

59. Protocolos de limpeza e esterilização

59.1 Soluções de uso

1. EDTA (estoque):

Reagentes	Quantidades
EDTA	100g
Azida sódica	0,5g
Água destilada qsp	1 litro

*Armazenar em geladeira

2. EDTA para placas de cultivo celular:

Reagentes	Quantidades
EDTA estoque	200ml
Água destilada	2800ml

3. Hipoclorito

Reagentes	Quantidades
Hipoclorito de sódio	2 litros
Água	18 litros

* A concentração do hipoclorito comercial é 2%, e a final é 0,2%.

* Pode ser utilizada água normal da torneira.

4. **Sabão líquido comum e sabão líquido neutro:**

Reagentes	Quantidades
Detergente	40 mL
Água qsp	4 litros

59.2 Limpeza das lâminas (normais e multispot)

1. Recolher as lâminas do recipiente de descarte que fica na pia.
2. Com o parte amarela da esponja esfregar as lâminas para retirar os restos de tecido ou células.
3. Com a parte mais áspera da esponja remover as identificações feitas na parte superior da lâmina. Cuidar para não remover a parte vermelha/preta destas lâminas.
4. Após lavar deixa-las secar a temperatura ambiente.
5. Após secar devem ser manipuladas com cuidado para que não se deixem digitais nas mesmas.
6. Acondicionar em local livre de poeira.

59.10 Lavagem das pipetas

1. Recolher as cubas com pipetas usadas da sala dos fluxos.
2. Retirar os algodões e colocar na máquina de enxague durante 1h e 30 minutos.
3. Preencher as cubas com solução de hipoclorito e devolver a sala dos fluxos.
4. Depois de retirar as pipetas da máquina, colocá-las de molho por 15 minutos em água destilada.

5. Retirar as pipetas de molho e colocá-las em uma bandeja e levar a estufa até secarem.
6. Depois de secas preencher com algodão, queimando o excesso de algodão da ponta externas
7. Encher as cubas metálicas com as pipetas para esterilizar.

OBS.:

- A limpeza das pipetas deve seguir uma escala pré-determinada e afixada em local visível
- A limpeza das pipetas deve ser feita obrigatoriamente na primeira hora da manhã.
- Ao preencher as pipetas com algodão deve-se ter o cuidado de não colocar algodão demais, pois dificultará a retirada do mesmo pelo seu colega de cozinha.
- A limpeza e esterilização das pipetas é de fundamental importância, portanto deve-se evitar qualquer descuido para que se tenham sempre pipetas estéreis.

60. Protocolo de utilização das autoclaves

1. Antes de ligar a autoclave sempre verificar o nível da água, que deve estar acima da resistência.
2. Colocar o material dentro da autoclave,
3. Fechar a tampa e abrir a válvula do vapor,
4. Ligar a autoclave:
 - Ligar a chave para a autoclave “suja”, usada para esterilização de material contaminado com vírus, indicador MÁXIMO para a autoclave de esterilização do material limpo
5. Esperar começar a sair vapor e fechar o registro da válvula,
6. Aguardar a temperatura atingir 120°C e então mudar a regulagem do indicador para MÍNIMO (autoclave de esterilização).
7. Aguardar 15 minutos e desligar a autoclave,
8. Cuidado, somente abra a autoclave após a saída de todo o vapor e após baixar a pressão. Quando esfriar, colocar o material na estufa.

61. Protocolo de utilização do forno de esterilização

1. Acondicionar o material a ser esterilizado no interior do forno (embalado com papel alumínio e papel pardo);
2. Fechar as portas do forno;
3. Ligar o interruptor (primeiramente o da parede e após o do forno);
4. Aguardar a temperatura do forno atingir 180°C e marcar 2 horas,
5. Desligar o forno e abrir somente após a temperatura estiver abaixo de 80°C,

Material que poderá ser esterilizado no forno:

- ☐ Vidraria (garrafas de cultivo celular, tubos de ensaio, etc...)
- ☐ Pipetas (rotina e biologia molecular)
- ☐ Material cirúrgico ou metálico (tesouras, pinças, bisturi, caixas, agulhas).
- ☐ Tubos de vidro (rotina, hemólise e cultivo celular).
- ☐ Placas de Petri (vidro)
- ☐ Cadinhos de porcelana.

62. Limpeza e descarte do material utilizado na biologia molecular

1. O material utilizado na biologia molecular pode ser lavado da mesma maneira que o material de rotina.
2. Cuidado deve ser tomado com o material usado para manipular FENOL, TRIZOL, DNazol e BROMETO DE ETÍDIO, esse material (plástico ou vidraria) não deve ser lavado e esterilizado em hipótese alguma pois é extremamente tóxico.
3. O material (plástico ou vidraria) utilizado para manipular DNA ou RNA e contaminado com FENOL, TRIZOL, DNazol e BROMETO DE ETÍDIO deve ser descartado de acordo com as orientações. Isso evitará a contaminação de pessoas e do ambiente.
4. Papel, luvas e plástico utilizados para manipular, estocar, limpar as bancadas ou locais contaminados com FENOL, TRIZOL, DNazol e BROMETO DE ETÍDIO devem ser descartados no recipiente destinado para essa finalidade. Nunca despreze no lixo comum.

62.1 Esterilização dos materiais da biologia molecular

1. Os materiais provenientes da biologia molecular devem ser acondicionados para esterilização em autoclave ou forno de Pasteur como os demais materiais do laboratório, porém é necessário o uso de luvas para sua manipulação.
2. Após o processo de esterilização podem ser levados a estufa e posteriormente devolvidos a biologia molecular, sempre com o uso de luvas.

63. Limpeza das estufas de CO₂

1. Desligar a chave de energia da estufa que está localizada na parte de trás,
2. Fechar o registro de entrada de CO₂,
3. Remover placas e garrafas da estufa e colocá-las na estufa de células,
4. Remover todos os suportes e grades.
5. Limpar dentro e fora da estufa e os suportes e grades usando um pano com álcool 70°GL,
6. Montar novamente a estufa, cuidado com a parte do fundo (não apertar muito o parafuso, pode comprimir o ventilador),
7. Colocar a bandeja com água destilada e amônia quaternária (1mL de amônia/1litro de água destilada),
8. Ligar a estufa e abrir o registro de CO₂,
9. Transferir as placas e garrafas para a estufa,
10. Observar se os valores de CO₂ e T°C estão normais.

64. Limpeza dos banhos-maria

1. Desligar o banho-maria da tomada,
2. Retirar água do interior do banho-maria,
3. Retirar placa metálica do interior do banho-maria,
4. Lavar o banho-maria com esponja e detergente,
5. Enxaguar com água comum 3 vezes,
6. Limpar a parte externa com um pano úmido,
7. Passar gaze embebida em álcool na superfície interna e externa,
8. Repor volume de água destilada e quaternário de amônia (1mL quaternário de amônia/1litro de água destilada), cuidando para que o nível fique acima da resistência e da chapa metálica,
9. Realizar limpeza a cada 15 dias.

65. Limpeza dos fluxos laminares

1. Desligar o fluxo laminar.

2. Abrir e travar a vidro de proteção na frente do fluxo laminar.

Remover toda e qualquer sujidade que esteja dentro do fluxo laminar.

4. Remover a mesa de suporte dos fluxos laminares. Removendo esta tampa, teremos acesso à parte inferior do fluxo laminar. Neste local é comum o acúmulo de sujidades.

5. Lavar o fluxo com esponja e sabão neutro. Cuidar para não utilizar excesso de sabão e/ou água, evitando com isso que os filtros de saída do fluxo sejam molhados.

6. Enxaguar o fluxo com auxílio de um pano úmido. Cuidar para remover ao máximo a espuma do sabão neutro.

7. Com auxílio de um pano, passar hipoclorito a 0,2% em toda a superfície interna do fluxo laminar. Enxaguar com pano úmido e água.

8. Com auxílio de um pano, passar álcool 70°GL em toda a superfície interna do fluxo laminar.

9. Espere alguns minutos até o álcool evaporar.

10. Cubra as saídas inferiores dos filtros com uma camada de gaze. Prenda esta com pedaços de fita adesiva.

11. Coloque a mesa de suporte de volta no lugar.

12. Feche o vidro de proteção na frente do fluxo laminar.

13. Ligue por alguns minutos o fluxo laminar e a luz UV antes do primeiro uso. Isto completará a limpeza do fluxo e deixará este apto para a sua futura utilização.