

AVALIAÇÃO DAS PRÁTICAS DE BIOSSEGURANÇA ADOTADAS POR UM CENTRO UNIVERSITÁRIO NO PROCESSO DE MANIPULAÇÃO DE NITROGÊNIO LÍQUIDO E IMPLEMENTAÇÃO DE PROTOCOLOS PARA MINIMIZAÇÃO DE RISCOS

VALUATION OF THE BIOSAFETY PRACTICES ADOPTED BY A UNIVERSITY CENTER IN THE PROCESS OF HANDLING LIQUID NITROGEN AND IMPLEMENTING PROTOCOLS TO MINIMIZE RISK

Felipe Jonathan da Silva Bispo¹
David da Cunha Valença²
Everson dos Santos Ribeiro³
Bianca Ortiz da Silva⁴

RESUMO: Objetivo - Avaliar as práticas adotadas no uso de tanques criogênicos de nitrogênio líquido num Centro Universitário, com o intuito de identificar falhas de segurança e implementar protocolos e campanhas educativas para minimizar os riscos durante a manipulação desse insumo. **Metodologia** - Estudo descritivo transversal, em que foram avaliados (i) a utilização de Equipamentos de Proteção Individual, EPIs, e (ii) o procedimento de abastecimento e transporte de *dewars* de nitrogênio líquido (contêineres de elevado isolamento térmico, apropriados ao armazenamento de líquidos criogênicos). A amostra de conveniência do estudo foi constituída pelos usuários que retiraram nitrogênio líquido de um dos tanques criogênicos durante o período de avaliação. **Resultados** - A baixa adesão de alguns EPIs necessários ao processo de coleta, acondicionamento e transporte de nitrogênio líquido e a ausência de um protocolo padrão para retirada deste insumo dos tanques criogênicos foram os principais problemas identificados. Assim, foram criadas campanhas e distribuídos materiais educativos (folder e banner) contendo (i) informações sobre quais EPIs são necessários e (ii) um protocolo que deve ser seguido para retirar nitrogênio de forma segura. **Conclusão** - Os instrumentos educativos adotados estimularam o desenvolvimento de uma cultura de segurança durante a manipulação do nitrogênio líquido e possibilitaram o aumento da frequência no uso dos EPIs.

PALAVRAS-CHAVE: Nitrogênio líquido; Biossegurança; Equipamento de proteção individual; Materiais educativos.

ABSTRACT: Objective - Evaluate the practices adopted in the use of cryogenic tanks of liquid nitrogen in a University Center, in order to identify security failures and implement protocols and educational campaigns to minimize the risks during the manipulation of this input. **Methodology** - Descriptive cross-sectional study, in which were evaluated (i) the use of Personal Protective Equipment, PPE, and (ii) the procedure of supplying and transporting liquid nitrogen dewars (containers with high thermal insulation, suitable for the storage of cryogenic liquids). Users who removed liquid nitrogen from one of the cryogenic tanks during the evaluation period constituted the convenience sample of the study. **Results** - The low adhesion of some PPE necessary to the process of collecting, conditioning and transporting liquid nitrogen and the absence of a standard protocol to remove this input from the cryogenic tanks were the main problems identified. Thus, campaigns were created and educational materials distributed (folder and banner) containing (i) information about which PPE are needed and (ii) a protocol that must be followed to remove nitrogen safely. **Conclusion** - The educational instruments adopted stimulated

¹ Técnico em Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro/UFRJ.

² Universidade Federal do Rio de Janeiro.

³ Ensino Médio concluído no Colégio Pedro II. Estagiário de Iniciação Científica da UFRJ.

⁴ Professora da UFRJ. Possui graduação em Ciências Biológicas pela UFRJ, mestrado e doutorado em Ciências Biológicas (Biofísica) pela UFRJ.

the development of a safety culture during the manipulation of liquid nitrogen and enabled the increase of frequency in the use of PPE.

KEYWORDS: Liquid nitrogen; Biosafety; Personal protective equipment; Educational materials.

1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N_2) é um gás inodoro, incolor e inerte em condições normais de temperatura e pressão, que constitui cerca de 78% de ar atmosférico¹. Em virtude da sua baixa temperatura de ebulição à pressão atmosférica², -196°C , sua forma líquida é muito empregada como agente refrigerante³ em atividades como criopreservação de materiais biológicos⁴, congelamento e transporte de alimentos⁵, crioterapia para remoção de carcinomas⁶, refrigeração de supercondutores⁷, entre outros.

Na sua forma líquida, o nitrogênio constitui o criogênico mais empregado comercialmente devido à facilidade de obtenção (constitui cerca de 4/5 do ar atmosférico) e por possuir características desejáveis à maioria das aplicações (não inflamável, não poluente, não tóxico e inerte). Geralmente é armazenado e distribuído em tanques criogênicos a -196°C , temperatura que exige cuidados para minimizar riscos de queimadura do tecido vivo, danos isquêmicos por congelamento de vasos, asfixia e explosão^{8,9}.

O risco de asfixia existe em virtude da rápida vaporização do nitrogênio líquido no ambiente, o que produz uma nuvem de nitrogênio gasoso que desloca o ar ambiente e pode diminuir a concentração de oxigênio abaixo de níveis aceitáveis, provocando anoxia^{1,10}. Por ser inodoro, há dificuldade de percepção olfativa de vazamentos e, caso ocorram vazamentos em ambientes fechados, há o risco de perda súbita de consciência e sufocamento¹¹.

Considerando que 1 litro de nitrogênio líquido produz cerca de 700 litros de nitrogênio gasoso à pressão atmosférica¹², é importante avaliar pequenos vazamentos, pois podem diminuir consideravelmente os níveis de oxigênio de um ambiente. Embora o risco seja mínimo ao ar livre, a elevada capacidade de expansão também pode promover a explosão de recipientes fechados devido ao aumento da pressão. É o caso, por exemplo, de ampolas de criopreservação, que quando não são corretamente vedadas permitem a entrada de nitrogênio líquido e, no momento do descongelamento, podem explodir¹³.

Além dos riscos diretos citados, o nitrogênio líquido pode induzir a riscos secundários em face à quebra de materiais, como mangueiras e outros objetos rígidos. Em função da baixa temperatura, esses materiais podem ter a ductilidade reduzida e então quebrar ou partir com

facilidade, ao menor choque¹⁴. Em função disso, operações envolvendo tubulações e mangueiras de nitrogênio líquido, especialmente em tanques criogênicos, tornam-se extremamente perigosas devido à possibilidade de rompimento e vazamento.

Diversos acidentes envolvendo nitrogênio líquido já foram relatados e podem ser consultados na literatura^{2,10,12,15,16}. Os mais comuns envolvem queimaduras devido ao frio e isquemia, especialmente devido à ausência ou uso incorreto de Equipamentos de Proteção Individuais (EPIs) durante a manipulação do nitrogênio. Este foi o caso, por exemplo, do congelamento do dedo indicador de um operário que manipulava tubos de ensaio congelados em nitrogênio líquido sem o uso de luvas criogênicas. Duas horas após o incidente, o dedo estava frio, branco e com bolhas limitando a movimentação⁸.

Outro caso foi de um homem de 34 anos que pisou em nitrogênio líquido usando apenas meias, sem nenhum equipamento de proteção para os pés. Após ser socorrido, o tecido apresentou necrose e houve amputação do membro². A maioria dos acidentes fatais envolvendo nitrogênio líquido, no entanto, ocorre devido à asfixia por vazamentos em locais fechados. Foi o caso de dois homens que morreram após um *dewar* de nitrogênio líquido de 25 litros ter caído no chão em um ambiente fechado¹⁵ e o caso de um estudante que morreu enquanto enchia *dewars* também numa sala fechada³. *Dewars* são contêineres de elevado isolamento térmico, apropriados ao armazenamento de líquidos criogênicos, como nitrogênio líquido.

Entre 1992 e 2002 foram relatados 85 incidentes com asfixia por nitrogênio nos Estados Unidos, dos quais 80 pessoas morreram e cinco ficaram feridas. Estes casos ocorreram em instalações diversas, como fábricas, laboratórios e instalações médicas, todas em espaço confinado¹¹, o que indica desconhecimento sobre os riscos potenciais do nitrogênio líquido ou mesmo a ausência de protocolos de biossegurança para manipulá-lo.

Devido aos diversos riscos associados ao nitrogênio líquido, sua manipulação deve ser cautelosa e requer a adoção de procedimentos de biossegurança para minimizar acidentes. É neste contexto que se insere este trabalho, que aborda um estudo sobre as práticas adotadas no uso de tanques criogênicos de nitrogênio líquido em um Centro de uma universidade do Rio de Janeiro.

O Centro escolhido para o estudo configura-se como o maior centro acadêmico da universidade, composto por 27 unidades envolvidas em ensino, pesquisa, extensão, prestação de serviços e desenvolvimento tecnológico. Seu corpo social conta, em média, com expressivos 10.000 alunos de graduação e pós-graduação e cerca de 5.400 servidores (dados de 2020).

A universidade onde o estudo foi desenvolvido possui uma demanda anual por nitrogênio líquido da ordem de 525.200 m³, dos quais quase a metade é destinada exclusivamente ao centro objeto deste estudo, para atender 10 unidades acadêmicas e seus mais de 400 laboratórios. Este centro conta com dois tanques criogênicos, de 6.000 L e 3.000 L, localizados em área externa à edificação e os laboratórios podem coletar rotineiramente nitrogênio de um desses tanques e transportá-lo através de *dewars* para o uso laboratorial.

Até então, para ter acesso a um dos tanques criogênicos era necessário registrar em uma planilha o nome do laboratório e a quantidade de nitrogênio que seria retirada. Neste modelo de gestão o usuário é o único responsável pela adoção de medidas de biossegurança adequadas às etapas de coleta, acondicionamento, transporte e utilização do nitrogênio líquido. Portanto, cada laboratório assumia integralmente os riscos inerentes a este processo.

Dado o grande número de usuários, a diversidade da sua formação e a responsabilidade individual dos laboratórios pelo gerenciamento dos riscos, este trabalho teve como objetivo avaliar as práticas de coleta, acondicionamento e transporte de nitrogênio líquido adotados pelos laboratórios localizados no edifício principal deste Centro Universitário. Adicionalmente, com a identificação das falhas de segurança propôs-se a criação e implementação de protocolos e campanhas educativas para minimizar os riscos associados à manipulação deste insumo.

2 METODOLOGIA

O estudo foi dividido em três fases, conforme indicado na Tabela 1. As Fases I e III compreenderam um estudo descritivo transversal, em que foram avaliados (i) a utilização de EPIs e (ii) o procedimento de abastecimento e transporte dos *dewars* de nitrogênio líquido. A amostra de conveniência do estudo foi constituída pelo corpo social do Centro Universitário objeto do estudo (servidores, discentes e membros externos), que realizaram retiradas de nitrogênio em um dos dois tanques criogênicos do prédio durante o período de avaliação.

Tabela 1: Fases do estudo, períodos de realização e atividade desenvolvidas.

Fases	Período	Atividade
I	10/07/2019 a 10/09/2019	Avaliação das práticas de biossegurança adotadas pelos laboratórios do prédio durante a coleta, acondicionamento e transporte de nitrogênio líquido.
II	10/09/2019 a 28/09/2019	Criação de protocolos de biossegurança, de materiais educativos e instrução aos laboratórios.

III	28/09/2019 a 17/10/2019	Reavaliação das práticas de biossegurança adotadas pelos laboratórios.
-----	-------------------------	--

A criação de protocolos e campanhas educativas para minimizar os riscos associados à manipulação do nitrogênio líquido requer, primeiramente, a identificação dos responsáveis pela realização desta atividade e dos procedimentos que adotam. Assim, durante a Fase I a equipe envolvida no estudo permaneceu na área de acesso aos tanques, em horários aleatórios e sem prévio aviso aos laboratórios, para realizar observações.

Foi aplicada uma lista de checagem para avaliar o uso dos EPIs, seguido de aconselhamento verbal sobre os riscos envolvidos na coleta e manipulação de nitrogênio líquido, além de ser encaminhada uma notificação ao laboratório cujo membro fosse observado realizando a coleta de nitrogênio em desacordo com as exigências de biossegurança. Nesta notificação eram discriminadas as não-conformidades identificadas e solicitado que a equipe do laboratório fosse treinada para realizar as atividades adequadamente, conforme instrução indicada na própria notificação.

Os EPIs avaliados na lista de checagem foram: jaleco de algodão de manga longa, calça de tecido grosso e resistente, óculos de segurança com proteção lateral, protetor facial tipo *faceshield*, luva térmica para baixas temperaturas (criogênica) e sapato fechado, além da adoção de cabelo preso. Esses EPIs foram selecionados em função dos riscos identificados e estão de acordo com os indicados na FISPQ disponibilizada pelo fornecedor¹⁷.

Os resultados da Fase I forneceram subsídios para a criação de materiais educativos na Fase II, enquanto a última fase replicou os procedimentos adotados na primeira fase. No entanto, protetores faciais e luvas térmicas foram disponibilizados aos usuários cujos laboratórios não possuíam esses EPIs.

3 RESULTADOS

3.1 IDENTIFICAÇÃO DOS USUÁRIOS

O tempo total de duração da pesquisa foi de 3 meses e durante esse período foram observados 123 procedimentos de coleta de nitrogênio líquido nos tanques criogênicos do edifício principal do Centro objeto deste estudo. Na categoria funcional dos responsáveis por

este procedimento há destaque à participação do corpo técnico (45%) e discente (44%), enquanto a minoria compreende docentes e servidores externos à universidade.

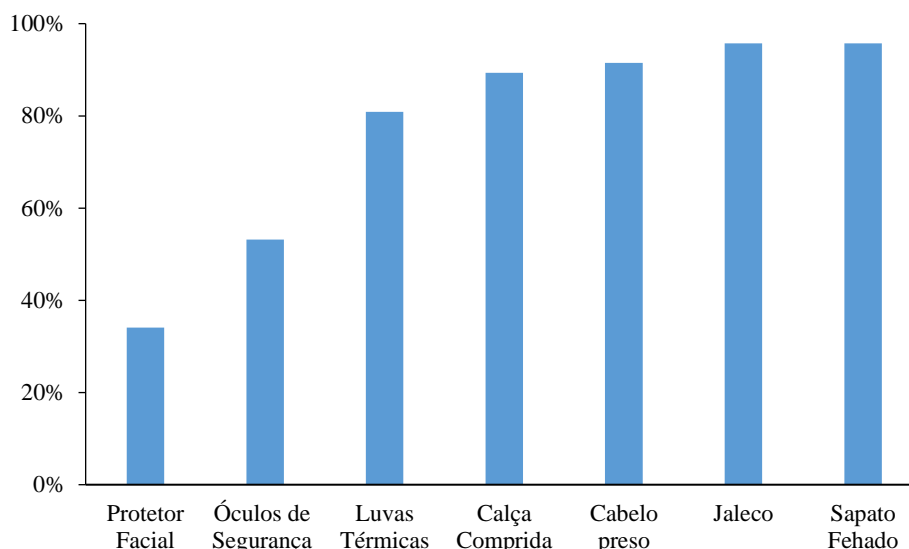
A expressiva participação de discentes indica a necessidade dos laboratórios implementarem rotinas de treinamentos para que novos usuários (alunos) conheçam e adotem os protocolos de biossegurança necessários à manipulação do nitrogênio líquido, especialmente devido à elevada renovação do corpo estudantil dos laboratórios. Esta renovação está associada, principalmente, à entrada de novos discentes de diferentes níveis de graduação para atividades de (i) iniciação científica, (ii) pesquisa de conclusão de curso e (iii) extensão acadêmica, bem como a entrada de novos discentes de pós-graduação.

Assim, ao concluírem suas atividades, os alunos mais experientes se desligam das atividades do laboratório, enquanto os novos ingressantes precisam ser treinados. Desta forma, é fundamental a implementação de rotinas de treinamento que capacitem os novos alunos dos laboratórios para que possam executar suas atividades dentro de níveis adequados de biossegurança. Este é um ponto particularmente sensível quando alunos dos primeiros níveis de graduação ingressam no laboratório, quando a qualificação e o conhecimento laboratorial geralmente são menores.

3.2 FASE I

Durante a primeira fase do estudo foram observados 47 procedimentos de coleta de nitrogênio líquido, cuja frequência de utilização de EPIs está descrita na Figura 1. Embora o uso de alguns EPIs tenha sido superior a 90%, vale ressaltar que nenhum dos usuários foi observado portando todos os EPIs necessários à manipulação de nitrogênio líquido. Destaque é dado à realização de todas as coletas utilizando *dewars* e carrinhos para o transporte, embora se observou baixa adesão no uso de protetor facial e óculos de segurança, com 34% e 53%, respectivamente.

Figura 1: Frequência de utilização dos EPIs na primeira fase do estudo, que ocorreu entre 10/07/2019 e 10/09/2019. Total de observações: 47.



No interior de edificações, o nitrogênio líquido deve ser transportado exclusivamente através de *dewars*, contêineres de elevado isolamento térmico, apropriados ao armazenamento de líquidos criogênicos¹⁷. Devido ao risco de tombamento, eles devem ser transportados através de carrinhos, preferencialmente com rodas pneumáticas para minimizar instabilidades durante o transporte e que poderiam provocar tombamento.

Todos os procedimentos observados empregavam este protocolo de transporte, o que está relacionado especialmente às dimensões e à realidade da edificação objeto deste estudo, que possui cerca de 110.000 m², três andares e disponibilidade de rampas, o que exige o uso de meios facilitadores do transporte dos *dewars* de nitrogênio líquido (carrinhos).

Durante o aconselhamento verbal e a partir das respostas às notificações enviadas, foi identificado que muitos laboratórios não sabiam quais EPIs eram necessários à atividade e que não existia um procedimento padrão para realizar a retirada segura de nitrogênio dos tanques.

Sobre esse último aspecto, muitos usuários indicaram não saber sobre a necessidade de avaliar a pressão do tanque antes da coleta ou sobre a importância de descongelar as válvulas antes de fechá-las, por exemplo. Essas informações forneceram subsídio para que fossem elaborados protocolos de biossegurança na Fase II.

3.3 FASE II

Devido à escassez de informações entre os laboratórios sobre quais EPIs deveriam ser usados durante a manipulação de nitrogênio líquido e à inexistência de um protocolo padrão

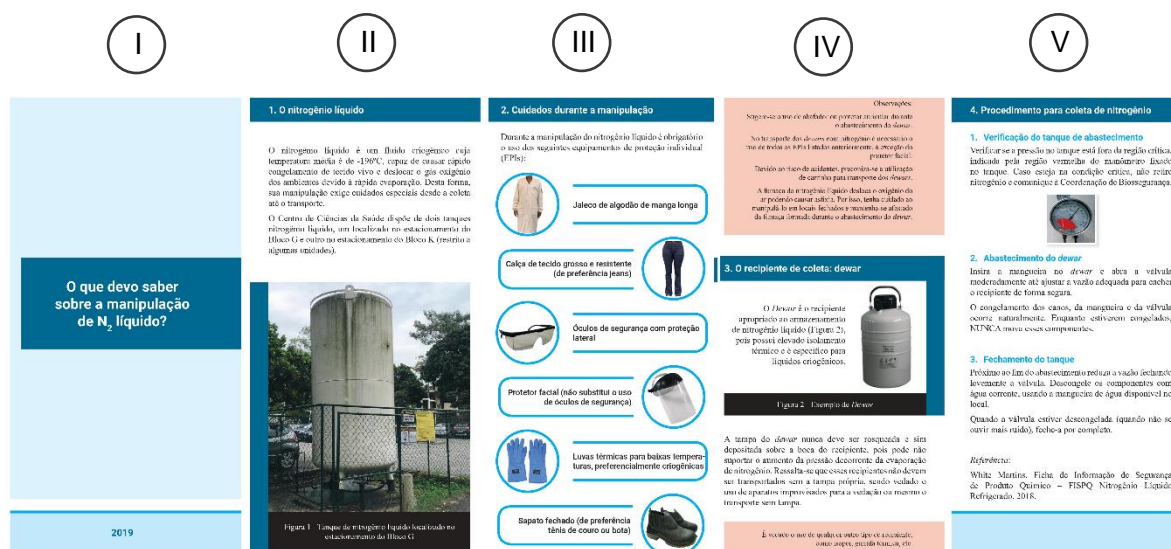
para a retirada segura deste insumo dos tanques criogênicos, foram criados materiais contendo informações e orientações sobre a coleta, acondicionamento e transporte do nitrogênio líquido.

O *folder* foi um dos elementos de divulgação escolhidos, por ser um material impresso de pequeno porte, que possibilita a divulgação massiva através da distribuição aos usuários dos tanques criogênicos e que privilegia a transmissão do conhecimento de forma objetiva e ilustrativa.

Considerando a diversidade do público-alvo, composto especialmente por alunos de diferentes níveis, como graduandos e pós-graduandos, priorizou-se a elaboração de um *folder* com textos simples e imagens para privilegiar a visualização direta das informações. O material elaborado, intitulado *O que devo saber sobre a manipulação de N₂ líquido?*, pode ser consultado em detalhes nas Informações de Suporte e está ilustrado na Figura 2.

Com poucas páginas e diagramado em apenas uma folha tipo A4, o material pôde ser distribuído facilmente entre os usuários dos tanques e também foi disponibilizado em formato digital aos laboratórios. Assim, o material poderia ser empregado em treinamentos futuros e rotineiros dos laboratórios, especialmente importantes na capacitação em biossegurança na manipulação de nitrogênio líquido de novos alunos e usuários dos tanques.

Figura 2: Ilustração do folder *O que devo saber sobre a manipulação de N₂ líquido?* e breve descrição sobre as cinco partes em que é dividido.



- I Capa do *folder*.
- II Apresentação sobre o nitrogênio líquido, seus riscos e localização dos tanques.
- III Cuidados durante a manipulação, com destaque aos EPIs necessários.
- IV Descrição do recipiente de coleta (*dewar*) e forma correta de uso.

Ⓟ Procedimento para retirada segura de nitrogênio dos tanques.

Recomendações exclusivas sobre a necessidade do uso de EPIs podem ser interpretadas como solução única para garantir a segurança na manipulação de nitrogênio líquido, o que estimularia atitudes de exposição exagerada ao risco. Assim, o *folder* além de indicar a necessidade do uso de EPIs, sistematiza um protocolo para a coleta e transporte de nitrogênio líquido, bem como de operação dos tanques criogênicos.

A parte V do *folder* ilustrado na Figura 2 estabelece esse protocolo, observando três aspectos críticos. O primeiro compreende a necessidade de verificar, antes de realizar o abastecimento do *dewar*, se a pressão do tanque está fora da faixa crítica, já que a operação dentro desta região pode causar o congelamento do tanque, informação desconhecida pela maioria dos usuários.

O segundo aspecto corresponde à possibilidade de quebra de canos, mangueias e válvulas, que congelam naturalmente durante o abastecimento. Enquanto estiverem congelados, esses componentes podem quebrar facilmente por tração ou movimentação brusca. Desta forma, eles devem ser descongelados com água corrente antes de serem manipulados.

Por último, as válvulas somente devem ser completamente fechadas quando estiverem descongeladas. Caso o usuário feche a válvula ainda congelada, o fluxo de nitrogênio será momentaneamente interrompido, mas em pouco tempo haverá vazamentos. Incidentes envolvendo vazamentos de nitrogênio devido ao mau fechamento de válvulas já foram identificados num dos tanques criogênicos. A Figura 3 indica um desses casos, em que houve vazamento intermitente por cerca de 30 min.

Figura 3: Vazamento de nitrogênio a partir da mangueira de um dos tanques criogênicos devido ao mau fechamento da válvula.



O *folder* elaborado também foi convertido em um *banner*, que foi mantido no local de acesso ao tanque criogênico de maior uso no edifício objeto deste estudo, para que os usuários pudessem rapidamente identificar quais EPIs eram necessários e qual procedimento deveria ser seguido para a retirada do nitrogênio. Este *banner* pode ser consultado nas Informações de Suporte.

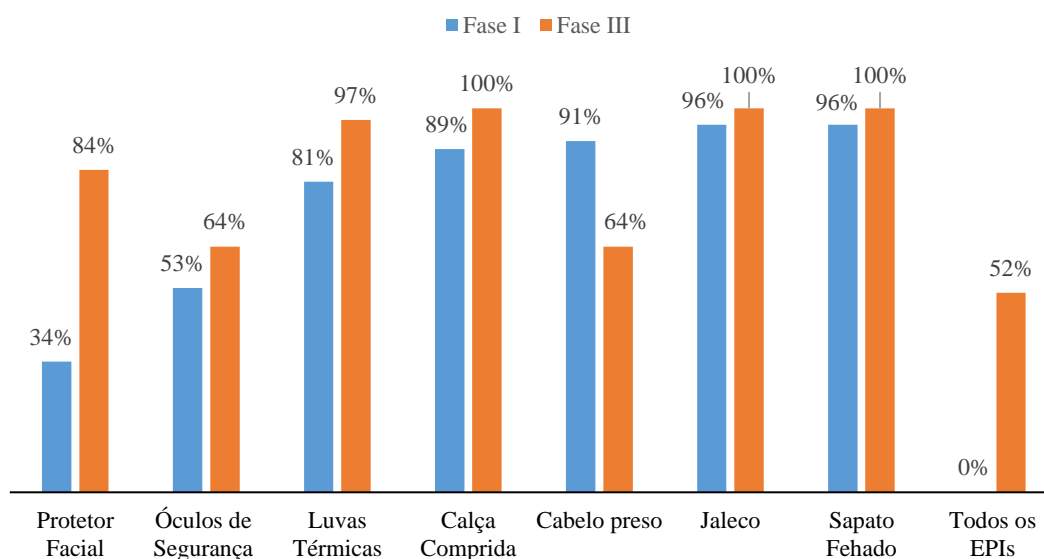
Para melhorar a difusão dessas informações, o *folder* foi enviado eletronicamente a todos os laboratórios do edifício e 100 unidades foram impressas e distribuídos durante a Fase III como parte da campanha de instrução aos usuários dos tanques criogênicos.

3.4 FASE III

Durante a terceira fase do estudo foram observados 76 procedimentos de coleta de nitrogênio líquido, cuja frequência de utilização dos EPIs é comparada com a da Fase I na Figura 4. Nesta nova fase, após as medidas de instrução verbal, notificação e divulgação de materiais informativos, os itens jaleco, calça comprida e sapato fechado foram adotados por todos os usuários durante as observações realizadas.

Adicionalmente, houve um aumento expressivo na adoção de protetor facial, além do aumento na frequência de uso de óculos de segurança e luvas criogênicas. Em contrapartida, foi observada uma queda na frequência do uso de cabelos presos.

Figura 4: Frequência de utilização dos EPIs na terceira fase do estudo, que ocorreu entre 28/09/2019 a 17/10/2019. Total de observações: 76.



Apesar da maior adesão no uso de (i) protetor facial, (ii) óculos de segurança e (iii) luvas térmicas, ainda assim a frequência não foi máxima. Em resposta às notificações enviadas nesta fase, muitos laboratórios relataram não possuírem esses EPIs para uso. Desta forma, a equipe deste estudo passou a disponibilizar esses equipamentos de proteção aos usuários que fossem retirar nitrogênio dos tanques, até que os laboratórios adquirissem seus próprios EPIs (procedimentos de higienização eram realizados entre os usos).

A correlação negativa entre o aumento expressivo do uso de protetor facial e a queda significativa no uso de cabelos longos presos pode ter ocorrido devido à falsa sensação de segurança que o protetor facial promove ao cobrir todo o rosto. Esta falsa impressão de segurança é uma ocorrência comum durante o uso de EPIs e geralmente ocorre por autoconfiança na execução de um procedimento rotineiro ou devido à falta de conhecimento sobre a funcionalidade do equipamento usado¹⁸⁻²⁰.

Especialmente, a falta de conhecimento sobre a finalidade de cada EPI pode induzir à maior exposição ao risco ao negligenciar outras medidas de segurança, o que sugere a necessidade de maior ênfase no treinamento sobre o uso e finalidade de cada EPI.

No caso de operação de tanques criogênicos, cabelos longos soltos podem cobrir a visão, enroscar em canos, mangueiras e válvulas. Assim, o uso de cabelos presos é essencial durante a retirada e manipulação de nitrogênio líquido e este é um grau de proteção que não é oferecido pelo uso de protetor facial. Desta forma, durante as observações na Fase III, os usuários eram instruídos a manter os cabelos presos mesmo com o protetor facial e reiterada a necessidade de seguir os protocolos de segurança descritos no *folder* e *banner*.

Finalmente, 52% dos usuários que frequentaram um dos tanques durante a Fase III do estudo portaram todos os EPIs necessários à coleta de nitrogênio líquido, ao contrário do que ocorreu na Fase I, quando esta frequência foi de 0% (Figura 4). Desta forma, os instrumentos educativos adotados foram essenciais para aumentar a adesão às práticas de biossegurança necessárias à coleta de nitrogênio líquido.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A baixa adesão de alguns EPIs necessários ao processo de coleta, acondicionamento e transporte de nitrogênio líquido e a ausência de um protocolo padrão para retirada deste insumo dos tanques criogênicos foram os principais problemas identificados neste estudo.

Para mitigar esse problema, os instrumentos educativos adotados (*folder*, *banner*, notificação, instrução pessoal) foram essenciais para estimular o desenvolvimento de uma cultura de segurança durante a manipulação do nitrogênio líquido. Através deles foi possível aumentar a frequência no uso dos EPIs e estabelecer um procedimento padrão para operar os tanques criogênicos do edifício localizado no Centro objeto deste estudo, minimizando os riscos durante o processo.

Em especial, considerando a diversidade do público-alvo das campanhas educativas, composto especialmente por alunos de diferentes níveis, a elaboração de um *folder* com textos simples e imagens para privilegiar a visualização direta das informações foi crucial para facilitar a difusão das informações dentro dos laboratórios e pode ser uma estratégia adotada por outras instituições. Ainda, a necessidade de treinamentos rotineiros pode ser suprida pelo uso deste material no dia-a-dia do laboratório, especialmente devido à elevada renovação do corpo estudantil dos laboratórios.

REFERÊNCIAS

- [1] A. F. Lo Faro, F. Pirani, A. Paratore, A. Tagliabracci and F. P. Busardò, "Fatal inhalation of nitrogen inside a closed environment: Toxicological issues about the cause of death," *Forensic Science International*, vol. 302, no. 109871, pp. 1-4, 2019.
- [2] T. Muckley, G. O. Hofmann, P. Norbert and N. Pallua, "Severe Liquid Nitrogen Freeze Injury: A Case Report," *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care*, vol. 62, no. 6, pp. 7-10, 2007.

- [3] G. Kernbach-Wighton, H. Kijewski, P. Schwanke, P. Saur and R. Sprung, "Clinical and morphological aspects of death due to liquid nitrogen," *International Journal of Legal Medicine*, vol. 111, p. 191–195, 1998.
- [4] Panis, Bart, Manuela Nagel, and Ines Van den houwe, "Challenges and Prospects for the Conservation of Crop Genetic Resources in Field Genebanks, in In Vitro Collections and/or in Liquid Nitrogen", *Plants*, vol. 9, no. 12, 2020.
- [5] Y. Tian, D. Li, W. Luo, Z. Zhu, W. Li, Z. Qian, G. Li and Da-Wen Sun, "Rapid freezing using atomized liquid nitrogen spray followed by frozen storage below glass transition temperature for *Cordyceps sinensis* preservation: Quality attributes and storage stability," *LWT – Food Science and Technology*, vol. 123, 2020.
- [6] S. Harris, M. Fasullo, G. Smallfield and T. Shah, "Liquid nitrogen spray cryotherapy for intramucosal carcinoma and extensive gastric intestinal metaplasia with dysplasia," *VideoGIE*, vol. 6, no. 5, pp. 239-242, 2021.
- [7] G. D. P. Mahidhar, R. Sarathi and B. Srinivasan, "Fluorescence Fiber Based Identification of Partial Discharges in Liquid Nitrogen for High-Temperature Superconducting Power Apparatus," in *IEEE Sensors Letters*, vol. 4, no. 2, pp. 1-4, 2020.
- [8] P. Roblin, R. Cole and A. Richards, "Liquid nitrogen injury: a case report," *Burns*, vol. 23, no. 7/8, pp. 638-640, 1997.
- [9] School of Chemistry of The University of Edinburgh, "Standard Operating Procedure – Liquid Nitrogen – Storage, Use & Transportation Guidance & Code of Practice," 2014.
- [10] D. Hoon Kim and H. J. Lee, "Evaporated Liquid Nitrogen-Induced Asphyxia: A Case Report," *Journal of Korean Medical Science*, vol. 23, no. 1, pp. 163-165, 2008.
- [11] U.S. Chemical Safety and Hazard Investigation Board, "Hazards of Nitrogen Asphyxiation," 2003.
- [12] A. R. Knudsen, C. Nielsen and P. Christensen, "Gastric rupture after ingestion of liquid nitrogen," *Ugeskrift for Laeger*, vol. 171, no. 7, p. 534, 2009.
- [13] M. O. G. Ishak, R. Ishak and A. C. Linhares, "Biossegurança no laboratório," *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, vol. 31, no. 2, pp. 126-131, 1989.
- [14] H. Keseler, I. Westermann, S. Y. Kandukuri, J. O. Nøk and B. Holmedal, "Permanent effect of a cryogenic spill on fracture properties of structural steels," in *Advances in Cryogenic Engineering - Materials: Proceedings of the International Cryogenic Materials Conference (ICMC)*, 2015.

- [15] N. Tabata, M. Funayama, T. Ikeda, J.-i. Azumi and M. Morita, "On an accident by liquid nitrogen - histological changes of skin in cold," *Forensic Science International*, vol. 76, pp. 61-65, 1995.
- [16] C. Sever, Y. Kulahci, A. Acar and E. Karabacak, "Unusual hand frostbite caused by refrigerant liquids and gases," *Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery*, vol. 16, no. 5, pp. 433-438, 2010.
- [17] White Martins, *Nitrogênio, Líquido Refrigerado*, 2 ed., 2018, pp. 1-7.
- [18] J. F. C. Cordeiro, A. P. Alves, E. Gir, O. D. Miranda and S. R. M. d. S. Canini, "Uso de equipamento de proteção individual em serviço de atenção domiciliar," *Cogitare Enfermagem*, vol. 21, no. 3, pp. 1-8, 2016.
- [19] J. Ribas, "Avaliação do uso de repelentes contra picada de mosquitos em militares na Bacia Amazônica.," *Anais Brasileiros de Dermatologia*, vol. 85, no. 1, pp. 33-38, 2010.
- [20] S. M. F. Alves, P. M. Fernandes and J. O. B. Marin, "Condições de trabalho associadas ao uso de agrotóxicos na cultura de tomate de mesa em Goiás," *Ciência e Agrotecnologia*, vol. 32, no. 6, pp. 1737-1742, 2008.