NORMA DE HIGIENE OCUPACIONAL

MÉTODO DE ENSAIO

MÉTODO DE COLETA E ANÁLISE DE FIBRAS EM LOCAIS DE TRABALHO

ANÁLISE POR MICROSCOPIA ÓTICA DE CONTRASTE DE FASE

NHO 04

MINISTÉRIO
DO TRABALHO E EMPREDO

FUNDACENTRO
FAMAJO, JOSE MARII FOLESSIO

NORMA DE HIGIENE OCUPACIONAL MÉTODO DE ENSAIO

PRESIDENTE DA REPÚBLICA Fernando Henrique Cardoso

MINISTRO DO TRABALHO E EMPREGO

Francisco Dornelles

FUNDACENTRO

PRESIDENTE DA FUNDACENTRO

Humberto Carlos Parro

DIRETOR EXECUTIVO

José Gaspar Ferraz de Campos

DIRETOR TÉCNICO

João Bosco Nunes Romeiro

DIRETOR DE ADMINISTRAÇÃO E FINANÇAS

Antonio Sérgio Torquato

ASSESSOR DE COMUNICAÇÃO SOCIAL

José Carlos Crozera

DIVISÃO DE PUBLICAÇÕES

Elisabeth Rossi

Norma de Higiene Ocupacional

Método de Ensaio

Método de Coleta e Análise de Fibras em Locais de Trabalho Análise por Microscopia Ótica de Contraste de Fase

> Equipe de elaboração: Cristiane Queiroz Barbeiro Lima Norma Conceição do Amaral

Este método de avaliação está incluído na série de Normas de Higiene Ocupacional (NHOs), elaborado por técnicos da Coordenação de Higiene do Trabalho da FUNDACENTRO, por meio do Projeto Difusão de Informações em Higiene do Trabalho 1998/1999.



APRESENTAÇÃO

A Coordenação de Higiene do Trabalho da FUNDACENTRO, por meio do Projeto Difusão de Informações em Higiene do Trabalho 1998/1999, vem elaborando a série de normas técnicas denominadas Normas de Higiene Ocupacional.

A avaliação ambiental nos locais de trabalho é uma medida preventiva importante, uma vez que pode indicar se determinadas condições de trabalho trarão prejuízos ou não à saúde dos trabalhadores, especialmente quando as doenças causadas pelo trabalho manifestam-se somente após longo tempo de latência, como é o caso das doenças originadas pela maioria das fibras.

Com o objetivo maior de verificar a eficiência das medidas de controle nos locais de trabalho que manipulam fibras foi desenvolvido este método, tendo como base as referências internacionais existentes e a aplicação prática.

Este método traz detalhes dos procedimentos necessários para coleta e análise de fibras e oferece ferramentas importantes para os trabalhos da Higiene Ocupacional.

ROBSON SPINELLI GOMES

Gerente da Coordenação de Higiene do Trabalho

SUMÁRIO

| 1. Introdução | 11 |
|--------------------------------------------------|----|
| 2. Objetivo | 11 |
| 3. Campo de aplicação | 11 |
| 4. Referências normativas | |
| 5. Precisão analítica | 12 |
| 6. Definições | 12 |
| 7. Símbolos e abreviaturas | 15 |
| 8. Princípio do método | 15 |
| 9. Interferências | 16 |
| 10. Materiais utilizados para coleta | 18 |
| 11. Aparelhagem para coleta | 18 |
| 12. Materiais utilizados para análise | 18 |
| 13. Aparelhagem para análise | 19 |
| 14. Densidade de fibras sobre o filtro | 19 |
| 15. Limpeza de materiais e equipamentos | 21 |
| 16. Preparação dos filtros para coleta | 22 |
| 17. Procedimento de coleta | 24 |
| 18. Transporte de amostras | 25 |
| 19. Preparação de amostras para análise | 26 |
| 20. Procedimento de análise | 31 |
| 21. Cálculo da concentração para cada amostra | |
| 22. Expressão dos resultados | 37 |
| 23. Notas de procedimento | 37 |
| 24. Referências bibliográficas | 38 |
| 25. Representação esquemáticas dos procedimentos | 40 |

ANEXOS

| A. F | Procedimento para medição da área útil do filtro | 41 |
|------|------------------------------------------------------------------------|-----|
| B. E | Especificação e aferição do gratículo ocular de Walton-Beckett – G-22_ | 42 |
| C. E | Especificação e ajuste do microscópio | 45 |
| D. E | Especificação e utilização da lâmina HSE/NPL | 49 |
| E. E | Estratégia de amostragem | 51 |
| F. C | Controle da qualidade das contagens | 57 |
| G. N | Modelo de formulário para Coleta de Amostras Ambientais | _58 |
| H. N | Modelo de formulário para Observações sobre o Estado das Amostras | _59 |
| I. M | lodelo de formulário para Contagem de Fibras | _60 |
| J. M | Iodelo de formulário para Cálculo de Resultados Finais das Contagens | 61 |
| FI | GURAS | |
| 1 | Modelos e montagem dos porta-filtros | _23 |
| 2 | Vedação do porta-filtro de alumínio | _24 |
| 3 | Fechamento do porta-filtro de alumínio | _24 |
| 4 | Transporte de amostras em pequenos frascos | _26 |
| 5 | Transporte de amostras em maleta de alumínio | _26 |
| 6 | Retirada do filtro amostrado do frasco | _28 |
| 7 | Retirada do filtro amostrado do porta-filtro | _28 |
| 8 | Colocação do filtro amostrado sobre a lâmina | _28 |
| 9 | Sistema de vaporização de acetona para | |
| | transparentar o filtro amostrado | _29 |
| 10 | Colocação da lamínula sobre o filtro | _30 |
| 11 | Armazenamento das lâminas | 31 |
| 12 | Orientação de sentido nas contagens | _32 |
| 13 | Fibra totalmente dentro da área do retículo | _33 |
| 14 | Fibra dentro e fora da área do retículo | _33 |
| 15 | Fibra que cruza mais de uma vez a área do retículo | 34 |
| 16 | Fibra com extremidade dividida dentro da área do retículo | 34 |
| 17 | Fibras agrupadas dentro da área do retículo | 35 |
| 18 | Fibras agregadas a material particulado | 25 |
| | dentro da área do retículo | _33 |

PREFÁCIO

Este método de ensaio vem sendo aplicado por técnicos do Laboratório de Microscopia, Gravimetria e Difratometria de Raios X da FUNDACENTRO desde 1987. Ele foi revisado para incorporar-se à Série de Normas de Higiene Ocupacional (NHOs), juntamente com a evolução de novos conceitos e aplicação prática.

A técnica de microscopia ótica de contraste de fase para análise de fibras no ar tem sido preferida em virtude de ser uma técnica rápida e com custo relativamente baixo, em comparação com outros métodos.

1. INTRODUÇÃO

O extenso uso de fibras, sejam elas naturais, artificiais ou sintéticas, nos diversos processos industriais, proporcionou vários estudos epidemiológicos sobre os efeitos à saúde dos trabalhadores que manipulam diretamente esses materiais, assim como da população potencialmente exposta a eles. A exposição a poeiras contendo fibras pode implicar no surgimento de doenças do sistema respiratório.

Diante das várias pesquisas em diversos países, verificou-se a necessidade de padronização da metodologia de avaliação ambiental, de modo a obter dados que pudessem ser comparados mais exata e precisamente. Neste sentido, o Laboratório de Microscopia da FUNDACENTRO adaptou a metodologia de coleta e análise de fibras por microscopia ótica de contraste de fase, recomendada pela Organização Mundial da Saúde, em conjunto com as orientações da Norma Regulamentadora nº- 15, Anexo 12 – Limites de Tolerância para Poeiras Minerais – Asbesto, de modo a tornar os resultados das avaliações de fibras nos locais de trabalho mais representativos e comparáveis entre si.

2. OBJETIVO

Esta Norma prescreve um método padronizado de coleta e análise de fibras, incluindo todos os tipos de amianto/asbesto, fibras vítreas (MMVF – *Man Mineral Vitreous Fibers*) e fibras cerâmicas. Tem a finalidade de estimar a concentração de fibras respiráveis em suspensão no ar.

3. CAMPO DE APLICAÇÃO

Este método se aplica à verificação da presença e concentração de fibras respiráveis no ambiente de trabalho, fornecendo subsídios para a proposição de medidas de controle ou para a avaliação de sua eficácia.

Nota: Este método não se aplica a avaliação de fibras orgânicas (algodão, sisal, linho, rami e cânhamo).

4. REFERÊNCIAS NORMATIVAS

As normas relacionadas a seguir estavam em vigor no momento desta publicação. Como toda Norma está sujeita à revisão, recomenda-se utilizar as edições mais recentes.

Na aplicação deste método de ensaio pode-se consultar:

- NHT 03 A/E/1984: Determinação de vazão de amostragem pelo método da bolha de sabão (FUNDACENTRO).
- NBR 10562/1988: Calibração de vazão, pelo método da bolha de sabão, de bombas de baixa vazão utilizadas na avaliação de agentes químicos no ar (ABNT).

5. PRECISÃO ANALÍTICA

5.1. A maioria dos métodos que utilizam a técnica de microscopia ótica de contraste de fase apresenta grande variabilidade nos resultados intra e interlaboratoriais.

Sob controle estatístico do processo analítico, o coeficiente de variação analítico em um laboratório deve ser próximo de 20%, se 100 fibras forem contadas. Para concentrações muito altas ou muito baixas o coeficiente de variação é maior.

5.2. A microscopia ótica por contraste de fase não diferencia fibras. Fibras maiores que 0,15 µm de diâmetro podem ser detectadas.

6. DEFINIÇÕES

Para efeito deste método, aplicam-se as seguintes definições:

6.1. Área útil do filtro

É toda a área do filtro exposta ao depósito de poeira. A área útil do filtro pode variar de acordo com o sistema de coleta utilizado

e, também, em virtude do desgaste do filtro. O procedimento para a medição da área útil do filtro está descrito no Anexo A.

6.2. Campo de contagem

É a área circular interna pertencente ao gratículo de Walton-Beckett.
(Anexo B)

6.3. Estratégia de amostragem

A estratégia de amostragem consiste em um planejamento cuidadoso para atingir o objetivo da avaliação quantitativa. (Anexo E)

6.4. Fibra

É um longo e fino filamento de determinado material.

6.5. Fibra respirável

Entende-se por fibra respirável aquela com diâmetro inferior a 3 micrômetros, comprimento maior que 5 micrômetros, e relação entre comprimento e diâmetro igual ou superior a 3:1.

6.6. Filtro branco de lote

Filtro de membrana do mesmo tipo, porosidade e diâmetro que o filtro a ser utilizado para a coleta. É um filtro usado exclusivamente em laboratório, como controle de contaminação antes da preparação dos filtros para amostragem.

Uma amostra representativa de 4% do lote (caixas de 50 ou 100 unidades) de filtros deve ser preparada e contada conforme o método.

Quando a média dos resultados se encontrar acima de 5 fibras em 100 campos, o lote todo deverá ser rejeitado.

6.7. Filtro branco de laboratório

É um filtro de membrana do mesmo tipo, porosidade e diâmetro que o filtro utilizado na coleta.

É usado exclusivamente no laboratório, como controle de contaminação durante a preparação dos filtros amostrados.

Deve ser preparado ao mesmo tempo e da mesma forma que os filtros amostrados.

Se a contagem do filtro branco de laboratório exceder 10% da contagem da amostra que apresentou o menor número de fibras encontradas, todas as amostras que foram preparadas com este filtro branco devem ser desconsideradas, para efeito da avaliação da exposição ocupacional.

Nota: A utilização dos resultados encontrados fica sob apreciação do profissional responsável pela coleta das amostras.

6.8. Gratículo

É a marcação colocada no plano focal da ocular de um instrumento ótico; serve como referência na limitação de área para análise ou como dispositivo auxiliar de uma medida.

6.9. Plano do filtro

É a área na qual se verifica nitidamente a linha verde do filtro de membrana

6.10. Registros de campo

É o registro de todos os dados ou ocorrências observados durante a avaliação ambiental no local de trabalho. Devem ser tomados de maneira organizada e anotados em folhas apropriadas, propiciando obter as devidas conclusões.

6.11. Vazão de ar

É o volume de ar em litros, que passa através do dispositivo de coleta por unidade de tempo, em minutos.

7. SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

7.1. ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

7.2. cm /min – centímetro cúbico de ar por minuto

7.3. f/cm³ – fibras por centímetro cúbico

7.4. 1/min – litros por minuto

7.5. mm – milímetros

7.6. NBR – Norma Brasileira

7.7. NHT – Norma de Higiene do Trabalho

7.8. µm – micrômetros

7.9. mm² – milímetros quadrados

8. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Este método consiste em coleta e análise de fibras, sendo:

8.1. Coleta

Trata-se de aspirar um determinado volume de ar com o auxílio de uma bomba portátil, calibrada na vazão desejada, fazendo-o passar através de filtro de membrana, onde as fibras são retidas.

8.2. Análise

Tornar transparente o filtro de membrana com material coletado sobre uma lâmina de vidro, utilizando vapor de acetona, a fim de permitir a passagem de luz do microscópio.

Adicionar triacetina para obter um índice de refração adequado para a visibilidade das fibras.

Colocar uma lamínula para proteção, e aguardar 24 horas para o manuseio.

As fibras depositadas sobre o filtro de membrana são medidas e contadas, e o resultado da concentração é expresso em fibras por centímetro cúbico de ar, calculado dividindo-se o número de fibras respiráveis contadas sobre o filtro pelo volume de ar amostrado.

Nota: A preparação de amostras com acetona e triacetina é recomendável para fibras com índice de refração maiores que 1,51.

9. INTERFERÊNCIAS

Qualquer outra partícula pode interferir na análise, desde que se encontre dentro do critério de contagem.

A variabilidade do valor estimado para a concentração de fibras no ar ocorre em razão de vários fatores e erros cometidos durante os procedimentos de coleta e/ou durante os procedimentos analíticos. Os erros podem ser sistemáticos ou aleatórios. A aplicação de procedimentos padronizados e de um Programa de Controle da Qualidade Laboratorial é a maneira adequada de controle de algumas fontes de erros deste método. (Anexo F)

9.1. Erros sistemáticos

9.1.1. Coleta

- Ajuste da vazão da bomba
- Escolha da estratégia de amostragem
- Contaminação do filtro durante a amostragem e o transporte

9.1.2. Análise

- Medição da área útil do filtro
- Regra de contagem

- Preparação da amostra
- Tendência do analista
- Ajuste do microscópio
- Contaminação de amostras

9.2. Erros aleatórios

9.2.1. Coleta

- Variação da vazão da bomba de amostragem durante a coleta de amostras
- Flutuações da concentração da poeira ambiental

9.2.2. Análise

- Variação da contagem entre analistas
- Distribuição das fibras sobre o filtro

10. MATERIAIS UTILIZADOS PARA COLETA

- **10.1.** Pinças planas, sem estrias nas bordas e sem propriedades magnéticas
- **10.2.** Porta-filtro ou dispositivo de coleta. Conjunto de duas peças contendo um prolongamento (tubo) feito de material metálico aberto e de plástico branco ou de polipropileno saturado com carvão, com 25 mm de diâmetro, que abriga e sustenta o filtro de membrana e seu suporte (Figura 1.)
- **10.3.** Filtro de membrana constituído por nitrato de celulose ou uma mistura de ésteres de celulose com tamanho de poro de 0,8 μm ou 1,2 μm, diâmetro de 25 mm, com quadriculado impresso (Figura 4).

- **10.4.** Suporte de celulose de 25 mm de diâmetro
- **10.5.** Etiquetas adesivas ou caneta de retroprojetor para identificação dos dispositivos.
- **10.6.** Fita de teflon (para vedação)
- **10.7.** Detergente neutro P.A. (para limpeza dos dispositivos de coleta)

11. APARELHAGEM PARA COLETA

11.1. Bomba de amostragem

Instrumento portátil que forneça uma vazão de ar de até 6 l/min, provida de um sistema de controle de vazão constante que funciona com bateria recarregável e blindada, para utilização em ambientes onde se presume que existe risco de explosão, e um sistema automático de controle de fluxo que lhes permita regular, de maneira instantânea, as variações no fluxo do ar aspirado, com uma precisão de \pm 5%

12. MATERIAIS UTILIZADOS PARA ANÁLISE

- 12.1. Lâminas de 76 mm × 25 mm e 1 mm de espessura
- **12.2.** Lamínulas de 32 mm \times 24 mm e 0,17 mm de espessura
- **12.3.** Seringa de vidro hipodérmica
- **12.4.** Agulhas $3 \times 7 \text{ mm } (22/\text{gauge})$
- **12.5.** Etanol P.A. (para limpeza dos microscópios)
- **12.6.** Canetas de retroprojetor (para identificação nas lâminas)
- 12.7. Papel do tipo fotográfico para limpeza de lentes
- 12.8. Acetona P.A.

12.9. Triacetina P.A. (triacetato de glicerina)

12.10.Caixas de madeira para armazenar as lâminas preparadas

13. APARELHAGEM PARA ANÁLISE

- **13.1.** Vaporizador de acetona elétrico (Figura 9).
- **13.2.** Microscópio ótico binocular de contraste de fase (Vide especificações no Anexo C.)

14. DENSIDADE DE FIBRAS SOBRE O FILTRO

Número de fibras por milímetro quadrado de área de filtro, D (número de fibras/mm²) determinado pela seguinte fórmula:

$$D = \frac{nf/ng}{Ag}(f/mm^2)$$

onde

D = densidade de fibras sobre o filtro (f/mm²)

nf = número de fibras contadas

ng = número observado de áreas do gratículo

Ag = área do gratículo (mm²)

14.1. Densidade mínima de fibras

É a densidade mínima admissível de fibras sobre o filtro, que corresponde a 50 fibras/mm², aproximadamente 40 fibras/100 áreas do gratículo Walton-Beckett. Em situações nas quais se espera uma concentração muito baixa, é aceitável uma precisão menor, sendo consideradas 20 fibras/mm², ou seja, aproximadamente 16 fibras/100 áreas do gratículo Walton-Beckett.

14.2. Densidade máxima de fibras

É a densidade máxima admissível de fibras sobre o filtro, que corresponde à aceitação de até 650 fibras/mm², aproximadamente 5 fibras por área do gratículo.

Recomenda-se trabalhar com densidade entre 100 e 400 fibras/mm², para permitir maior reprodutibilidade dos resultados de contagem.

14.3. Cálculo do tempo recomendado para coleta de amostras, para o atendimento da faixa desejável de densidade de fibras sobre o filtro

A duração da coleta de uma amostra de poeira contendo fibras pode ser determinada aplicando-se a seguinte fórmula:

$$T = Auf \times \frac{D}{Cesp.} \times \frac{1}{Q}$$

onde

T = tempo de duração da coleta para uma determinada amostra (min)

 $Auf = \text{área útil do filtro (mm}^2)$

 $Ag = \text{área do gratículo (mm}^2)$

D = densidade de fibras desejada (f/mm²)

Cesp. = concentração média esperada por amostragem (f/cm³)

Q = vazão (cm³/min)

Notas:

- O tempo de coleta de amostra inferior a 10 minutos não é recomendável.
- A estimativa acima é de cunho orientativo.

15. LIMPEZA DE MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

15.1. Limpeza de materiais

- 15.1.1. As pinças metálicas devem ser limpas com álcool etílico e lenço de papel.
- 15.1.2. Os porta-filtros, lâminas, seringas e agulhas devem ficar de molho em água com detergente neutro durante o tempo necessário para total limpeza. Enxaguar pelo menos 5 vezes em água corrente e 3 vezes em água destilada. Secar os porta-filtros em estufa, em temperatura de até 50 °C.
- 15.1.3. As mangueiras plásticas usadas para coleta devem ficar de molho em água com detergente neutro durante o tempo necessário para total limpeza. Enxaguar pelo menos 5 vezes em água corrente e 3 vezes em água destilada. Secar as mangueiras utilizando uma bomba a vácuo ou em temperatura ambiente.

15.2. Limpeza de equipamentos

- 15.2.1. Limpar a parte externa das bombas de amostragem ou do vaporizador de acetona, utilizando uma flanela ou, quando necessário, um pano umedecido em água e a seguir um pano seco.
- 15.2.2. Limpar a parte externa do microscópio, sempre antes de usá-lo, com papel de limpeza.
- 15.2.3. Limpar os acessórios do microscópio, tais como oculares, objetivas, telescópio, lâminas etc., somente com papel fotográfico ou papel próprio para lentes.
- 15.2.4. Toda área próxima ao microscópio deve ser mantida o mais livre possível de partículas.

16. PREPARAÇÃO DOS FILTROS PARA COLETA

16.1. Montagem dos filtros

- 16.1.1. Os filtros de membrana a serem utilizados na coleta de amostras devem ser retirados cuidadosamente de sua embalagem original, com o auxílio de uma pinça, e depositados sobre os corpos inferiores dos porta-filtros já preparados com os suportes do filtro. Nesta etapa, deve-se verificar possíveis defeitos nos filtros e descartá-los (Figura 1).
- 16.1.2. Após a montagem, fechá-los utilizando um plugue ou tampa azul na entrada dos filtros.

16.2. Seleção do filtro branco de lote

Escolher, ao acaso, 4% dos filtros da mesma embalagem (ou embalagens). Prepará-los como descrito no item 19.

16.3. Codificação dos porta-filtros

Escolher um código para cada embalagem original de 50 ou 100 filtros e identificar os porta-filtros com esse código, de forma crescente.

Estabelecer um código para os filtros brancos de lote de cada embalagem, para a verificação da contaminação dos lotes.

Exemplo:

Lote da embalagem A (filtros A-01 a A-49)

Lote da embalagem B (filtros B-01 a B-49)

São considerados aprovados os lotes com contaminação inferior a 5 fibras em 100 campos, não havendo necessidade de correções nos resultados da contagem.

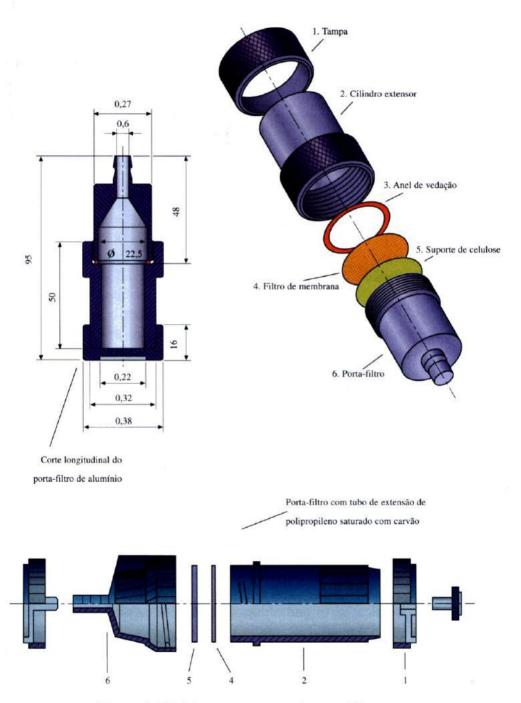


Figura 1. Modelos e montagens de porta-filtros

16.4. Vedação do porta-filtro

16.4.1. Fechar os porta-filtros, já montados conforme as Figuras 2 e 3, vedando os encaixes com uma camada de fita de teflon (porta-filtros de alumínio).



Figura 3. Fechamento do porta-filtro de alumínio

17. PROCEDIMENTO DE COLETA

- **17.1.** Verificar se os porta-filtros já montados e codificados estão em perfeito estado.
- **17.2.** Verificar se os equipamentos e acessórios a serem usados em campo são adequados.
- 17.3. Calibrar as bombas de amostragem para 1 l/min.

- **17.4.** Montar o conjunto de amostragem de acordo com a estratégia de amostragem escolhida (individual ou estática). (Anexo E)
- **17.5.** Retirar a tampa do porta-filtro ou plugue já instalado e ligar a bomba de amostragem.
- **17.6.** Anotar os dados em folhas de registro, tais como data, hora, número do ponto, código do filtro, código da bomba, observações etc. (Anexo G)
- **17.7.** O tempo da amostragem deve ser aquele determinado na amostragem preliminar. (Anexo E)
- **17.8.** Concluído o tempo da amostragem, desligar a bomba, fechar o porta-filtro com plugue ou tampa vermelhos, para diferenciar dos não utilizados (plugue azul).
- **17.9.** Retirar o porta-filtro da mangueira cuidadosamente, invertendo-o e armazenando-o em caixa de transporte apropriada, evitando assim o desprendimento do material coletado sobre o filtro; levá-lo para análise.

Nota: Recomenda-se não reutilizar o dispositivo de coleta durante um mesmo período de amostragem.

17.10. Finalizado o período de amostragem, verificar a vazão final das bombas de amostragem (ver capítulo 4).

Nota: Efetuar análise das amostras que não foram invalidadas durante a amostragem, ou seja, amostras de bombas que apresentaram variação de vazão maior que 5% são consideradas inválidas.

18. TRANSPORTE DE AMOSTRAS

18.1. Os filtros de membrana amostrados devem ser transportados, preferencialmente, nos próprios dispositivos de coleta, ou em outro recipiente de vidro ou material não condutivo (vide Figura 4), em um ambiente livre de poeira, com a ajuda de pinças apropriadas de modo a evitar qualquer contaminação. Os dispositivos de

- coleta ou vidros podem ser transportados em caixas ou maletas apropriadas (vide Figura 5).
- 18.2. Os filtros de membrana devem ser transportados com a face amostrada voltada para cima. Deve-se tomar todo o cuidado possível na identificação das amostras, para evitar a reutilização de um filtro amostrado por engano ou para não confundir amostras.



Figura 4. Transporte de amostras em pequenos frascos

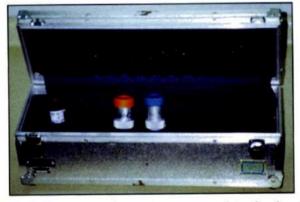


Figura 5. Transporte de amostras em maleta de alumínio

19. PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE

19.1. Colocar os porta-filtros amostrados em bancada limpa, livre de contaminação de partículas.

19.2. Arrumar na capela um frasco contendo acetona e uma seringa com agulha para aplicação da acetona no vaporizador. Colocar no frasco somente a quantidade suficiente para ser usada no preparo das amostras.

Cuidados:

- a) O vapor de acetona é altamente inflamável e levemente tóxico.
- b) Manusear a acetona, obrigatoriamente, em área ventilada e/ou com sistema de ventilação local exaustora (capela) adequado, mantendo-a longe de qualquer fonte de ignição.
- Manter o frasco com resíduo de acetona dentro da capela ligada até a total evaporação do líquido. Nunca retornar acetona P.A. ao frasco original.
- **19.3.** Despejar a triacetina em um frasco pequeno, em quantidade suficiente para a preparação das amostras, e separar também uma seringa com agulha para a adição da triacetina sobre a lâmina.
- **19.4.** Separar a quantidade de lâminas já limpas e secas a serem utilizadas para a preparação.

Nota: As lâminas de vidro devem ser pré-lavadas, deixando-as de molho em água contendo detergente neutro P.A., por aproximadamente 4 horas, enxaguando-as 3 vezes em água corrente e 2 vezes em água destilada. Secar as lâminas em estufa sob temperatura de até 50 °C.

- 19.5. Separar uma caixa de lamínulas a serem utilizadas na preparação.
- 19.6. Conectar o vaporizador de acetona à rede elétrica.
- **19.7.** Colocar o filtro amostrado, com sua face quadriculada voltada para cima, sobre a lâmina limpa, com o auxílio de uma pinça.

Nota: O filtro deve ser seguro pela pinça, na borda (± 2mm ao seu redor).

19.8. Codificar a lâmina conforme indicação no porta-filtro, utilizando uma caneta de retroprojetor.



Figura 6. Retirada do filtro amostrado do frasco

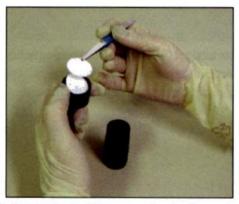


Figura 7. Retirada do filtro amostrado do porta-filtro



Figura 8. Colocação do filtro amostrado sobre a lâmina

19.9. Inserir a lâmina com o filtro no local indicado no vaporizador.

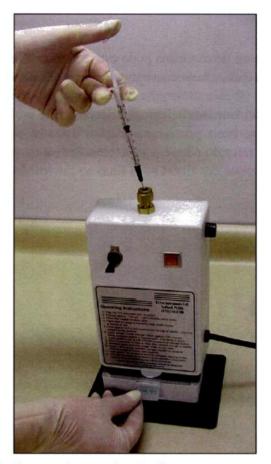


Figura 9. Sistema de vaporização de acetona para transparentar o filtro amostrado

19.10. Injetar acetona no local indicado no vaporizador, movendo a lâmina vagarosamente através do fluxo de vapor até a total transparência do filtro. O filtro é transparentado dentro de até 5 segundos. Evitar que gotas de acetona caiam sobre o filtro.

Nota: O vapor tem de ser forte o suficiente para o filtro não enrolar ou distorcer.

19.11. Colocar sobre o filtro transparentado, com o auxílio de uma seringa, 1 a 2 gotas de triacetina.

Notas:

- a) O excesso de triacetina pode causar a migração de fibras para as bordas da lamínula e, eventualmente, pode desintegrar o filtro.
- b) A quantidade suficiente de triacetina não proporcionará uma boa transparência para as granulação deixadas pela acetona, e o índice de refração não será suficientemente bom para uma perfeita visualização das fibras mais finas ao microscópio.
- **19.12.** Colocar a lamínula sobre o filtro, para evitar o aparecimento de bolhas de ar, mas não pressioná-la.

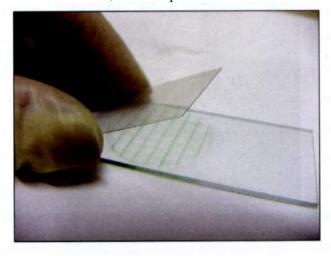




Figura 10. Colocação da lamínula sobre o filtro

19.13. Colocar as lâminas preparadas, na posição horizontal, em caixa apropriada devidamente identificada, e aguardar 24 horas para que a ação da triacetina se complete.

Notas:

- a) Para acelerar o processo, aquece-se a lâmina preparada por 15 minutos em estufa, a uma temperatura de 50 °C.
- b) Para a conservação da amostra, pincelar as bordas da lamínula com esmalte incolor.



Figura 11. Armazenamento das lâminas

20. PROCEDIMENTO DE ANÁLISE

- **20.1.** Limpar a bancada e o microscópio onde será efetuada a contagem.
- **20.2.** Colocar uma amostra preparada no microscópio e ajustá-lo. (Anexo C)
- **20.3.** Conferir o limite de detecção do microscópio e também do analista por meio da lâmina Test Slide. (Anexo D)
- **20.4.** Substituir a objetiva de 40x pela objetiva de 10x, para examinar a uniformidade do depósito de partículas, fazendo uma varredura por toda a área do filtro.

Nota: Descartar a amostra se a não-uniformidade for observada.

- **20.5.** Recolocar a objetiva de 40x e posicionar o campo de visão em um dos extremos, superior ou inferior, da área útil do filtro.
- **20.6.** Iniciar a contagem a partir deste ponto, seguindo uma linha radial até o extremo oposto.

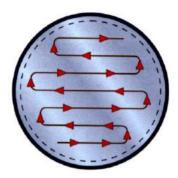


Figura 12. Orientação de sentido nas contagens

20.7. Deslocar o campo de visão para cima ou para baixo, continuando a percorrer o filtro na direção contrária.

Notas:

- a) Os campos de contagem devem ser escolhidos aleatoriamente, mantendo-se uma distância entre cada campo conforme a densidade de fibras sobre o filtro, de forma a garantir que seja percorida a maior área útil do filtro, obedecendo à regra de contagem.
- b) Cada plano deve ser focalizado e levemente desfocalizado (foco fino), para a observação de possíveis fibras finas que podem estar encaixadas pouco abaixo ou pouco acima do plano do filtro.
- c) São gastos aproximadamente 15 segundos para a obtenção de uma boa visualização e contagem das fibras em cada campo.

20.8. Regra de contagem

A regra está em conformidade com a recomendação do Programa de Harmonização de Metodologia, promovido pela Organização Mundial da

Saúde em janeiro de 1994. Baseia-se também no método da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), NBR 13158: Avaliação de agentes químicos no ar – Coleta de fibras respiráveis inorgânicas em suspensão no ar e análise por microscopia ótica de contraste de fase – Método do Filtro de Membrana.

- 20.8.1. Contar as fibras respiráveis que cruzam os limites da área do gratículo da seguinte maneira:
 - 20.8.1.1. Contar qualquer fibra respirável que esteja totalmente dentro dos limites da área do gratículo.

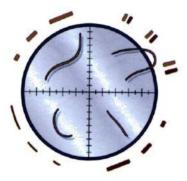


Figura 13. Fibra totalmente dentro da área do retículo

20.8.1.2. Contar como ½ fibra respirável qualquer fibra que tenha uma parte do seu comprimento dentro e outra parte fora dos limites da área do gratículo.

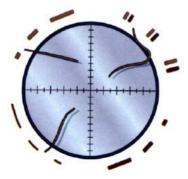


Figura 14. Fibra dentro e fora da área do retículo

20.8.1.3. Contar fibras respiráveis que cruzam mais de uma vez os limites da área do gratículo se as suas extremidades estiverem dentro da área do gratículo.

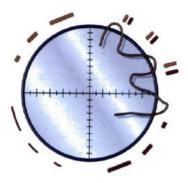


Figura 15. Fibra que cruza mais de uma vez a área do retículo

20.8.1.4. Contar como 1 fibra respirável aquela que apresenta a extremidade dividida e se encontra, inteiramente, no interior do gratículo; o diâmetro deve ser medido na sua parte não dividida.

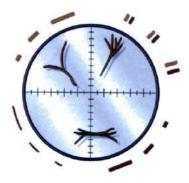


Figura 16. Fibra com extremidade dividida dentro da área do retículo

20.8.1.5. As fibras agrupadas devem ser contadas individualmente se puderem ser identificadas de forma isolada. Não podendo ser identificadas individualmente, as fibras agrupadas devem ser contadas como 1 fibra, se no conjunto obedecerem à definição de fibras respiráveis.

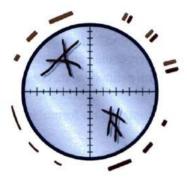


Figura 17. Fibras agrupadas dentro da área do retículo

- 20.8.1.6. Contar um número suficiente de campos para atingir 100 fibras. Contar, no mínimo, 20 campos e, no máximo, 100.
- 20.8.1.7. Fibras agregadas a outras partículas deverão ser contadas como fibras independentemente do diâmetro da partícula agregada, desde que apresentem os parâmetros da definição de fibra respirável.

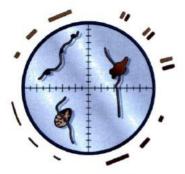


Figura 18. Fibras agregadas a material particulado dentro da área do retículo

20.8.1.8. Desprezar o campo que tiver mais de 1/8 de sua área ocupada por aglomerados de partículas. Selecionar outro campo e não considerar o campo desprezado no total de campos contados.

Nota: Depósitos não aleatórios de poeira sobre o filtro levam a erros grosseiros que não podem ser estimados. Devem ser, então, contados, no mínimo, 20 campos, para assegurar que as divergências no depósito da poeira não interfiram na estimativa da concentração ambiental.

20.9. Anotar o valor encontrado no formulário de contagens. (Anexo I)

21. CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO PARA CADA AMOSTRA

21.1. Para o cálculo da concentração de fibras para cada amostra, aplicar a seguinte fórmula:

$$C = \frac{nf}{ng} \times \frac{1}{Q} \times \frac{1}{t} \times \frac{Auf}{Ag} (f/cm^{3})$$

onde

C = concentração de fibras (f/cm³)

nf = número de fibras contadas

ng = número observado de áreas do gratículo

Q = vazão de ar utilizada na calibração (l/min) t = tempo total da amostragem (min)

Auf = área útil do filtro (mm²)

 $Ag = \text{área do gratículo (mm}^2)$

21.2. Esta fórmula pode ser simplificada e expressa da seguinte maneira:

$$C = D \times \frac{Auf}{V} (f/cm^3)$$

onde

D = densidade de fibras (f/mm³)

Auf = área útil do filtro (mm²)

 $V = \text{volume de ar (cm}^2)$

22. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

22.1. Os valores de concentração em fibras por centímetros cúbicos de ar devem ser apresentados com 1 algarismo decimal.

23. NOTAS DE PROCEDIMENTO

23.1. Todos os resultados, tanto os de contagem das fibras como os de concentração de fibras por centímetros cúbicos de ar, devem ser acompanhados das observações de amostragem e análise que se fizerem necessárias para a perfeita interpretação dos dados fornecidos.

- 23.2. As amostras que apresentarem material desprendido do filtro devem ser invalidadas para efeito da avaliação da exposição ocupacional. Os resultados dessas amostras podem servir para uma estimativa da concentração de fibras no ar ou cálculo de um tempo de amostragem mais adequado para alcançar a faixa recomendável de densidade de fibras sobre o filtro.
- **23.3.** As amostras que apresentarem material desprendido do filtro devem ser acompanhadas das seguintes observações, em cada caso:
 - material despendido do filtro
 - perda de material na abertura do porta-filtro
 - perda de material durante a preparação para análise
 - amostra aderida ao porta-filtro
- **23.4.** Os valores da concentração de fibras por centímetro cúbico de ar das amostras invalidadas deverão ser fornecidos com um número inteiro, sem algarismos decimais, para concentrações superiores a 1 f/cm³, e com um algarismo decimal para concentrações inferiores a 1 f/cm³.

24. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **24.1.** ASBESTOS INTERNATIONAL ASSOCIATION. Reference method for the determination of airbones asbestos fiber concentrations at workplace by light microscopy (membrane filter method). AIA, 1982. Health and Safety Publication. (Recommended Technical Method n. 1 RTM 1).
- **24.2.** ATTFIELD, M. D. & BECKETT, S. T. Void counting in assessing membrane filter samples of asbestos fiber. 1983. v. 27, n. 3, p. 273-82.

- **24.3.** BECKETT, S. T. The effects of sampling practice on the measured concentration of airbone asbestos. 1982. v. 23, p. 259-72.
- **24.4.** GRÃ-BRETANHA. Asbestos fibers in air. Health and Safety Executive. Occupational Medicine and Hygiene Laboratories. MDHS 39. 9 p.
- **24.5.** GSA. Determination of the number concentration of airbone inorganic fibers by phase contrast optical microscopy membrane filter method: meeting of ISSO/TC 146/SC 2WG. 3. ed. Philadelphia, 1986. 34 p.
- **24.6.** INTERNATIONAL STANDARD. Air quality Determination of the number concentration of airborne inorganic fibres by phase contrat optical microscopy Membrane filter method. ISO 8672, 1993.
- **24.7.** JOHNSTON, A. M., JONES, A. D. & VINCENT, J. H. The influence of external aerodynamic factors on the measurement of the airbone concentration of asbestos fibers by the membrane fibre method. 1982. v. 25, n. 3, p. 309-16.
- **24.8.** NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH. Fibers: Method 7400. Manual of analytical methods. 3. ed. Cincinnati, NIOSH, August, 1994. v. 2, p. 7400/1-7400/13.
- **24.9.** PECK, A. S., SEROCKI, J. J. & DICKER, L. C. Sample density and quantitative capabilities of PCM analysis for the measurement of airbone asbestos. American Industrial Hygiene Association Journal, Akron, April, 1986. v. 27, n. 4, p. A 230-A 234.
- **24.10.** ROOKER, S. J., VAUGHAN, N. P. & GUEN, J. M. L. On the visibility of fibers by phase contrast microscopy. *American Indus*trial Hygiene Association Journal, Akron, July, 1982. v. 43, n. 7, p. 505-15.
- 24.11. TAYLOR, D. G., BARON, P. & SHULMAN, S. A.

Identification and counting of asbestos fibers. American Industrial Hygiene Association Journal, Akron, February, 1984. v. 45, n. 2, p. 84-8.

- **24.12.** WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Harmonised proficiency scheme*. (Recommended method for determination of airbone fibre number concentrations by phase contrast optical microscopy
 - membrane filter method). WHO, 1984.
- **24.13.** WORLD HEALTH ORGANIZATION. Reference methods for measuring airbone man-made mineral fibres. Regional Office for Europe. Copenhagen, WHO, 1985.
- 25. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS PROCEDIMENTOS DE COLETA E ANÁLISE DE FIBRAS EM SUSPENSÃO NO AR

PREPARAÇÃO ANÁLISE DOS FILTROS COLETA PARA COLETA T Amostragem preliminar Preparação dos filtros Definir filtro branco amostrados para análise de lote por microscopia ótica de contraste de fase Ajuste do microscópio Amostragem definitiva Montar os filtros e com instalação do suportes sobre a parte conjunto amostrador no plástica (branca) do ponto predeterminado porta-filtro metálico (individual ou estática) ou na parte inferior do porta-filtro (carvão saturado) T Tendência do analista Codificar os Coleta conforme tempo (Test Slide) predeterminado porta-filtros T T Contagem das lâminas Anotações das Vedar e fechar os porta-filtros montados observações obtidas por microscopia ótica durante a coleta de contraste de fase T T Cálculo de fibras/mm2 Transporte das amostras dos valores obtidos nas de forma adequada contagens T Cálculo de fibras/cm3 para estimativa da concentração de fibras em suspensão no ar

ANEXO A

PROCEDIMENTO PARA MEDIÇÃO DA ÁREA ÚTIL DO FILTRO

A área útil do filtro pode variar de acordo com o sistema de coleta utilizado e, também, em razão do desgaste do filtro; por isso é necessário que se faça periodicamente esta medição.

- **A.1.** Fazer passar pelo sistema de coleta quantidades suficientes de poeira colorida, como, por exemplo, poeira de carvão, cimento ou argila.
- A.2. Retirar o filtro de membrana do sistema de coleta e medir pelo menos 4 diferentes diâmetros da área resultante da coleta de poeira colorida, com um instrumento de medida de alta precisão como a escala do microscópio.
- A.3. Proceder de acordo com os itens acima para pelo menos 3 filtros de membrana, individualmente, e, se não houver diferença maior que 1mm entre os diâmetros obtidos em cada filtro, calcular a média aritmética dos diâmetros e a área útil do filtro de membrana, sendo:

$$Auf = \frac{\pi \times D^2 \ (mm^2)}{4}$$

onde

Auf = área útil do filtro (mm²)

D = diâmetro do filtro (mm)

Notas:

 a) Se no item A.3. forem obtidos valores com diferenças maiores que 1mm, verificar problemas que possam estar afetando o sistema de coleta.
 b) Recomenda-se que o cálculo da área útil do filtro de membrana tenha a periodicidade de 1 ano ou, sempre que houver qualquer modificação no

sistema de coleta, a área útil do filtro de membrana deve ser medida.

ANEXO B

ESPECIFICAÇÃO E AFERIÇÃO DO GRATÍCULO OCULAR DE WALTON-BECKETT – G-22

B.1. Especificação do gratículo

O gratículo definido para este método é o gratículo de Walton-Beckett, referência G-22 (relação 3:1), ou similar.

Este gratículo deve ser especificado de acordo com o microscópio no qual será utilizado e deve ter um diâmetro de (100μm (±2) μm) no plano da amostra, quando esta é observada através de uma objetiva de fase de 40x e uma ocular de 10x ou de 12,5x. O diâmetro da área de contagem e o diâmetro do disco onde o gratículo está desenhado devem ser especificados da seguinte forma:

- B.1.1. Colocar qualquer gratículo disponível na ocular do microscópio e focalizá-lo de modo que suas linhas sejam vistas com nitidez. Usar a ocular com a qual se vai trabalhar.
- B.1.2. Ajustar o microscópio binocular à distância interpupilar apropriada ao analista.
- **B.1.3.** Posicionar a objetiva de 40x e assegurar que ela esteja alinhada com seu respectivo anel de fase do condensador.
- B.1.4. Colocar a lâmina micrométrica na platina do microscópio e focalizar suas linhas graduadas.
- B.1.5. Medir a maior dimensão (L) do gratículo, em micrômetros, usando a escala micrométrica.
- B.1.6. Remover o gratículo do microscópio e medir sua dimensão real (I), em milímetros. Isto pode ser feito através dos próprios nônios do microscópio ou de qualquer outro instrumento de alta precisão.
- B.1.7. Calcular o diâmetro do círculo do gratículo a ser especificado, d (mm), do gratículo de Walton-Beckett, mediante a relação:

$$d = \frac{I}{L} \times D (mm^2)$$

onde

d = diâmetro especificado do gratículo (mm²)

I = dimensão real (mm)

D = diâmetro desejado = 100 μm

L = a maior dimensão (μm)

- B.1.8. O diâmetro de disco no qual o gratículo estará desenhado deve ser adquirido de acordo com o diâmetro da ocular do microscópio a qual este será inserido.
- B.1.9. Exemplo de especificação:

O gratículo avaliado é o de Porton, com um comprimento (L) de 108 mm. Seu comprimento real (I) é de 4,5 mm. O diâmetro do círculo a ser especificado deve ser de:

$$d = \frac{4.5 \text{ mm}}{0.108 \text{ mm}} \times 0.1 \text{ mm} = 4.17 \text{ mm}$$

Neste caso, o diâmetro do disco de vidro é de 17 mm. Portanto, o gratículo deve ser especificado da seguinte forma: gratículo de 17 mm de Walton-Beckett, tipo G-22 (relação 3:1), com 4,17 mm de diâmetro de círculo.

B.2. Aferição do gratículo

Para aferir o diâmetro interno do círculo (D = $100~(\pm~2)~\mu m$), recomendam-se os procedimentos:

- B.2.1. Colocar o gratículo na ocular apropriada e assegurar que a distância interpupilar das oculares esteja ajustada ao analista.
- B.2.2. Colocar uma escala micrométrica, de preferência com divisões de 2 μm a 10 μm, na platina do microscópio.
- B.2.3. Localizar as divisões da escala micrométrica utilizando, inicialmente, objetiva de 10x. Uma vez localizadas, substituir a objetiva de 10x pela objetiva de 40x.
- B.2.4. Alinhar o gratículo ocular com as divisões da escala micrométrica, de forma que se possa contar o número total das divisões da escala compreendidas em um diâmetro do círculo.
- B.2.5. Se em uma extremidade restar menos de uma divisão da escala, estimar esta fração em (μm), somando-a ao número total de divisões medidas, e expressar o resultado em (μm). Por exemplo:
 - a) colocar a escala micrométrica com divisões de 10 μm na platina do microscópio;
 - b) a figura B1 mostra a imagem do gratículo de Walton-Beckett, superposto à escala micrométrica. Notar que dez divisões completas estão contidas no gratículo, ou seja, 10x 10 μm;

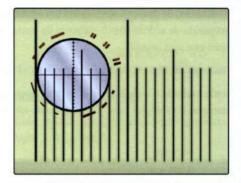


Figura B1. Escala micrométrica

c) o restante da décima primeira divisão é estimado como um terço de uma divisão completa, ou seja, 3 μm. Concluída a soma, obtêm-se 103 μm, que é o diâmetro do gratículo.

Nota: A variação da distância interpupilar da objetiva, aumentos intermediários, ou, inclusive, em alguns microscópios, a troca de oculares, implicam uma mudança da dimensão do gratículo. Neste caso, deve-se aferir novamente o gratículo ocular.

B.3. Cálculo da área do gratículo

Com o diâmetro do gratículo (d) determinado, calcular a área do gratículo no plano da amostra, ou seja:

$$Ag = \frac{\pi d^2}{4} (mm^2)$$

onde

Ag = área do gratículo (mm²)

d = diâmetro do gratículo (mm²)

Notas:

- a) Este valor deve ser utilizado no cálculo da concentração de fibras.
- A área do gratículo deverá estar dentro do intervalo de 0,00785 a 0,00032 mm².

ANEXO C

ESPECIFICAÇÃO E AJUSTE DO MICROSCÓPIO

C.1. Especificação do microscópio

O microscópio ótico a ser utilizado deve ser binocular, com contraste de fase positiva, contendo os seguintes componentes:

- C.1.1. A fonte de luz recomendada é a de iluminação de Koehler ou tipo Koehler. É preferível que a fonte de luz seja montada internamente, mas uma lâmpada externa e um espelho plano podem ser satisfatórios. Um controle variável da intensidade luminosa é necessário para ambos os métodos de iluminação. Recomenda-se, também, uma lâmpada de halogênio de 12 V/50 W.
- C.1.2. Condensador acromático, tipo Abbé, focalizável, com abertura de diafragma centralizada para campo claro, contraste de fase de abertura numérica (AN) igual a 0,9.

Nota: Condensadores com AN diferentes do recomendado acima não permitirão uma boa visualização ao microscópio.

- C.1.3. Platinas incorporadas ao microscópio, providas de sistema de fixação de lâmina e dispositivos de deslocamento coaxial de lâmina.
- C.1.4. Objetivas parfocais de 10x e 40x, acromáticas de contraste de fase. A objetiva de 40x deve ter uma abertura (AN) de 0,65 a 0,70. O anel de contraste de fase deve ter entre 65% e 85% de absorção. Recomenda-se o contraste de fase positivo, embora o negativo também possa ser utilizado.
- C.1.5. Oculares que permitam um aumento total no sistema ótico 400x a 600x, sendo que uma das oculares deve permitir a inserção e a focalização do gratículo.
- C.1.6. Gratículo de Walton-Beckett, no qual o diâmetro deve ser de 100µm (± 2) µm, quando se usa a magnificação requerida.

C.2. Acessórios

- C.2.1. Telescópio auxiliar ou "lentes de Bertrand", para verificar se os anéis de fase do condensador estão centrados com os da objetiva.
- C.2.2. Filtro verde, preferencialmente de interferência, para proporcionar as melhores condições de contraste de fase.
- C.2.3. Micrômetro de platina com divisões de 0,01 mm (1 centésimo de milímetro).
- C.2.4. Lâmina padrão para determinação de limite de detecção: HSE/NPL - Phase Contrast Test Slide - Mark II.

C.3. Exemplo de ajuste do microscópio de contraste de fase

Colocar na platina do microscópio uma lâmina com uma amostra e abrir totalmente os diafragmas de campo luminoso e o condensador. Nesta etapa, se os anéis de fase do condensador não estiverem alinhados no eixo ótico, adotar os procedimentos prescritos em C.3.1. a C.3.10.

- C.3.1. Elevar o condensador até a sua posição mais alta, que se localiza a, aproximadamente, 1 mm abaixo da lâmina.
- C.3.2. Focalizar o filtro de membrana na lâmina com a objetiva de 10x, utilizando uma intensidade de luz conveniente.
- C.3.3. Fechar totalmente o diafragma de campo luminoso e focalizálo no campo de visão através da movimentação do condensador. Centralizar a imagem do diafragma e abri-lo novamente, até que a imagem luminosa atinja as bordas do campo de visão.
- C.3.4. Observar o plano focal posterior da objetiva, com o auxílio de uma lente de Bertrand adaptada ao microscópio, ou pela substituição de uma das oculares por um telescópio auxiliar, que forneça a imagem da Figura C1.



Figura C1. Anel de fase

- C.3.5. Observar a imagem do filamento da lâmpada após retirar o filtro de densidade neutra, se ele existir. Focalizá-la e centralizá-la no plano focal posterior da objetiva, se isto for possível com o acessório adaptado. Colocar novamente o filtro de densidade neutra, caso tenha sido retirado. Se, porventura, não for possível focalizar a imagem do filamento da lâmpada, ajustá-la de maneira que a iluminação seja uniforme e brilhante. Alguns microscópios não requerem este procedimento para focalização e centralização do filamento da lâmpada.
- C.3.6. Alinhar o anel de fase do condensador correspondente à objetiva de 10x no eixo ótico do microscópio e centralizá-lo com o anel de fase da objetiva, utilizando os comandos apropriados para a centralização dos anéis de fase. Caso necessário, ajustar ligeiramente o foco do condensador. Assegurar que a imagem brilhante do anel de fase do condensador não ultrapasse o anel de fase da objetiva. As imagens dos anéis de fase que podem ser observadas estão nas Figuras C2 e C3.



Figura C2. Anel de fase centralizado



Figura C3. Anel de fase não centralizado

- C.3.7. Posicionar a objetiva de 40x sobre a amostra e o condensador sem nenhum anel de fase; fechar o diafragma de campo luminoso e focalizá-lo novamente, reajustando o condensador de modo conveniente. Voltar a centrar sua imagem se for necessário, e abrir novamente para preencher o campo de visão.
- **C.3.8.** Repetir as etapas C.3.4. e C.3.6. depois de colocado o anel de fase do condensador apropriado para a objetiva de 40x.
- C.3.9. Substituir o telescópio auxiliar pela ocular, ajustando a intensidade de luz de modo confortável aos olhos.
- C.3.10. O microscópio ótico com contraste de fase deve estar sempre em boas condições de manutenção e limpeza.

ANEXO D

ESPECIFICAÇÃO E UTILIZAÇÃO DA LÂMINA HSE/NPL

D.1. Descrição

- D.1.1. A lâmina HSE/NPL Phase Contrast Test Slide é um acessório que permite identificar o limite de detecção de contraste de fase do microscópio.
- D.1.2. A preparação da lâmina HSE/NPL Phase Contrast Test Slide é recomendada na sua versão Mark II, que consiste em uma réplica em resina epóxi da preparação padrão produzida e certificada pelo NPL – National Physical Laboratory, Teddington, Reino Unido.
- D.1.3. A preparação da lâmina consiste em sete blocos com 20 sulcos cada um, sobre uma resina com índice de refração de 1,580. Esta preparação está montada sobre uma lâmina padrão de microscópio (76 mm × 25 mm × 1,2 mm) e coberta por uma película de outra resina, com índice de refração de 1,485 e uma lamínula de 0,17 mm de espessura.
- D.1.4. Os sulcos têm a forma de "V", com uma relação altura/espessura de aproximadamente 0,1. O primeiro bloco possui sulcos com 1,08 μm de espessura, e o sétimo bloco possui sulcos com 0,25 μm de espessura.
- D.1.5. A zona de observação da preparação está delimitada por um retângulo formado por sulcos de referência mais profundos, sendo quatro divididos dois a dois, de forma transversal aos blocos de sulcos, e oito divididos quatro a quatro, de forma paralela a eles. A Figura D1 ilustra esta descrição.

D.2. Procedimento de uso da lâmina HSE/NPL

- D.2.1. Colocar a lâmina HSE/NPL na platina do microscópio, com o rótulo para cima. Os sulcos descritos encontram-se na área circular central descoberta, mas podem não estar centralizados.
- D.2.2. Ajustar o microscópio para contraste de fase de acordo com o Anexo C.

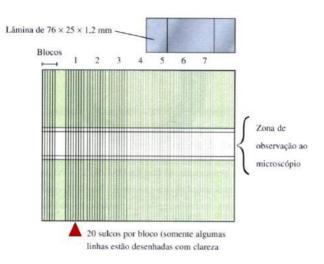


Figura D1. Vista aumentada da preparação no microscópio

- D.2.3. Localizar os sulcos verticais de referência em cada extremo da preparação. Localizar os sulcos horizontais de referência que, junto com os verticais, delimitam a zona de observação da lâmina HSE/NPL. Uma vez localizada a zona de observação da lâmina HSE/NPL, é recomendável anotar a posição indicativa dos nônios da platina do microscópio para facilitar sua localização em observações posteriores.
- D.2.4. No interior da zona de observação, posicionar o campo visual o mais próximo dos sulcos de referência do lado esquerdo, fazendo com que o bloco nº 1 situe-se no centro do campo visual.
- D.2.5. Focalizar a imagem do conjunto de sulcos verticais do bloco nº 1, de maneira que os sulcos possam ser perfeitamente visualizados na zona de observação.
- D.2.6. Movimentar a lâmina posicionando e focalizando os blocos adjacentes, até que estes não sejam mais visualizados. Um bloco é definido como visível quando todas as suas linhas podem ser visualizadas em todo o seu comprimento entre as linhas horizontais de referência da zona de observação. Para a contagem de fibras, recomenda-se um limite mínimo de detecção correspondente ao bloco nº 5.

ANEXO E

ESTRATÉGIA DE AMOSTRAGEM

E.1. Introdução

As avaliações ambientais podem ser qualitativas ou quantitativas.

A avaliação qualitativa é um processo que se inicia com o reconhecimento dos riscos nos locais de trabalho, ou seja, com o levantamento de dados e informações sobre o ambiente de trabalho; passa pela análise da relação entre esses dados, pelo ato de interpretar as informações obtidas, e conclui na tomada de decisões. Abaixo são apresentados alguns requisitos básicos para a execução do reconhecimento de riscos, de tal maneira que ele represente fundamentação para a tomada de decisões sobre, por exemplo, necessidade de realizar avaliações mais sofisticadas do tipo quantitativo, necessidade de introduzir correções ambientais de imediato ou não etc.

E.2. Requisitos básicos para iniciar um processo de reconhecimento dos riscos em locais de trabalho

E.2.1. Conhecimento dos ambientes e locais de trabalho:

- a) Verificar todos os processos manuais e automatizados, enfatizando as circunstâncias, as fases do processo ou os procedimentos que possam contribuir para a contaminação dos ambientes de trabalho.
- b) Estudar os fluxogramas dos processos.
- c) Analisar o layout das instalações da empresa, com as dimensões dos locais de trabalho e áreas sob influência potencial dos contaminantes atmosféricos.
- d) Conhecer as condições climáticas e suas possíveis variações: direção e intensidade de correntes de ar, temperatura, umidade etc.
- e) Conhecer as medidas preventivas adotadas, coletivas e/ou individuais
- f) Conhecer os programas de manutenção das máquinas e equipamentos e de higiene dos locais de trabalho.

 g) Conhecer a toxicologia das substâncias químicas presentes nos locais de trabalho.

E.2.2. Levantamento de informações sobre os trabalhadores:

- a) Consultar e discutir com os trabalhadores é fundamental para um correto reconhecimento do local de trabalho.
- b) Conhecer as condições de saúde dos trabalhadores e suas queixas.
- c) Descrever (estudar) as funções, os procedimentos e as atividades dos trabalhadores, enfatizando o tempo e a freqüência de cada operação ou procedimento, e identificar as situações de maior possibilidade de risco.
- d) Conhecer a jornada e o regime de trabalho.

E.3. Tomada de decisão

Com base em levantamentos realizados de acordo com as orientações acima, é possível concluir sobre a qualidade do ambiente de trabalho, podendo-se evitar o uso equivocado de recursos e a aplicação de medidas de controle ou execução de avaliações quantitativas que possam ser decididas sem informações suficientes.

Portanto, a avaliação qualitativa bem planejada e conduzida fornece bases seguras para as decisões sobre a realização da avaliação quantitativa.

Ao se concluir que uma determinada situação não pode ser investigada sem avaliação quantitativa, é necessário o bom planejamento desse tipo de trabalho.

Notas:

- a) A falta deste planejamento pode levar a desvios e incoerências nos resultados.
- b) Para fazer uma avaliação quantitativa que se aproxime da verdadeira concentração/intensidade dos agentes existentes nos locais de trabalho, é imprescindível fazer o reconhecimento do risco básico como primeira etapa do processo.

E.4. Planejamento da avaliação quantitativa

O planejamento tem como finalidade evidenciar o problema a ser abordado e atingir resultados eficientes e confiáveis, ou seja, resultados capazes de atender aos objetivos propostos.

E.4.1. Estabelecimento do objetivo da avaliação quantitativa:

Entre estes objetivos destacam-se:

- E.4.1.1. Fazer a avaliação preliminar do risco (mesmo para situações em que existe aparente controle).
- E.4.1.2. Monitorar a exposição individual do trabalhador.
- E.4.1.3. Avaliar a eficiência do funcionamento de dispositivos ou sistemas de controle de exposição.
- E.4.1.4. Localizar fontes contaminantes.
- E.4.1.5. Subsidiar projetos de implantação de medidas de controle de exposição.

Uma vez definido o objetivo da avaliação ambiental, passa-se para o estabelecimento da estratégia de amostragem.

E.4.2. Estabelecimento da estratégia de amostragem:

A estratégia de amostragem consiste em estabelecer onde amostrar, quantas amostras deverão ser tomadas, o tempo de amostragem para cada amostra e o tempo de amostragem total. (Vide item 14.3. desta Norma.)

A estratégia será estudada caso a caso. Seguem abaixo algumas observações importantes:

- E.4.2.1. O estabelecimento da estratégia de amostragem depende fundamentalmente do conhecimento da precisão e da exatidão dos métodos de coleta e análise.
- E.4.2.2. Podem ser usados dois tipos de amostragem:
 - E.4.2.2.1. Amostragem individual

Conjunto de amostragem colocado junto ao corpo do trabalhador, na zona respiratória, que o acompanha durante o período

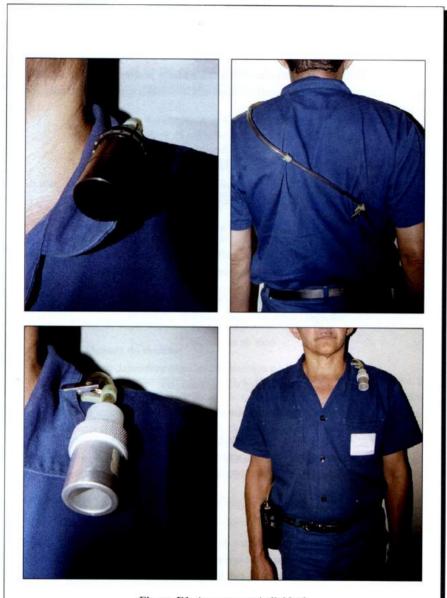


Figura E1. Amostragem individual

de coleta das amostras. Define-se como zona respiratória aquela que compreende uma distância de até 20 cm das narinas até o ouvido. Em algumas circunstâncias, pode haver diferença de concentração entre o lado direito e o lado esquerdo; neste caso, posiciona-se o amostrador do lado que se espera maior concentração.

E.4.2.2.2. Amostragem estática

Conjunto amostrador instalado em um local fixo, para medir a contaminação do ambiente nas áreas próximas às fontes geradoras de poeira.

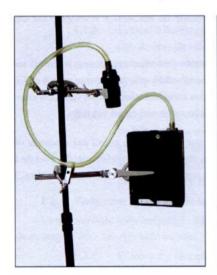




Figura E2. Amostragem estática

E.4.2.3. Tratando-se do estudo da exposição dos trabalhadores sob condições típicas de trabalho, deve-se saber que as concentrações no ambiente de trabalho, normalmente, variam durante a jornada, de um dia para o outro, e que dependem da maneira com que se trabalha. A exposição a determinado agente não deve ser caracterizada no estudo de somente um dia de amostragem, mas

sim no estudo de alguns dias durante a semana e baseada na exposição de um número representativo de trabalhadores e de amostras.

- E.4.2.4. Para que a avaliação ambiental obtenha resultados coerentes e próximos do real, recomenda-se trabalhar em três etapas:
 - Reconhecimento do ambiente de trabalho visando determinar os pontos a serem amostrados e o tipo de amostragem, se individual ou estática.
 - 2) Amostragem preliminar tomada de algumas amostras de curta duração, com o objetivo de determinar o tempo de coleta das amostras, a quantidade de amostras e o tempo total das amostragens.
 - 3) Amostragem definitiva ou seja, amostragem realizada segundo um critério preestabecido que, juntamente com a análise dos resultados obtidos e as informações observadas em campo, fornecerá a avaliação ambiental como um todo.

Nota: Recomenda-se que o período de coleta das amostras de curta duração, para fins da amostragem preliminar, deva ser de 1 hora. (Caso específico para coleta de amostras contendo fibras.)

ANEXO F

CONTROLE DA QUALIDADE DAS CONTAGENS

Existem dois procedimentos que podem ser usados para controle da qualidade das contagens:

F.1. Carta de controle/ amostras de referência

- F.1.1. Recomenda-se que o laboratório de microscopia tenha um conjunto de amostras de referência de diversas fontes de emissão de fibras (fibrocimento, materiais de fricção, materiais isolantes e indústriais têxteis) e de várias densidades de fibras sobre o filtro.
- F.1.2. Cada analista deve ser submetido à contagem dessas lâminas de referência, com códigos modificados a cada contagem, a fim de que os contadores não se familiarizem com elas.
- F.1.3. Estimar o desvio padrão intralaboratorial das contagens repetidas das lâminas de referência, lembrando que a precisão das contagens depende do número de fibras sobre o filtro. Deve-se ainda manter cartas de controle para cada um desses intervalos e para cada contador.
- F.1.4. Cada vez que um analista contar um lote de amostras, o branco de laboratório e mais uma amostra de referência podem ser incluídos no lote para contagem, sem conhecimento do analista, até que todas as contagens sejam efetuadas. Desta forma, verifica-se o resultado da lâmina de referência na carta de controle.

F.2. Teste para aprovação de lote de contagem

Usar o seguinte teste (referência bibliográfica 24.8.) para determinar se um lote de contagem deve ser rejeitado ou não:

- F.2.1. Promover a recontagem, pelo mesmo contador, sobre 10% dos filtros contados (recodificar as lâminas).
- F.2.2. Descartar a amostra se a diferença entre as duas contagens exceder 2,77 × X × Sr., ou seja:

$$(C1-C2) > 2.77 \times X \times Sr.$$

onde

C1 = contagem de maior valor X = média das duas contagens

C2 = contagem de menor valor Sr. = desvio padrão relativo (ou coeficiente

de variação) do contador

Nota: Se um par de contagens for rejeitado por este teste, recontar todas as amostras do lote e fazer o teste acima com todas as amostras. Descartar todos os pares rejeitados.

| rada: / / | ⁶⁵ Adição da triacetina e lamínula | | | .0: |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------|--|--|---------------------|
| Registro nº: Data de entrada: | ⊕ Vaporização da acetona | | | Saída do resultado: |
| | ® Retirada do filtro para preparação | | | gem: |
| | a Estado da amostra | | | Data da contagem: |
| ACOMPANHAMENTO DAS AMOSTRAS | Data da ⁽¹⁾ Estado do preparação porta-filtro e filtro | | | |
| NHAMENTO | Data da preparação | | | |
| ACOMPA | Código da amostra | | | Preparador: |

ANEXO I

MODELO DE FORMULÁRIO PARA CONTAGEM DE FIBRAS

| CONTAGEM DE I | FIBRAS | Regist | ro nº: | | |
|--------------------|------------|--------------|------------|-------------------------|--|
| | | Data: | | / | |
| Código do filtro | Microscópi | o/Aumento | Área do gr | Área do gratículo (mm²) | |
| Observações: | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Contagem 1 | Subtotal | Contagem | 2 | Subtotal | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Subtotal | | Subtotal | | | |
| Contagem 3 | Subtotal | Contagem | 4 | Subtotal | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Subtotal | | Subtotal | | | |
| Nº total de fibras | Nº tota | al de campos | Fibra/c | ampo | |
| Campos desprezados | Fibra/ | mm² | Técnic | 0 | |

| ANEXO J MODELO DE FORMULÁRIO PARA CÁLCULO DE RESULTADOS FINAIS DAS CONTAGENS | | Observações | | |
|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------|----------|--|
| | Registro nº: | Concentração (f/cm³) | | |
| | Regist Data: | Contagem (2) (f/mm²) | | |
| | MICROSCOPIA – INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS | Contagem (1) (f/mm²) | | |
| | | Filtro branco de preparação | | |
| | | Volume de ar (cm²) | | |
| | | Código do filtro | | |
| | | MICROS | Ponto nº | |

Sobre o livro

Composto em Times 11/14
em papel off-set 90 g/m² (miolo)
e cartão supremo 250 g/m² (capa)
no formato 16x23 cm
pela gráfica da Fundacentro
Tiragem: 5,000
1º Edição - 2001

Equipe de realização

Revisão de texto: Beatriz de Freitas Moreira Coordenação de Produção Lilian Queiroz



Rua Capote Valente, 710 São Paulo - SP 05409-002 Tel: 3066-6000