graus de contenção e complexidade de proteção que o ambiente deve ter. É utilizado a combinação das práticas e técnicas laboratoriais com os elementos de contenção, que são as barreiras primárias, também conhecidas como EPIs e EPCs, e barreiras secundárias que estão relacionadas à estrutura física em si (ANVISA, 2013).

As atividades realizadas em laboratório

requerem do usuário uma série de cuidados, justificada pelo risco à saúde, em função do possível manuseio de material biológico contaminado, bem como a utilização de vidrarias, equipamentos e produtos químicos (KUMAR, 2015). Na prática, as normas e procedimentos visam facilitar a compreensão e aplicação de metodologias mais seguras, baseadas no trabalho rotineiro do laboratório, que pode ser considerada sinônimo de uma boa técnica. Vale ressaltar que não há cabine de segurança biológica, nem qualquer outro equipamento e procedimento que por si só seja capaz de garantir a segurança, a não ser que seus usuários apliquem técnicas seguras baseadas na informação e compreensão da biossegurança (ANVISA, 2005).

Equipamentos de Proteção Individual e Coletivo

Com o início da Revolução Industrial, a saúde e a segurança do trabalhador tinham pouca relevância. Com o aumento da produção, houve um aumento de lesões e mortes dos trabalhadores, surgindo a necessidade do desenvolvimento de soluções de proteção ao trabalhador (SEIDEL, 2012).

Os acidentes são evitados com a aplicação de medidas específicas de segurança, selecionadas de forma a estabelecer maior eficácia na prática. As prioridades são: eliminação do risco; neutralização do risco e sinalização do risco (SANTOS, 2017). As medidas de proteção existentes em um laboratório são classificadas como barreiras primárias e secundárias. Dentre as barreiras primárias estão os equipamentos de proteção individual (EPIs) e os equipamentos de proteção coletiva (EPCs), que podem reduzir ou eliminar a exposição individual a agentes potencialmente perigosos (REIS; GALINDO, 2020). As barreiras secundárias constituem-se de medidas específicas para infraestrutura predial e instalações do laboratório (MIGUEL *et al.*, 2017).

A fim de proteger a integridade física do trabalhador é necessário a utilização dos EPIs que podem ser dispositivos ou produtos, de uso individual, a serem utilizados pelo empregado, sendo destinados à proteção de riscos suscetíveis de ameaçar a segurança e a saúde no trabalho. O seu fornecimento ao trabalhador é uma obrigação da empresa, deve ser fornecido gratuitamente e estar à disposição em número suficiente nos postos de trabalho, devendo ainda apresentar o Certificado de Aprovação (C.A.), fornecido pelo fabricante ou importador (DE CASTRO; ANDRADE, 2012; SEIDEL, 2012; BRASIL, 2021). Exemplos de EPIs estão demonstrados na figura 1.

Os EPIs somente devem ser providenciados quando as medidas de ordem coletiva e/ou administrativas não forem suficientes para eliminar ou minimizar os riscos aos quais os trabalhadores estão expostos. Quando definido por seu uso, devem ser atendidas todas as exigências estabelecidas na Norma Regulamentadora NR-06, onde é determinada a natureza da proteção a ser adotada conforme as seguintes necessidades: proteção da cabeça; proteção dos olhos e face; proteção auditiva; proteção respiratória; proteção do

tronco; proteção dos membros superiores; proteção dos membros inferiores; proteção do corpo inteiro; proteção contra quedas com diferença de nível (FILHO; GREGÓRIO; PORCIUNCULA, 2017).

As medidas de proteção coletiva devem ser priorizadas conforme determina a legislação de Segurança e Medicina do Trabalho. Os EPCs são aqueles que possibilitam a proteção do trabalhador e do meio ambiente em uma determinada área, como por exemplo: sistema de exaustão (elimina gases, vapores ou poeiras contaminantes); autoclaves (equipamento responsável por fazer esterilização de objetos resistentes a altas temperaturas e vapor intenso); cabines de segurança biológica (equipamentos com sistema de filtração de ar que protegem o trabalhador durante a manipulação de materiais biológicos); chuveiro de emergência e lava-olhos (para acidentes com produtos químicos ou com material biológico que pode ser acionado para minimização de danos no corpo ou olhos); extintores de incêndio (em caso de incêndios), entre outros (SANTOS, 2017; MIGUEL *et al.*, 2017; REIS; GALINDO, 2020). Exemplos de EPCs estão demonstrados na figura 2.

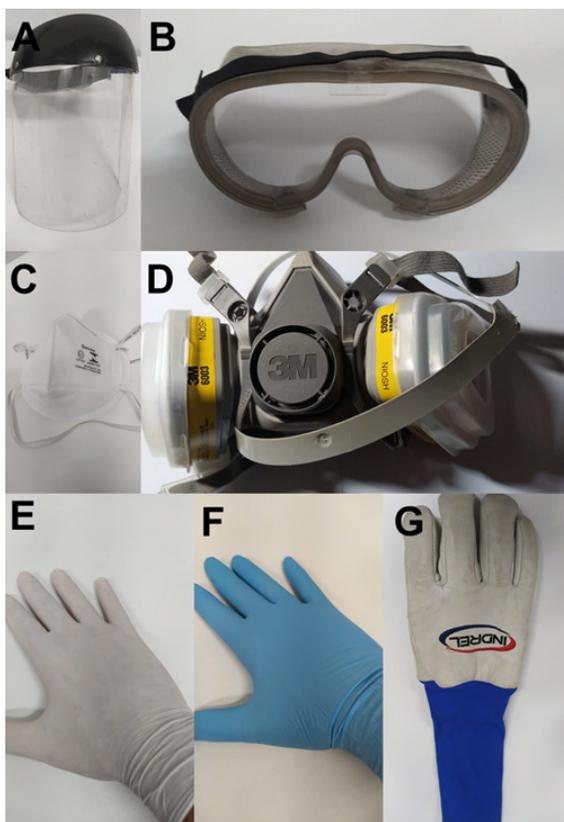


Figura 1 - Equipamentos de Proteção Individual. A: Protetor facial; B: Óculos de proteção; C:

Máscara Pff2; D: Respirador semifacial; E: Luva de procedimento; F: Luva nitrílica e G: Luva criogênica.

Fonte: do próprio autor (2022).



Figura 2 – Equipamentos de Proteção Coletiva. A: Chuveiro Lava olhos, B: Extintor de incêndio. C: Cabine de segurança biológica.

Fonte: do próprio autor (2022).

Boas Práticas e Segurança em Laboratório

Conforme definido pelo Inmetro Norma nº NIT-DICLA-035-10/2019, o termo *boas práticas em laboratório* é um conjunto de pequenas normas (regras) e orientações relacionadas à conduta de trabalho no ambiente laboratorial. As orientações para a atividade de reconhecimento de conformidade das Boas Práticas de Laboratório (BPL) são um sistema de qualidade que abrange o processo organizacional e as condições de estudos relacionados à saúde, segurança e ao meio ambiente, que são planejados, desenvolvidos, monitorados, registrados, arquivados e relatados. Com base no exposto, pode-se perceber que os princípios básicos de BPL são destinados a orientar e garantir segurança às pessoas que os executam e ao ambiente em que são realizados, de maneira a garantir a qualidade,

reprodutividade e integridade dos dados gerados. O Quadro 1 apresenta os princípios da BPL para laboratórios de pesquisa e de aulas práticas.

- Conhecer e aplicar os princípios de BPL;
- O manipulador deverá seguir as normas e regras estabelecidas pelo laboratório;
- A unidade operacional deve ter dimensão adequada aos trabalhos que nela se pretende realizar e ter temperatura ambiente controlada, tendo em vista as características dos ensaios realizados e equipamentos nela existentes.
- A circulação de pessoas deve ser controlada, reduzida ao menor fluxo possível a fim de evitar contaminação e acidentes.
- Verificação das instalações elétricas antes da sua utilização, para que estas sejam mantidas em perfeitas condições e não prejudique a saúde do analista;
- Consultar sempre os POP's evitando assim, cometer erros em procedimentos analíticos, comprometendo a confiabilidade dos resultados;
- Assinar e datar todos os registros e relatórios para indicar sua responsabilidade pelos dados e uso de equipamentos;
- Comunicar prontamente ao técnico/professor da unidade operacional quaisquer desvios verificados através das análises;
- Comunicar ao técnico/professor da unidade operacional quaisquer alterações relevantes do estado de saúde que eventualmente possam ocorrer;
- Usar roupas que não sejam de tecido sintético, jalecos devem ser de mangas compridas, longos (até o joelho), com punhos justos, com abertura frontal, providos de botões de pressão ou velcro e sem bolsos na parte superior;
- Retirar qualquer adorno/adereço, tais como relógios, alianças e brincos, antes de iniciar os trabalhos;
- Usar EPI's apropriados às operações que apresentam riscos potenciais;
- Evitar uso de lentes de contato, quando estiver trabalhando em laboratórios, pois essas podem provocar irritação nos olhos quando em contato com vapores corrosivos;
- Higienizar e esterilizar as mãos antes de iniciar os trabalhos em laboratórios e após deixar a unidade operacional;
- Manter o laboratório sempre limpo e organizado. Gavetas e portas de armários abertas, além de serem risco potencial de acidentes, permitem que poeira e outras sujidades entrem em contato com vidrarias, utensílios e reagentes, podendo contaminá-los.
- Todo usuário deve conhecer a exata localização da caixa de primeiros socorros e do extintor de incêndios e bem como a maneira correta de utilizá-los;
- Em caso de contato de produto químico com os olhos, boca ou pele deve-se lavar a área afetada imediatamente com água e em seguida o indivíduo deve comunicar imediatamente ao técnico/professor da unidade operacional, mesmo que não haja danos pessoais ou materiais;
- Jamais pipetar qualquer substância, nem mesmo amostra com a boca. O uso de pipetadores é indispensável;
- Os equipamentos em funcionamento devem ficar sob vigilância constante. Nunca deixar o laboratório se algum equipamento estiver em operação;
- Seguir todas as normas de segurança estabelecidas para a unidade operacional, reduzindo assim o risco de acidentes que poderiam causar danos às pessoas e ao meio ambiente.

Quadro 1 - Princípios das Boas Práticas de Laboratório para laboratórios de pesquisa e de aulas práticas.

Fonte: Fiocruz (2013); Inmetro (2019).

O usuário deve entrar no laboratório sempre ciente dos procedimentos que realizará (estudar os procedimentos das aulas com antecedência seguindo o que lhe foi orientado), tomando muito cuidado ao manusear os equipamentos e materiais do laboratório. Existindo qualquer dúvida, não se deve prosseguir. Deve-se pedir ajuda, recorrer aos técnicos e profissionais mais experientes e ao supervisor imediato. É dever de todos prezar pelo uso adequado e correta conservação dos equipamentos e instalações.

Nenhum trabalho é tão importante e urgente que não possa ser planejado e executado com segurança. O risco de acidente é maior quando nos acostumamos a conviver com o perigo e achamos que ele faz parte da nossa atividade. Planejar bem o seu experimento, o seu dia de trabalho e a sua técnica a ser executada minimiza os erros, evita o retrabalho, implementa qualidade e promove assertividade nas suas técnicas. A prática em laboratório, seja em nível profissional, seja em nível de aprendizado, exige que regras de segurança e boas práticas sejam rigorosamente seguidas. Os acidentes, tomando as devidas precauções, podem ser evitados, ou ter suas consequências minimizadas.

Gerenciamento de resíduos

As práticas executadas nos laboratórios de pesquisa e ensino geram constantemente diferentes resíduos, sendo que esses apresentam muitas vezes caráter de alta toxicidade e patogenicidade, devendo ser ao final das atividades segregados adequadamente. Esses resíduos, quando manejados de forma inadequada, podem resultar em acidentes com riscos à saúde e ao meio ambiente.

O gerenciamento de resíduos é regulamentado pela resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA e pela ANVISA, a qual assumiu a competência legal de regulamentar os procedimentos internos dos serviços de saúde. De acordo com a Legislação Ambiental os efluentes devem ser descartados conforme parâmetros estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 357/2005 e Resolução CONAMA nº 430/2011, e os resíduos sólidos devem obedecer ao estabelecido na norma ABNT NBR 10.004/2004 (Comissão de ensino Técnico do CRQ-IV, 2012).

A Resolução – RDC nº 222, de 28 de março de 2018 da ANVISA regulamenta as Boas Práticas de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde (GRSS), a qual é constituída de procedimentos de gestão. Estes procedimentos são planejados e implementados a partir de bases científicas, técnicas, normativas e legais, com o objetivo de minimizar a produção de resíduos e proporcionar um encaminhamento seguro, de forma eficiente, visando à proteção dos trabalhadores, e à preservação da saúde, dos recursos naturais e do meio ambiente. A tabela 1 ilustra a classificação de resíduos de acordo com a RDC 222/2018.

Grupo	Característica
A	Resíduos Biológicos
B	Resíduos Químicos
C	Resíduos Radioativos
D	Resíduos Comuns
E	Resíduos perfurantes, cortantes e abrasivos

Tabela 1 - Classificação de resíduos.

Fonte: Adaptado de ANVISA (2005).

A classificação dos resíduos permite conhecer e identificar os resíduos gerados em decorrência das atividades desenvolvidas nos diversos ambientes laboratoriais, e fornecer subsídios para a implementação e elaboração de um gerenciamento correto. Os resíduos laboratoriais devem ser corretamente separados, e posteriormente recolhidos por uma empresa credenciada, para tratamento adequado. Os resíduos devem passar pelas seguintes etapas de acordo com a RDC 222/2018:

I – Segregação - consiste na separação dos resíduos no momento e local de sua geração, de acordo com as características físicas, químicas, biológicas, o seu estado físico e os riscos envolvidos.

II – Acondicionamento - consiste no ato de embalar os resíduos segregados, em sacos ou recipientes que evitem vazamentos e resistam às ações de punctura e ruptura.

III - Identificação e Rotulagem - consiste no conjunto de medidas que permitem o reconhecimento dos resíduos contidos nos sacos e recipientes, fornecendo informações ao correto manejo dos mesmos (Quadro 2).

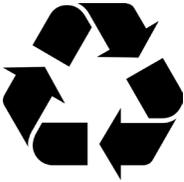
IV – Transporte - consiste no traslado dos resíduos dos pontos de geração até local destinado ao armazenamento temporário ou armazenamento externo com a finalidade de apresentação para a coleta;

V - Armazenamento temporário - consiste na guarda temporária dos recipientes contendo os resíduos já acondicionados, em local próximo aos pontos de geração;

VI – Tratamento - consiste na aplicação de método, técnica ou processo que modifique as características dos riscos inerentes aos resíduos, reduzindo ou eliminando o risco de contaminação, de acidentes ocupacionais ou de danos ao meio ambiente.

Com relação ao acondicionamento e identificação, conforme a Resolução RDC 222/2018 da ANVISA, os resíduos devem ser separados, identificados e quando necessário submetidos a tratamentos requeridos para o posterior descarte. Esses resíduos podem ser

classificados ainda, conforme o Quadro 2.

<p>Resíduos do Grupo A – Biológicos: Todo recipiente para descarte de resíduo biológico deve estar identificado. A substituição do saco de lixo deve ocorrer sempre que o resíduo atingir 2/3 de sua capacidade. Necessidade de tratamento prévio através de esterilização por calor úmido.</p>	<p>Símbolo internacional de risco biológico</p>  <p>Fonte: <i>google</i> imagem</p>
<p>Resíduos do Grupo B – Químicos: Para evitar acidentes, deve ser respeitada a compatibilidade química dos resíduos, os quais devem ser separados por grupos, líquidos inorgânicos, líquidos orgânicos halogenados, líquidos orgânicos não-halogenados, sólidos e metais pesados. Tratamento prévio específicos como neutralização e/ou inativação.</p>	<p>Símbolo de risco de acordo com a NBR 7500 da ABNT</p>  <p>Fonte: <i>google</i> imagem</p>
<p>Resíduos do Grupo C – Resíduos Radioativos: Os resíduos radioativos são quaisquer materiais resultantes de atividades que contenham radionuclídeos. A segregação dos rejeitos radioativos deve ocorrer no momento de sua geração.</p>	<p>Símbolo internacional de radiação ionizante</p>  <p>Fonte: <i>google</i> imagem</p>
<p>Resíduos do Grupo D – Resíduos Comuns: São os resíduos que não apresentam risco biológico, químico ou radiológico à saúde ou ao meio ambiente, podendo ser equiparados aos resíduos domiciliares.</p>	<p>Símbolo de reciclagem</p>  <p>Fonte: <i>google</i> imagem</p>
<p>Resíduos do Grupo E – Resíduos Perfurocortantes: Os resíduos perfurocortantes devem ser descartados separadamente no laboratório, imediatamente após sua geração, em recipientes de paredes rígidas, resistentes à ruptura e vazamento, com tampa, devidamente identificados pela inscrição “PERFUROCORTANTE” e acrescidos dos riscos adicionais químicos e/ou radiológicos.</p>	<p>Símbolo de resíduos perfurocortantes</p>  <p>RESÍDUO PERFUROCORTANTE Fonte: <i>google</i> imagem</p>

Quadro 2 - Classificação dos resíduos e simbologia.

Fonte: Adaptado de ANVISA (2005).

Finalmente, o Programa 5 Rs pode ser utilizado na análise dos resíduos produzidos em laboratórios, como um despertar para a minimização da geração, como mostrado no quadro 3 (UFFC, 2015).

REPENSAR	RECUSAR	REDUZIR	REUTILIZAR	RECICLAR
Refletir sobre a necessidade e os padrões de consumo, bem como a forma de descarte adotado.	Evitar consumo desnecessário e produtos que gerem impactos ambientais significativos.	Evitar desperdícios, consumir menos, preferir produtos com menor potencial de geração de resíduos e maior durabilidade.	Evitar jogar na lixeira o que não é lixo. Reaproveitar tudo o que for possível. Ser criativo na utilização dos produtos	Transformar materiais usados em matérias-primas para outros produtos por meio de processos industriais ou artesanais

Quadro 3 - Descrição dos Princípios dos 5R's.

Fonte: UFFS, 2015.

2. QUESTÕES

1. Descreva os requisitos de segurança e contenção para cada nível de biossegurança (NB-1 ao NB-4).
2. O que são boas práticas de laboratório e qual órgão é responsável pela determinação dessas boas práticas de laboratório?
3. As práticas executadas nos laboratórios de pesquisa e ensino geram constantemente diferentes resíduos, sendo o laboratório responsável pelo correto gerenciamento de todos os resíduos produzidos. Quais são as etapas de manejo de Resíduos de acordo com RDC 222/2018?
4. Quem é responsável pela indicação do equipamento de proteção correto para cada tipo de trabalho?

3. CURIOSIDADES

Recentemente, rumores relacionados à biossegurança estiveram em cena no imaginário popular e em teorias da conspiração, todos eles relacionados a este questionamento: teria o vírus SARS-CoV-2, causador da COVID-19, sido gerado em um laboratório de Wuhan, na China, e dele escapado proposital ou acidentalmente?

As comparações iniciais, buscando elucidar a origem do vírus revelaram que o SARS-CoV-2 é aproximadamente 79% semelhante ao SARS-CoV no nível de nucleotídeos. Claro,

os padrões de similaridade variam muito entre os genes, e o SARS-CoV e o SARS-CoV-2 exibem apenas ~ 72% de similaridade de sequência de nucleotídeos na proteína spike (S), a glicoproteína de superfície chave que interage com os receptores da célula hospedeira (Lu *et al.*, 2020). A análise genômica comparativa foi muito auxiliada pela disponibilidade de um vírus relacionado de um morcego *Rhinolophus affinis* (*i.e.*, horseshoe) amostrado na província de Yunnan, China, em 2013 (ZHOU *et al.*, 2020). Este vírus, denominado RaTG13, é ~96% semelhante ao SARS-CoV-2 no nível da sequência de nucleotídeos. Apesar desta semelhança de sequência, SARS-CoV-2 e RaTG13 diferem em uma série de características genômicas principais, provavelmente a mais importante das quais é que SARS-CoV-2 contém uma inserção de sítio de clivagem polibásica (furina) (resíduos PRRA) na junção das subunidades S1 e S2 da proteína S (COUTARD *et al.*, 2020).

O domínio de ligação ao receptor (RBD) na proteína *spike* é a parte mais variável do genoma do coronavírus. Seis aminoácidos RBD mostraram ser críticos para a ligação aos receptores ACE2 e para determinar a gama de hospedeiros de vírus semelhantes ao SARS-CoV. Com base em estudos estruturais e experimentos bioquímicos, o SARS-CoV-2 parece ter um RBD que se liga com alta afinidade à ACE2 de humanos, furões, gatos e outras espécies com alta homologia de receptor. Embora as análises acima sugiram que o SARS-CoV-2 pode se ligar a ACE2 humano com alta afinidade, as análises computacionais preveem que a interação não é ideal e que a sequência RBD é diferente daquelas mostradas no SARS-CoV como sendo ideal para ligação ao receptor. Assim, a ligação de alta afinidade da proteína spike SARS-CoV-2 ao ACE2 humano é muito provavelmente o resultado da seleção natural em um ACE2 humano ou semelhante ao humano que permitiu o surgimento de outra solução de ótima ligação. Esta é uma forte evidência de que o SARS-CoV-2 não é produto de manipulação intencional (ANDERSEN *et al.*, 2020). É importante ressaltar que uma (s) inserção (ões) independente (s) dos aminoácidos PAA no local de clivagem S1 / S2 foi observada recentemente em um vírus (RmYN02) amostrado em meados de 2019 de outro morcego *Rhinolophus* na província de Yunnan, indicando que esses eventos de inserção refletem uma parte natural da evolução contínua do coronavírus (ZHOU *et al.*, 2020).

É improvável que o SARS-CoV-2 tenha surgido por meio da manipulação laboratorial de um coronavírus semelhante ao SARS-CoV. Como observado acima, o RBD de SARS-CoV-2 é otimizado para ligação a ACE2 humano com uma solução eficiente diferente das previamente previstas. Além disso, se a manipulação genética tivesse sido realizada, um dos vários sistemas de genética reversa disponíveis para betacoronavírus provavelmente teria sido usado. No entanto, os dados genéticos mostram de forma irrefutável que o SARS-CoV-2 não é derivado de qualquer backbone de vírus usado anteriormente. Em vez disso, são propostos dois cenários que podem explicar de forma plausível a origem do SARS-CoV-2: (i) seleção natural em um animal hospedeiro antes da transferência zoonótica; e

(ii) seleção natural em humanos após transferência zoonótica. Também foi discutido se a seleção durante a passagem poderia ter dado origem ao SARS-CoV-2 (ANDERSEN *et al.*, 2020). Embora os morcegos sejam provavelmente os hospedeiros reservatórios para este vírus, sua separação ecológica geral dos humanos torna provável que outras espécies de mamíferos atuem como hospedeiros “intermediários” ou “amplificadores”, dentro dos quais o SARS-CoV-2 foi capaz de adquirir algumas ou todas as mutações necessárias para uma transmissão humana eficiente (ZHANG; HOLMES, 2020).

REFERÊNCIAS

ANDERSEN, K. G.; RAMBAUT, A.; LIPKIN, W. I.; HOLMES, E. C.; GARRY, R. F. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, v. 26, p. 450–452, 2020.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Biossegurança. *Revista Saúde Pública*, v. 39, n. 6, p. 989-991, 2005.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Microbiologia Clínica para o controle de infecção relacionado à assistência à saúde. Módulo 1: Biossegurança e manutenção de equipamentos em laboratório de microbiologia clínica*. Brasília: Anvisa, 2013.

BRASIL. 2021. Norma Regulamentadora NR 6. Disponível em: <https://www.gov.br/trabalho/pt-br/inspecao/seguranca-e-saude-no-trabalho/ctpp-nrs/norma-regulamentadora-no-6-nr-6>. Acesso em: 26 de junho de 2021.

COUTARD, B.; VALLE, C.; DE LAMBALLERIE, X.; CANARD, B.; SEIDAH, N.G.; DECROLY, E. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res.*, v. 176, p. 104742, 2020.

DE CASTRO, P. G.; ANDRADE, C. A. Biossegurança: Responsabilidade no Cuidado Individual e no Cuidado Coletivo. *Cadernos da Escola de Saúde - UNIBRASIL*. v. 6, n. 1994, p. 218–231, 2012.

INMETRO. Princípios das boas práticas de laboratório – bpl. Norma nº nit-dicla-035. Rev. Nº 04. Aprovada em out/2019.

COMISSÃO INTERNA DE BIOSSEGURANÇA DA FIOCRUZ PE, 2013. *Manual De Biossegurança CPqAM/FIOCRUZ PE*. Recife, 2013.

FILHO, A. S. G. DE O.; GREGÓRIO, A. P.; PORCIUNCULA, E. D. G. Procedimento Operacional Padrão. *EBSERH - Hospitais Universitários Federais*, p. 1-21, 2017.

FIOCRUZ. Comissão interna de biossegurança da fiocruz PE, 2013. *Manual de Biossegurança CPqAM/FIOCRUZ, PE*. Recife, 2013.

KUMAR, S. Biosafety and Biosecurity issues in biotechnology research. *Biosafety*, v. 4, n. 1, 2015.

LU, R.; ZHAO, X.; LI, J.; NIU, P.; YANG, B.; WU, H.; WANG, W.; SONG, H.; HUANG, B.; ZHU, N. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*, v. 395, p. 565-574, 2020.

MIGUEL, F. H.; ZARDETTI, R. M.; CARMO, S.S.; LIMA, V. S.; MIÇO, N. P.; NETO, O. A. A.; FRODER, J. G. Princípios de biossegurança aplicados aos laboratórios de nível 4 com manipulação do vírus ebola. *Revista Conexão Eletrônica*. v. 14, p. 29–46, 2017.

REIS, C. R. S.; GALINDO, E. F. Biossegurança em foco. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz & Instituto Aggeu Magalhães – Fiocruz-PE. p. 1–201, 2020.

SANGIONI, L. A.; PEREIRA, D. I. B.; VOGEL, F. S. F.; BOTTON, S. A. Princípios de biossegurança aplicados aos laboratórios de ensino universitário de microbiologia e parasitologia. *Ciência Rural*, v. 43, n. 1, p. 91-99, 2013.

SANTOS, Z. 2017. Portal SESMT - Nr-6 equipamentos de proteção individual (EPI) e coletiva (EPC). Disponível em: <<https://www.sesmt.com.br/Artigo/nr-6-equipamentos-de-protecao-individual-epi-e-coletiva-epc>>. Acesso em: 20 maio. 2021.

SEIDEL, L. R. Equipamentos de proteção individual e coletivo. Indaial: UNIASSELVI. p. 1-192, 2012.

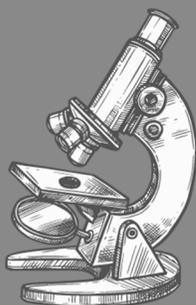
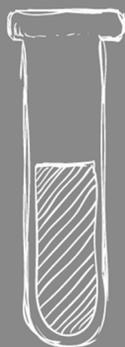
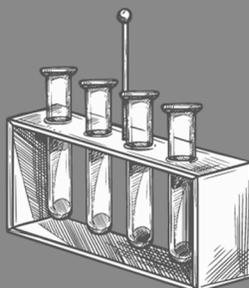
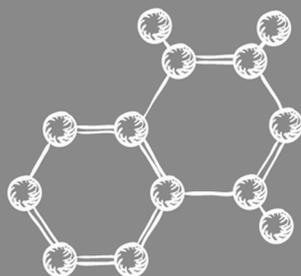
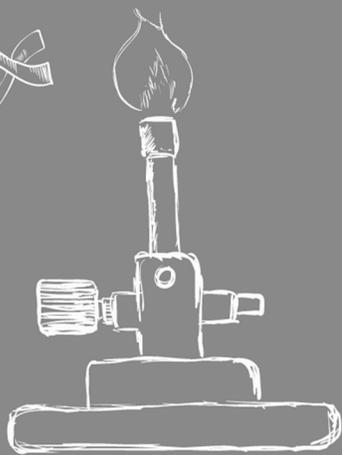
UFFS. Universidade Federal de Fronteira do Sul. Plano de gerenciamento de resíduos dos laboratórios da UFFS Campus Chapecó, 2015, 25p.

ZHANG, Y, Z.; HOLMES, E. C. A Genomic perspective on the origin and emergence of SARS-CoV-2. *Cell*, v. 181, p. 223-227, 2020.

ZHOU, P.; YANG, X.L.; WANG, X.G.; HU, B.; ZHANG, L.; ZHANG, W.; SI, H.R.; ZHU, Y.; LI, B.; HUANG, C.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, v. 579, p. 270-273, 2020.

Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022



www.atenaeditora.com.br 

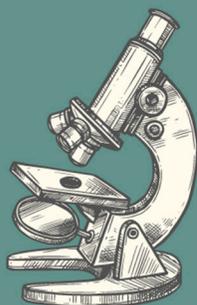
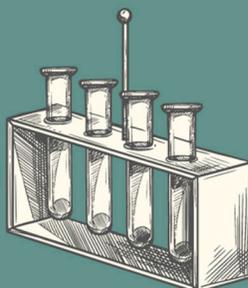
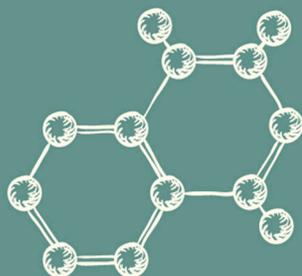
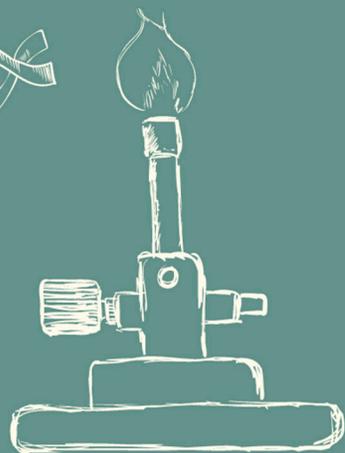
contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022



www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 