

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Janete Teixeira Duarte

**MODELO DE TECNOVIGILÂNCIA SISTEMATIZADO E ATIVO PARA  
PRESERVATIVOS MASCULINOS DE LÁTEX NATURAL**

Rio de Janeiro

2016

Janete Teixeira Duarte

**MODELO DE TECNOVIGILÂNCIA SISTEMATIZADO E ATIVO PARA  
PRESERVATIVOS MASCULINOS DE LÁTEX NATURAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito para obtenção do título de Doutor em Vigilância Sanitária.

Orientadores: Shirley de Mello Pereira Abrantes  
Antonio Eugenio Castro Cardoso  
de Almeida

Rio de Janeiro

2016

Catálogo na fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Duarte, Janete Teixeira

Modelo de tecnovigilância sistematizado e ativo para preservativos masculinos de látex natural. / Janete Teixeira Duarte. – Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2016.

277 f.: il, tab.

Tese (Doutorado Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, 2016.

Orientadores: Shirley de Mello Pereira Abrantes; Antonio Eugenio Castro Cardoso de Almeida

1. Preservativos. 2. Controle de Qualidade. 3. Vigilância de Produtos Comercializados. I. Título

Model of systematic and active technical surveillance for male condoms of natural latex

Janete Teixeira Duarte

**MODELO DE TECNOVIGILÂNCIA SISTEMATIZADO E ATIVO PARA  
PRESERVATIVOS MASCULINOS DE LÁTEX NATURAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito para obtenção do título de Doutor em Vigilância Sanitária

Aprovado em: 01 / 07 / 2016

**BANCA EXAMINADORA**

---

Helena Pereira da Silva Zamith (Doutora)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Hilda Duval Barros (Doutora)  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

---

Eliana Rodrigues Machado (Doutora)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Shirley de Mello Pereira Abrantes (Doutora)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Antonio Eugenio Castro Cardoso de Almeida (Doutor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dedico este trabalho a minha Mãe,  
pois, obrigada é muito pouco para  
mostrar que, tudo aquilo que sou,  
ou pretendo ser, devo tudo a você.

## AGRADECIMENTOS

- A Deus, Inteligência Suprema, por iluminar meus caminhos e sempre me amparar com fluidos de paciência, fé e amor;
- A toda família, pela existência, pelo exemplo de força e perseverança e pela felicidade de tê-los tão pertinho.
- A Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) pela oportunidade de como servidora pública dispor do meu tempo na elaboração desta Tese.
- A Prof.<sup>a</sup>. Dra. Shirley de Mello Pereira Abrantes, pela honra de tê-la como orientadora, pelo seu precioso tempo, sua sabedoria, sua dedicação, permanente encorajamento, pelas propostas de discussões, pelo estímulo que me levou a mergulhar nesse desafio ajudando-me sempre até o fim.
- Ao Prof. Dr. Antonio Eugenio Castro Cardoso de Almeida, pela honra de tê-lo como orientador, discutindo e emanando ideias aos resultados desta Tese e pelos seus constantes incentivos para que eu chegasse ao final desse trabalho.
- A Msc. Joana Angélica Barbosa Ferreira por ter me dado à honra de participar na elaboração desta Tese com os ensaios microbiológicos, trocando ideias e muitas horas de trabalho junto comigo.
- A Msc. Mirian Noemi Vidal por ter me dado à honra de participar na elaboração desta Tese com os ensaios de citotoxicidade, trocando ideias e muitas horas de trabalho junto comigo.
- A Prof.<sup>a</sup>. Dra. Helena Pereira da Silva Zamith pelas discussões, troca de ideias e contribuições de relevância na construção desta Tese.
- Ao Prof. Dr. Marco Antonio Mota da Silva sempre à disposição, contribuindo com ideias, sugestões e incentivos na construção desta Tese.

- A Prof.<sup>a</sup>. Dra. Isabella Fernandes Delgado pelo apoio ao trabalho e incentivo.
- Vera Machado, Coordenadora de Qualidade do INCQS pelo apoio e por todo trabalho de Gestão da Qualidade no Laboratório, tornando possível a realização dos ensaios analíticos.
- A Prof.<sup>a</sup>.Dra.Marília Santini pelas contribuições na construção dessa Tese.
- A Prof.<sup>a</sup>.Dra. Luciana Lopes pelas contribuições e apoio.
- Ao Prof. Dr. Filipe Soares Quirino pelo apoio ao trabalho e incentivo à construção dessa Tese.
- Ao Prof. Ernesto Raúl Caffarena – Programa de Computação Científica (PROCC) /Fiocruz.
- Prof. Daniel A.M. Villela - Programa de Computação Científica (PROCC) /Fiocruz
- Grupo de Biofísica Computacional e Modelagem Molecular - Programa de Computação Científica (PROCC) /Fiocruz pelas discussões e ideias que geraram um modelo de desenho de estudo para elaboração desta Tese.
- Ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS).
- Ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do INCQS.
- A equipe da Biblioteca do INCQS
- Ao Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde (*Icict*/Fiocruz) pelo apoio e propostas de discussões no campo do Estudo de Análise Espacial e de Geoprocessamento.

- A Biblioteca de Manguinhos
- A Renata Gracie do Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde (ICICT/Fiocruz) por ter me dado à honra de discutir, com uma das maiores especialistas em Geoprocessamento, os resultados desta Tese, por todo trabalho realizado no Estudo de Análise Espacial e Geoprocessamento e pelo incentivo para que chegasse ao final.
- Ao aluno de Iniciação Científica do ICICT/Fiocruz, estudante de Engenharia Cartográfica, Francis Gonçalves que destinou parte do seu tempo contribuindo com todo seu conhecimento no Estudo de Análise Espacial e Geoprocessamento desta Tese.
- Ao Alexandre Medeiros Correia de Sousa sem a sua competência na biblioteca do INCQS seria mais difícil chegar ao final desta Tese.
- A todos os amigos do INCQS que de alguma forma contribuíram na elaboração desse projeto.
- A amiga de sempre, que deixou saudades, Claudete dos Santos Ribeiro (In memoriam), *partindo antes desse muito obrigado.*
- A Kátia Miriam Peixoto, Mariete Lemos, Terezinha Tomassini, Gisele Helena R. das Neves, Solange Brandão, Maria Virginia Cavalheiro, Ivano R.V. de Filippis, Maysa Mandetta, Renata Calil, Adriana Santana, Cleuza Sodré, Maria Heloisa Paulino de Moraes, Eliana Rodrigues Machado, Fabio Silvestre Bazilio, André Sartori, Vinicius Dias, Clélia Xavier Alberto, Samela Ribeiro Barbosa, Alexandre Muniz, Anna da Silva Simões, Sinea Mendes, Artur Mello e todos que de alguma forma plantaram uma semente nesta Tese.



*"A verdadeira viagem do descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ver com novos olhos".*

*Marcel Proust*

## RESUMO

A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº 62/2008, baseada na norma *International Organization for Standardization* (ISO) 4074 e harmonizada no Mercado Comum da América do Sul (MERCOSUL), institui o Regulamento Técnico para certificação dos preservativos masculinos de látex de borracha natural. O processo de certificação não aborda as questões de vigilância pós-comercialização, que são consideradas questões primordiais de Vigilância Sanitária. Assim, a própria legislação inviabiliza o processo de fiscalização sanitária sob essa ótica. Um desenho experimental foi desenvolvido para possibilitar as ações de Vigilância Sanitária dos preservativos masculinos no comércio. Foram avaliados dois lotes de preservativos adquiridos diretamente de um fabricante, sem terem sido disponibilizados ao comércio, nomeados de Preservativos Masculinos Direto do Produtor (PMDP1 e PMDP2), com 820 unidades cada lote. Foram adquiridas no comércio pelo Brasil, 660 unidades de preservativos de mesma marca de PMDP1 e PMDP2, porém com diferentes lotes de fabricação, formando o Lote laboratorial nomeado de Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio<sup>1</sup> (PMPC1). Utilizando o banco de dados da Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) e com ajuda da revista, que dá o *ranking* do comércio dos preservativos no Brasil, outros dois Lotes laboratoriais de Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio, de diferentes marcas e fabricantes de PMPC1, com 600 unidades cada, formando PMPC2 e PMPC3, foram adquiridos em diversos estabelecimentos comerciais pelo País. Foram realizados os testes físicos estabelecidos pela RDC 62/2008 em todos os lotes PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2 e PMPC3, além das avaliações microbiológicas e de citotoxicidades. O Estudo de Análise Espacial de Geoprocessamento foi usado como ferramenta de rastreabilidade dos Lotes laboratoriais pulverizados no comércio. Os resultados encontrados demonstram que os lotes PMDP1 e PMDP2 estavam em conformidades, entretanto, todos os Lotes laboratoriais PMPC1, PMPC2, PMPC3 foram encontrados defeitos em um ou mais ensaios analíticos. Este modelo de tecnovigilância sistematizado e ativo garante ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) uma ferramenta capaz de suprir as dificuldades de monitoramento desse produto no comércio.

**Palavras-chave:** Preservativos masculino. Tecnovigilância. Vigilância Sanitária.

## ABSTRACT

The Collegiate Board Resolution (RDC) of the National Health Surveillance Agency (ANVISA) No 62/2008 based on norm International Organization for Standardization (ISO) 4074 and harmonized in the Common South American Market (MERCOSUR), establishing the Technical Regulation for certification of male condoms of natural rubber latex. The certification process does not address the post-marketing surveillance issues, which are considered key issues for Sanitary Vigilance. Thus, the legislation itself prevents the sanitary inspection process in this approach. An experimental design was developed to enable the Health Surveillance actions of male condoms in the market. We evaluated two batches of condoms purchased directly from a manufacturer, not having been made available in the market, named Male Condoms Direct Producer (PMDP1 and PMDP2), with 820 units each lot. It were acquired 660 condoms units of the same brand of the PMDP1 and PMDP2 but different lots, making the Laboratory Batch named Male Condoms Sprayed in the market1 (PMPC1). Using the Agency's database of Sanitary Surveillance (ANVISA) and magazine aid, giving condoms trade ranking in Brazil, two laboratory lots of Male Condoms Sprayed on Trade, of different brands of the PMPC1 manufacturers with 600 units each, forming PMPC2 and PMPC3, were purchased in many shops throughout the country. Physical tests established by RDC 62/2008 were conducted in all lots PMDP1 PMDP2, PMPC1, PMPC2 and PMPC3, besides the microbiological and cytotoxicity assessments. The Spatial Analysis Study of geoprocessing was used as a traceability tool of sprayed laboratory Lots trade. The results show that lots PMDP1 and PMDP2 were in compliance, however, all laboratory Lots PMPC1, PMPC2, PMPC3 presented defects in one or more analytical tests. This systematic and active technical surveillance model guarantees the National Sanitary Surveillance System (SNVS) a tool to overcome the difficulties of monitoring that product commercially.

Keywords: Male condoms. Technical surveillance. Sanitary Surveillance.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Estrutura química da parte isoprênica da borracha natural.	24
Figura 2	Seringal de cultivo/retirada do látex	25
Figura 3	Modelo de uma partícula de borracha em látex envolvida por uma camada de fosfolípido e outra mais externa de proteína.	26
Figura 4	Estrutura química do Irganox 1010	36
Figura 5	Algumas etapas o processo de fabricação dos preservativos	37
Figura 6	Teste elétrico feito na fábrica para detecção de orifícios	38
Figura 7	Colocação do pó de silicato de magnésio antes do acondicionamento do produto	39
Figura 8	Colocação de lubrificante antes da vedação da embalagem primária	40
Figura 9	Arquitetura do Sistema de Informação Geográfica (SIG)	67
Figura 10 e 10-A	Programa utilizado para gerar aleatoriedades na escolha	73-74
Figura 11	Participação das empresas na preferência dos varejistas	75
Figura 12	Mandril usado para medir o comprimento dos preservativos	78
Figura 13	Régua utilizada para medir a largura dos preservativos	79
Figura 14	Determinação da espessura dos preservativos	80
Figura 15	Equipamento usado no teste de determinação de orifícios dos preservativos masculino	82
Figura 16	Equipamento usado para realizar o teste de determinação de integridade de embalagem primária dos preservativos masculino	84
Figura 17	Equipamento para o teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro dos preservativos masculino	85
Figura 18	Embalagem primária não conforme segundo os critérios estabelecidos na RDC 62/2008	86
Figura 19	Avaliação microbiológica dos preservativos masculinos	87
Figura 20	Sequência do ensaio de citotoxicidade pelo método de difusão por agar	90

Figura 21	Amostras não conforme no teste de verificação de orifício orifícios em todos os lotes do estudo	115
Figura 22	Não conformidade encontrada no teste de verificação da integridade da embalagem primária	117
Figura 23	Histograma do Lote Laboratorial PMDP1, teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro	119
Figura 24	Histograma do Lote Laboratorial PMDP2, teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro	119
Figura 25	Histograma do Lote Laboratorial PMPC1, teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro	120
Figura 26	Histograma do Lote Laboratorial PMPC2, teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro	120
Figura 27	Histograma do Lote Laboratorial PMPC3, teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro	121
Figura 28	Gráfico do teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro do Lote Laboratorial PMDP1	122
Figura 29	Gráfico do teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro do Lote Laboratorial PMDP2	123
Figura 30	Gráfico do teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro do Lote Laboratorial PMPC1	123
Figura 31	Gráfico do teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro do Lote Laboratorial PMPC2	124
Figura 32	Gráfico do teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro do Lote Laboratorial PMPC3	123
Figura 33	Embalagem de consumo danificada pela ação da luz	127
Figura 34	Testes físicos realizados e não conformidades encontradas nos Lotes Laboratoriais PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3	128
Figura 35	Avaliação microbiológica dos preservativos masculinos	129

Figura 36	Teste de citotoxicidade: Controles celular, negativo e positivo	140
Figura 37	Teste de citotoxicidade: Amostra de preservativo masculino	140
Figura 38	Mapa georeferenciado com os pontos de coleta dos preservativos pulverizados no comércio e as não conformidades encontradas por ponto	141
Figura 39	Mapa georeferenciado com os tipos de estabelecimentos comerciais onde foram adquiridos os preservativos pulverizados e suas localizações regionais.	142
Figura 40	Modelo de tecnovigilância sistematizado e ativo para preservativos masculinos de látex natural	146

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Valores típicos dos constituintes do látex de borracha natural	27
Quadro 2	Exemplo de formulação de preservativos	35
Quadro 3	Valores dos Níveis de Qualidade Aceitáveis (NQAs) e os critérios de aceitação com número de peça defeituosa que permitem aceitar o lote de fabricação de preservativos masculino estabelecido na RDC 62/2008 dos principais ensaios	50
Quadro 4	Dados da preferência de marcas de preservativos masculinos no Brasil e sua divisão por áreas regionais no território brasileiro	76
Quadro 5	Informação do Lote laboratorial PMPC1 das amostras pulverizadas	93
	• 5.1 Lote PMPC1/Total Unidade / Lotes Iguais coletados em diferentes regiões do Brasil	94
	• 5.2 Lote PMPC1/Total de lotes de fabricação coletados, Tipos de estabelecimentos comerciais, e Estados onde foram coletados	94
	• 5.3 Identificação dos Lotes/Unidades Coletadas e não conformidades	95
Quadro 6	Informação do Lote laboratorial PMPC2 das amostras pulverizadas	95
	• 6.1 Total de lotes de fabricação coletados, tipo de estabelecimento comercial, e região do Brasil onde foram coletados	96
	• 6.2 Identificação do lote de fabricação/unidades coletada/nº de não conformidade encontrada	96
Quadro 7	Informação do Lote laboratorial PMPC3 das amostras pulverizadas	97
	• 7.1 Totais Unidades / Lotes Iguais coletados em diferentes regiões do Brasil	98
	• 7.2 Total de lotes de fabricação coletados, Tipos de estabelecimentos comerciais, e região do Brasil onde foram coletados	98
	• 7.3 Identificação dos Lotes de Fabricação/Unidades Coletadas e não Conformidades Encontradas	99
Quadro 8	Plano de Amostragem ISO 4074; OMS; RDC 62/2008	101

Quadro 9	Requisitos utilizados para Avaliação da Qualidade dos preservativos segundo a ISO 4074; OMS; RDC 62/2008	103
Quadro 10	Resultados encontrados para o teste de verificação de orifícios para os Lotes laboratoriais de PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3	114
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10.1 Correlação Lote de Fabricação/Amostra Identificada/Quantidade de Unidades Coletado/Não Conformidades Encontradas</li> </ul>	114
Quadro 11	Resultados encontrados para teste de verificação da integridade da embalagem de PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3	116
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 11.1 Correlação Lote de Fabricação/Identificação da Amostra/Quantidade de Unidades do Lote Coletado/Não Conformidade</li> </ul>	116
Quadro 12	Relação dos lotes de fabricação, a identificação das unidades e sua equivalência ao lote de fabricação e o número de unidades de cada lote de fabricação coletadas no comércio para formar o Lote laboratorial PMPC1	118
Quadro 13	Identificação preservativo com embalagem não conforme no teste de embalagem e rotulagem	127
Quadro 14	Resultados dos testes microbiológicos para o Lote laboratorial PMDP1	131
Quadro 15	Resultados dos testes microbiológicos para o Lote laboratorial PMDP2	132
Quadro 16	Resultados dos testes microbiológicos para o Lote laboratorial PMPC1	133
Quadro 17	Resultados dos testes microbiológicos para o Lote laboratorial PMPC2	134
Quadro 18	Resultados dos testes microbiológicos para o Lote laboratorial PMPC3	135
Quadro 19	Microrganismos encontrados nos Lotes laboratoriais e identificação das unidades insatisfatórias	136
Quadro 20	Preservativos não conformes em relação as análises microbiológicas, Lotes laboratorial, identificação da amostra e os correspondentes lotes de fabricação	137
Quadro 21	Classificação do grau de citotoxicidade	138
Quadro 22	Resultados dos testes de citotoxicidade dos Lotes PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3	139



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Resultados para as medidas dimensionais de comprimento, largura e espessura dos Lotes Laboratoriais PMDP1, PMDP2	105
TABELA 2	Resultados para as medidas dimensionais de comprimento, largura e espessura dos Lotes Laboratoriais PMPC1	106
TABELA 3	Resultados para as medidas dimensionais de comprimento, largura e espessura dos Lotes Laboratoriais PMDP2	107
TABELA 4	Resultados para as medidas dimensionais de comprimento, largura e espessura dos Lotes Laboratoriais PMPC3	108
TABELA 5	Comparação entre as medidas de comprimento entre os Lotes laboratoriais PMPC1, PMPC2 e PMPC3	109
TABELA 6	Comparação entre as medidas de largura entre os Lotes laboratoriais PMPC1, PMPC2 e PMPC3	110
TABELA 7	Comparação entre as medidas de espessura entre os Lotes laboratoriais PMPC1, PMPC2 e PMPC3	111
TABELA 8	Média dos valores obtidos para as medidas dimensionais de comprimento, largura e espessura dos Lotes Laboratoriais PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3	112
TABELA 9	Resultados das medidas de dispersão no teste de verificação da capacidade volumétrica e pressão de estouro para os Lotes Laboratoriais PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3	121
TABELA 10	Resultados das não conformidades encontradas no Teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro, amostra identificada e correlação com os lotes de fabricação	125
	• 10.1 Lotes Laboratoriais, quantidades de unidades testadas, não conformidades encontradas	126
TABELA 11	Testes realizados e não conformidades encontradas nos Lotes Laboratoriais	128

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AIDS</b>	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
<b>AIS</b>	Ações Integradas de Saúde
<b>ASTM</b>	American Society for Testing and Materials
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
<b>AP(s)</b>	Áreas de Planejamentos
<b>AZT</b>	Zidovudina ou AZT (azidotimidina)
<b>CDC</b>	Centros de Controle de Doenças dos EUA
<b>Centistoke (cS)</b>	Unidade de medida de Viscosidade Cinemática: 1 centistokes = 1 mm <sup>2</sup> /s
<b>DST</b>	Infecções Sexualmente Transmissíveis
<b>Fiocruz</b>	Fundação Oswaldo Cruz
<b>GHTF</b>	<i>Global Harmonization Task Force</i>
<b>GPS</b>	Sistemas de Posicionamento Global
<b>HAART</b>	Terapia anti-retroviral altamente eficaz
<b>HIV</b>	Vírus da imunodeficiência humana.
<b>ICICT</b>	Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde
<b>INCQS</b>	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
<b>INMETRO</b>	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial.
<b>ISO</b>	<i>International Organization for Standardization</i>
<b>ISO/TC 157</b>	<i>International Organization for Standardization/Technical Committee 157 (Non-systemic contraceptives and STI barrier prophylactics).</i>
<b>MERCOSUL</b>	Mercado Comum do Sul
<b>MPT</b>	Tecnologia de prevenção multifuncional - ( <i>multi-purpose prevention technology</i> )
<b>NQA</b>	Nível de Qualidade Aceitável.
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>OPAS</b>	Organização Pan-americana de Saúde
<b>PEP</b>	Profilaxia Pós-exposição Sexual
<b>PN-DST/AIDS</b>	Programa Nacional de DST e AIDS.

<b>POP</b>	Procedimento Operacional Padrão
<b>SIG</b>	Sistema de Informação Geográfica
<b>SINAN</b>	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
<b>SNVS</b>	Sistema Nacional de Vigilância Sanitária
<b>ISTs</b>	Infecções Sexualmente Transmissíveis
<b>SUDS</b>	Sistema Unificado e Descentralizado de Saúde
<b>SUS</b>	Sistema Único de Saúde
<b>SVS/MS</b>	Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde
<b>UFC</b>	Unidade de formação de colônias
<b>UNAIDS</b>	<i>Join United Nations Programme on HIV/Aids</i>
<b>UTVIG</b>	Unidade de Tecnovigilância da ANVISA
<b>WHO</b>	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>20</b>
1.1 PRESERVATIVO .....	20
1.1.1 Risco .....	20
1.2 FABRICAÇÃO DO PRESERVATIVO .....	24
1.2.1 Látex - matéria-prima principal .....	24
1.2.2 Preservação do Látex .....	28
1.2.3 Vulcanização do látex .....	31
1.2.4 Vulcanização por radiação ionizante .....	33
1.2.5 Processo tecnológico de fabricação de preservativos .....	34
1.2.6 Lubrificantes .....	39
1.3 CONCEITO DE AVALIAÇÃO DE QUALIDADE: BREVE HISTÓRICO.....	42
1.3.1 Controle estatístico de qualidade .....	42
1.3.1.1 <i>Nível de qualidade aceitável (nqa)</i> .....	43
1.3.1.2 <i>Planos de amostragem</i> .....	43
1.3.2 Regulamentação da qualidade dos preservativos .....	44
1.3.3 Regulamentação brasileira.....	48
1.3.4 Certificação compulsória .....	50
1.3.5 Regulamentação no âmbito internacional .....	52
1.3.6 Produção mundial de preservativos masculinos .....	53
1.3.7 Marketing dos preservativos masculino .....	53
1.4 VIGILÂNCIA SANITÁRIA .....	54
1.4.1 A criação da ANVISA .....	55
1.4.2 ANVISA e os correlatos.....	56
1.5 ANVISA E A TECNOLÓGIA .....	58
1.5.1 A ANVISA e o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) .....	60
1.6 POLÍTICA PÚBLICA E OS PRESERVATIVOS .....	61
1.6.1 AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) .....	61
1.6.2 Diretrizes de prevenção .....	62
1.6.3 Economia em saúde.....	63
1.6.4 Surgimento de novos desafios .....	64
1.7 QUALIDADE DOS PRESERVATIVOS MASCULINO .....	65
1.8 ANÁLISE ESPACIAL E GEOPROCESSAMENTO .....	66
1.9 TESTES DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE .....	67
1.9.1 Ensaio físicos .....	67
1.9.2 Avaliação microbiológica.....	68
1.9.3 Avaliação de citotoxicidade .....	69
<b>2 PROBLEMATIZAÇÃO E JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>70</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>72</b>
3.1 GERAL.....	72
3.2 ESPECÍFICOS .....	72
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>73</b>
4.1 DEFINIÇÃO DAS AMOSTRAS DE PRESERVATIVOS .....	73
4.1.1 Amostras A – PMDP1, PMDP2 .....	74
4.1.2 Amostras pulverizadas no comércio B, C, D .....	74
4.1.3 Amostras pulverizadas B – PMPC1 .....	75

4.1.4 Amostras pulverizadas C - PMPC2 .....	75
4.1.5 Amostras pulverizadas D – PMPC3 .....	75
4.2 ANÁLISE ESPACIAL NO CONTEXTO DE ESTUDOS DE GEOPROCESSAMENTO .....	76
4.3 PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS .....	76
4.3.1 Comparativo da qualidade de lotes dois diferentes (PMDP1 e PMDP2) para certificação, distribuição e mercado .....	77
4.3.2 Comparativo da qualidade dos lotes coletados na indústria versus lotes coletados no mercado nacional .....	77
4.4 TIPOS DE ENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE PRESERVATIVOS .....	77
4.4.1 Testes físicos .....	77
4.4.1.1 <i>Propriedades dimensionais</i> .....	78
4.4.1.1.1 <i>Determinação do comprimento</i> .....	78
4.4.1.1.2 <i>Determinação da largura</i> .....	78
4.4.1.1.3 <i>Determinação da espessura</i> .....	79
4.4.1.2 <i>Determinação de orifícios</i> .....	81
4.4.1.3 <i>Determinação da integridade da embalagem</i> .....	83
4.4.1.4 <i>Determinação da capacidade volumétrica e de pressão de         estouro</i> .....	84
4.4.1.4.1 <i>Determinação da estabilidade após o envelhecimento</i> .....	85
4.4.1.5 <i>Embalagem e rotulagem</i> .....	86
4.4.2 Avaliação microbiológica .....	86
4.4.3 Avaliação de citotoxicidade .....	88
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>91</b>
5.1 ESCOLHAS ALEATÓRIAS .....	91
5.2 COLETA DE AMOSTRAS .....	92
5.3 IDENTIFICAÇÕES DOS LOTES PULVERIZADOS NO N LABORATORIAL .....	92
5.3.1 Identificação do lote laboratorial PMPC1 .....	93
5.3.3 Identificação do lote laboratorial PMPC3 .....	97
5.4 MODIFICAÇÕES NAS NORMAS .....	99
5.5 PROPRIEDADES FÍSICAS.....	102
5.6 PROPRIEDADES DIMENSIONAIS (COMPRIMENTO, LARGURA, ESPESSURA) .....	104
5.7 DETERMINAÇÃO DE ORIFÍCIOS .....	113
5.8 DETERMINAÇÃO INTEGRIDADE DA EMBALAGEM PRIMÁRIA.....	115
5.9 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE VOLUMÉTRICA E DE PRESSÃO DE ESTOURO .....	117
5.10 EMBALAGEM E ROTULAGEM.....	126
<b>6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....</b>	<b>129</b>
<b>7 AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE .....</b>	<b>138</b>
<b>8 ESTUDO DE ANÁLISE ESPACIAL DE GEOPROCESSAMENTO.....</b>	<b>141</b>
<b>9 CONCLUSÕES.....</b>	<b>143</b>
<b>10 PRODUTO FINAL.....</b>	<b>145</b>
<b>11 PERSPECTIVAS.....</b>	<b>147</b>

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>148</b>
<b>ANEXO A</b>	
<b>RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA, Nº 62 DE 03 DE SETEMBRO DE 2008 (RDC 62/2008) .....</b>	<b>166</b>
<b>ANEXO B</b>	
<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO, Nº 65.3210.008 REV. 15, DO INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE. ....</b>	<b>187</b>
<b>ANEXO C</b>	
<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO, Nº 65.3330.010 REV. 13, DO INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. ENSAIO DE CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i>-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR .....</b>	<b>236</b>
<b>APÊNDICE A</b>	
<b>HISTÓRICO DO PRESERVATIVO MASCULINO .....</b>	<b>270</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 PRESERVATIVO

Preservativo masculino de látex natural é um contraceptivo de barreira que pode ser usado durante a relação sexual com o intuito de reduzir a probabilidade de ocorrência de uma gravidez ou de contrair Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs), como a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), causada pelo vírus da imunodeficiência humana ou em inglês, *human immuno deficiency vírus* (HIV). Colocado no pênis ereto, forma uma barreira física, impedindo o sêmen ejaculado de penetrar no corpo do parceiro sexual. Os preservativos são também usados para coleta de sêmen em tratamentos de infertilidade. Atualmente, são fabricados em látex, embora alguns sejam fabricados com outros materiais, como poliuretano ou poliisopreno (CONDOMS, 2003).

A liberdade sexual, unida à falta de uma orientação correta no ambiente familiar, conduz ao início precoce da vida íntima sem nenhum conhecimento das consequências que isso pode causar na vida das adolescentes, principalmente no momento em que engravidam. Os danos psicológicos trazem à gravidez na adolescência consequências muito complexas. Além da gravidez indesejada existe a possibilidade de contrair alguma IST. Mesmo assim, são comuns as resistências explícitas ou veladas ao seu uso tanto por parte de homens como de mulheres (MADUREIRA; TRENTINI, 2008). O preservativo masculino é um recurso disponível a homens e mulheres que atende à dupla função de proteção contra a gravidez e ISTs.

#### 1.1.1 RISCO

A palavra “risco” surgiu em meados do século XIV sendo utilizada para referir à possibilidade de ocorrência de eventos futuros, mas passível de controle ou de intervenção que visasse minimizar e reparar os danos. Para a epidemiologia, risco está relacionado à identificação de fatores que colocam os indivíduos ou grupos sob a provável exposição a eventos que podem

comprometer a saúde seja física, psíquica e/ou social (ROUQUAYROL, 1994; WEBER, 2006; HILLESHEIM; CRUZ, 2008; BERTOLOZZI et al., 2009).

Com o advento da AIDS no Brasil na década de 80, o conceito de risco por si só não possibilitava uma visão mais ampla do complexo contexto daquele momento. Compreendeu-se então que o conceito utilizado era insuficiente para contemplar os inúmeros casos de AIDS notificados. Em virtude disso, surgiu a necessidade de substituir os conceitos referentes a grupos e a comportamentos e assumir uma perspectiva mais social, além da individual passando a adotar o termo vulnerabilidade (SCHAURICH; MEDEIROS; MOTTA, 2007).

O conceito de vulnerabilidade vem sendo ajustado de forma expressiva. A expansão da AIDS e as intervenções pouco eficazes para seu controle provocaram questionamentos para os modelos epidemiológicos, com o risco individual como elemento principal de análise e dos modelos de prevenção baseados numa abordagem comportamental centrada no indivíduo segundo Nichiata (NICHATA et al., 2008). Desta forma, entende-se por vulnerabilidade a chance de exposição das pessoas ao adoecimento, e também como a resultante de um conjunto de aspectos não apenas individuais, mas também coletivos e contextuais que estão relacionados com a maior suscetibilidade ao adoecimento e, ao mesmo tempo, com a maior ou menor disponibilidade de recursos de proteção (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O impacto das ISTs na saúde da população mundial é bastante relevante provocando despesas e custos desproporcionais na clientela de jovens nos diversos países. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou o surgimento anual de 10 a 12 milhões de novos casos de ISTs curáveis no Brasil, na faixa etária de 15 a 49 anos (RODRIGUES, 2010). Foi comprovado que estas doenças são co-fatores para a transmissão do HIV: pacientes com ISTs não ulcerativas, demonstraram risco aumentado de 3 a 10 vezes para a infecção pelo HIV. Já nos casos de evolução com úlceras genitais tal risco pode aumentar em até 18 vezes (WASSERHEIT, 1992).

Em 1998, um estudo extenso e completo foi conduzido para examinar o comportamento sexual da população brasileira urbana, com ênfase na prevenção da infecção pelo HIV e no uso do preservativo masculino pelas pessoas sexualmente ativas (BRASIL, 2000). Essa pesquisa indicou que, no Brasil urbano e neste ano da pesquisa, o estado conjugal (ser solteiro ou casado)



constituía um preditor importante dos graus de risco de exposição maior ou menor ao HIV; que a frequência do uso do preservativo não era substancialmente diferente entre as pessoas que tinham mais de um parceiro ou apenas um; que a proporção de uso do preservativo era bem maior nas relações eventuais que no contexto de relações com parceiros fixos, e na faixa etária dos jovens de 16-25 anos. Vale ressaltar que a percepção do risco, vulnerabilidade auto atribuída, indicada por entrevistados em 1998, segundo Paiva, foi menor do que o risco provável de infecção nas práticas sexuais que de fato relataram (PAIVA, et al, 2003).

A incidência das ISTs vem aumentando nos últimos anos, sendo considerada um problema de Saúde Pública. Este aumento ocorre em consequência das baixas condições socioeconômicas e culturais, da falta de uma educação sexual adequada, principalmente voltada para os jovens. Hoje, as ISTs estão entre as doenças mais comuns em todo o mundo (SCARAMUZZA, 2014).

No Brasil, desde 1980 até junho de 2014, foram registrados 491.747 (65,0%) casos de AIDS em homens e 265.251(35,0%) em mulheres (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 2014).

A análise crítica da resposta brasileira tem salientado a importância da integração entre prevenção, cuidado e tratamento no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), tendo como referência os direitos humanos (PAIVA; PUPO; BARBOZA, 2006).

Preservativos masculinos são baratos, fáceis de fabricar e são facilmente distribuídos globalmente, inclusive em ambientes com poucos recursos, por meio de numerosos e bem desenvolvidos canais de distribuição. O volume atual de produção mundial é de 15 bilhões de unidades por ano, com um número estimado de 750 milhões de usuários em um mercado em crescimento constante. É um produto de reconhecimento universal (DESENVOLVIMENTO, 2013).

A OMS alerta que se os preservativos estiverem corretamente desenhados, com elasticidade e força adequadas, uniformes e livres de perfurações, reduzem significativamente o risco de transmissão de patógenos durante a relação sexual, sendo considerados como um exemplo ideal de uma tecnologia de prevenção multifuncional (*MPT, multi-purpose prevention technology*).

Entretanto, não são perfeitos, são feitos de látex e podem variar de acordo com o lote e em diferenças na tecnologia de fabricação, o que pode resultar em considerável variação na sua qualidade (WHO, 2009).

Para obtenção do selo de certificação, é necessário que amostras de todos os lotes sejam testados em laboratório de certificação de produto. No caso dos preservativos masculinos, os testes avaliam as dimensões – comprimento, largura e espessura -, a capacidade volumétrica e a de pressão de estouro, a presença de orifícios, a integridade da embalagem e a rotulagem (ANVISA, 2008).

O estudo elaborado por Neto e colaboradores da Universidade de São Francisco em Bragança Paulista, intitulado “revisão sobre a eficácia do preservativo em relação à proteção contra Infecções Sexualmente Transmissíveis e gestação”, alertou que, segundo a OMS, foram encontradas 46 revisões sistemáticas, um relato de caso, uma revisão narrativa e 257 ensaios controlados sobre a eficácia dos preservativos masculinos. Após análise da literatura, observou-se falha no controle da qualidade dos preservativos, desde sua confecção, bem como no transporte, armazenamento e testes de qualidade, mostrando que os preservativos não estão adequados para o seu propósito (NETO, et al, 2009)

É difícil estimar, com segurança, o mercado total de preservativos no Brasil, pois, as pesquisas disponíveis são, em geral, segmentadas ou localizadas, não se tendo um painel representativo do mercado como um todo. Entretanto, é importante lembrar que os preservativos são fabricados respondendo a um padrão de procedimentos preconizado pela *International Organization for Standardization (ISO) 4074* (ISO, 2002).

Este produto passou a ser considerado como objeto central das políticas governamentais de prevenção à AIDS e outras ISTs desde o início da década de 90 e, ainda hoje, no Brasil, o preservativo é incluído em todos os projetos de prevenção das ISTs estando presente nas ações básicas de saúde. Sua distribuição é gratuita na rede nacional de saúde, tornando-se um produto de importante papel social e a população brasileira passou a reconhecê-lo como uma forma segura de evitar a infecção pelo HIV. O seu uso não exige prescrição médica nem orientação de um profissional de saúde, não depende de médico nem de sistema de prestação de serviços de saúde e não existem, até o

momento, efeitos adversos relacionados ao uso – afirmação que não pode ser feita sobre nenhum outro contraceptivo ou produto de prevenção de ISTs (DESENVOLVIMENTO, 2013).

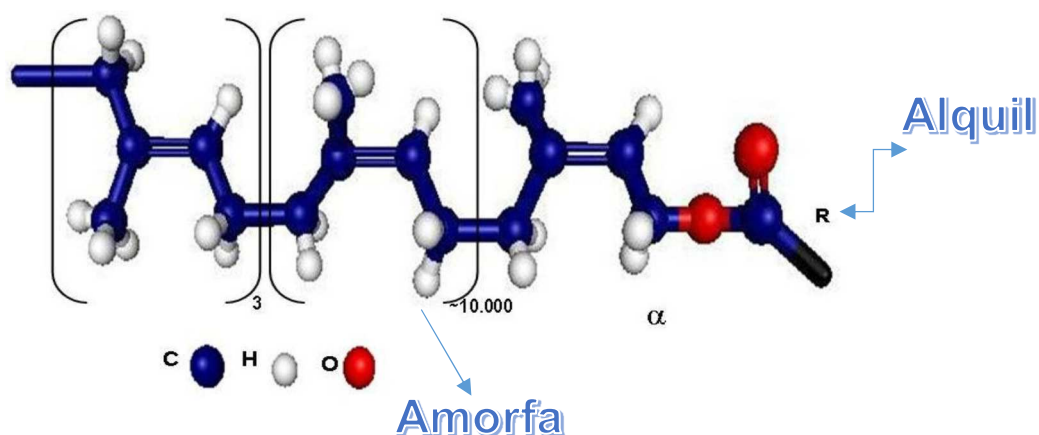
## 1.2 FABRICAÇÃO DO PRESERVATIVO

### 1.2.1 Látex - matéria-prima principal

A matéria-prima principal da fabricação de preservativos de maior uso é o látex - poli (1,4-*cis*-isopreno). Pode ser encontrado na natureza em mais de 2500 espécies de árvores, sendo a *Hevea brasiliensis* a única com importância comercial (BÓ, 2007).

O polímero natural sintetizado pela espécie *Hevea* tem um peso molecular médio próximo a um milhão. É composto de aproximadamente três unidades trans isoprênica, responsável pela parte cristalina, seguidas de cerca de 10.000 unidades cis isoprênica, responsável pela parte amorfa, do tipo cabeça calda (GALIANI, 2007), combinadas por ligações 1,4 e um grupo  $\alpha$  terminal, conforme mostra a Figura 1. Esse grupo terminal  $\alpha$  varia com a origem da borracha. Como a unidade de repetição da parte cis isoprênica existe em uma proporção muito maior que a parte trans isoprênica, a borracha natural se mostra um polímero amorfo (HONORATO, 2005).

Figura 1 - Estrutura química da parte isoprênica da borracha natural.



Fonte: AGOSTINE, 2009

Outras espécies *Hevea benthamiana*, *Hancornia speciosa*, *Manihot glaziovii*, *Parthenium argentatum* e a *Ficus elástica*, entre outras, produzem poli (1,4-*cis*-isopreno) de baixa massa molecular e com baixos índices de produtividade e qualidade (BODE; KERKHOFF; JENDROSSEK, 2001; CORNISH, 2001; FERREIRA, et al, 2001; MARK; ERMAN; EIRICH, 1994; GRASSIE; SCOTT; 1985).

O látex obtido da *Hevea brasiliensis*, seringueira nativa da Região Amazônica, também chamada pelo povo da floresta de *Hevea Real*, foi durante trinta anos (1887-1917) um dos principais produtos das exportações brasileiras, fazendo do Brasil o maior produtor mundial de borracha natural do período. A exploração era totalmente extrativista, tendo desempenhado importante papel na formação econômico-social da Amazônia e do Brasil, transformando-se num capítulo da história mundial (GOVERNO DO ESTADO DO ACRE, 2004). A eclosão da crise gumífera, ocasionada por problemas políticos, econômicos e fitossanitários na região, impediu o desenvolvimento sustentável da atividade, e os robustos investimentos feitos pela Inglaterra na climatização da *Hevea brasiliensis* em países colonizados pelos ingleses, contribuíram para que a atividade da produção de borracha natural fosse transferida, no início do século XX, para os países asiáticos. A Figura 2 mostra um seringal de cultivo e a retirada do látex do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), Espírito Santo, e a sangria de uma seringueira na Embrapa, Acre.

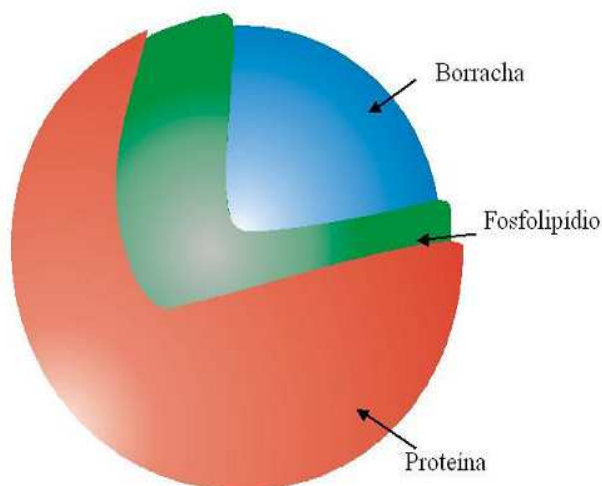
Figura 2 – Seringal de cultivo/retirada do látex



1- Fonte: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper)  
2- Fonte: Embrapa, BP nº 8/1999

O látex exsudato da *Hevea brasiliensis* é uma dispersão coloidal, com 60 a 70% de água e 40 a 30% de borracha, contendo partículas borrachosas e não borrachosas dispersas na fase aquosa. A porção não borrachosa é composta de proteínas, enquanto a porção elastomérica é constituída principalmente de poli (1-4-cis-isopreno). As partículas são de forma esférica, denominadas micelas. São polidispersas e tem diâmetro que variam de 50 *ångström* (Å) a 3 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ), com média entre 0,25 e 0,8  $\mu\text{m}$ . As partículas são envolvidas por uma monocamada contínua de complexo de fosfolipídios-proteínas, de carga negativa, responsável pela estabilidade coloidal (BÓ, 2007). A Figura 3 mostra um modelo de uma partícula de borracha em látex envolvida por uma camada de fosfolipídio e outra mais externa de proteínas, proposto por Blackley (BLACKLEY, 1997).

Figura 3 – Modelo de uma partícula de borracha em látex envolvida por uma camada de fosfolipídio e outra mais externa de proteína.



Fonte: RIPPEL, 2005

Embora as vantagens do látex o tenham tornado o material mais comum para fabricação de preservativos, apresenta algumas desvantagens. Os preservativos de látex deterioram-se quando são aplicados com lubrificantes, substâncias à base de óleo, como por exemplo vaselina, óleo de cozinha, óleo mineral, loção, protetor solar, manteiga ou margarina (SPRUYT et al., 1996). O

contacto com o óleo faz com que o látex perca a elasticidade, aumentando a probabilidade de romper. A alergia ao látex, relativamente comum, é também um dos principais motivos para o uso de materiais alternativos fabricados com látex sintético. O Quadro 1 mostra os valores típicos dos constituintes do látex de borracha *in natura* (BÓ, 2007).

Quadro 1 – Valores típicos dos constituintes do látex de borracha *in natura*

<b>CONSTITUINTE</b>	<b>PERCENTUAL</b>
Sólidos totais (Incluindo teor de borracha seca de 33%)	40 – 30
Substância proteica	1 - 1,5
Substância resinosa	1 - 1,5
Cinza	< 1
Açúcar	1
Água	60 – 70

Fonte: BÓ, 2007

O percentual de sólidos totais depende de vários fatores como a idade da árvore, tipo, frequência e horário de sangria, condições do solo, tipo de seringal - nativo ou de cultivo, clone, condições climáticas, estação do ano, etc. As principais propriedades físicas do látex de borracha natural são a densidade, entre 0,975 e 0,980 gcm<sup>-3</sup>, a tensão superficial entre 0,040 e 0,045 Nm<sup>-1</sup> e o pH entre 6,5 e 7,0 (GAZELEY; GORTON; PENDLE, 1990; CYR, 1998).

Na fabricação de produtos de látex de borracha natural, as propriedades de maior relevância são: o teor de borracha seca, o teor de sólidos não-borrachosos, o tempo de estabilidade mecânica, o teor de ácidos graxos voláteis (AGV), o teor de hidróxido de potássio (KOH) e a alcalinidade. Os ácidos graxos voláteis, principalmente os provenientes dos ácidos acético e fórmico, são subprodutos do crescimento bacteriológico. O teor de AGV é o melhor indicador disponível para avaliar o estado de preservação do látex. Os AGV se oxidam rapidamente a hidroperóxidos e atuam como iniciadores da degradação (RICARDO; FEITOSA; SILVEIRA, 2001). Se o valor do AGV do látex for maior do que 0.02%, o látex não é sequer considerado para ser concentrado e é

destinado diretamente para fabricação de borracha tipo folha ou crepe (PENDLE, 1989). A viscosidade, a condutividade e o tamanho de partícula do látex também são propriedades importantes. Na fabricação de preservativos, o controle do teor de metais (cobre, ferro e manganês) no látex também é muito importante, pois os metais aceleram a degradação do filme, atuando como catalisadores nas reações dos ácidos graxos (RICARDO; FEITOSA; SILVEIRA, 2001).

### 1.2.2 Preservação do Látex

Os sólidos borrachosos e não-borrachosos são distribuídos em três fases após ultracentrifugação: a fase borrachosa ou superior, a fase serosa ou média e a fase lutóide ou inferior. A fase borrachosa ou superior contém, em peso, cerca de 96% de borracha hidrocarbônica, 3% de lipídios, 1% de proteína, traços de magnésio, potássio e cobre, entre outros constituintes. As partículas borrachosas são estabilizadas por uma camada adsorvida de proteínas e fosfolipídios (GAZELEY; GORTON; PENDLE, 1990; CYR, 1998; BATEMAN, 1963). A porção serosa ou soro é uma solução aquosa diluída constituída de uma ampla variedade de substâncias químicas. Os mais importantes constituintes são as proteínas e seus produtos de decomposição, aminoácidos e vários sais orgânicos e inorgânicos. A fase inferior consiste principalmente de partículas lutóides. A fase lutóide é constituída de partículas esféricas, não-borrachosas, com pigmentos carotenoides, que geram a cor amarelada da borracha natural (BLACKLEY, 1966; GAZELEY; GORTON; PENDLE, 1990).

A preservação do látex imediatamente após a sua coleta é uma etapa de enorme importância na preparação da matéria-prima principal da fabricação do preservativo. O látex de borracha natural coagula poucas horas após ser extraído da seringueira. Caso a preservação não seja feita de forma correta, em pouco tempo se inicia o processo de putrefação. O tempo para que a coagulação ocorra depende da temperatura ambiente e da estabilidade do próprio látex (BLACKLEY, 1966; GAZELEY; GORTON; PENDLE, 1990).

O sistema de preservação pode ser de curto ou de longo duração. O sistema de curta duração, comumente conhecido como anticoagulante, preserva o látex por tempo suficiente para assegurar que o mesmo permaneça em condições líquidas por poucas horas ou dias, antes da transformação em

borracha seca. O sistema de longa duração atua na preservação do látex, mantendo-o na forma líquida durante o período do transporte até o destino final e durante o tempo de estocagem. A produção de látex de alta qualidade demanda particular atenção na limpeza dos utensílios de coleta, no manuseio do produto ao longo da coleta, no sistema de preservação utilizado e no controle do tempo entre a sangria e a ultracentrifugação. A qualidade do látex tem grande interferência no resultado da qualidade do produto final (BLACKLEY, 1966; CYR, 1998).

Um sistema de preservação do látex considerado eficiente deve atender a três funções: destruir os microrganismos ou suprimir sua atividade e crescimento; contribuir positivamente para a estabilidade coloidal do látex (por exemplo, no aumento da carga elétrica nas partículas, do potencial elétrico da interface borracha-água e/ou do pH do látex); eliminar traços de íons de metais pesados por sequestro em solução ou por precipitação como sais insolúveis. Os íons metálicos são a fonte de energia dos microrganismos que causam a coagulação espontânea e também contribuem com a desestabilização do látex. A amônia é o conservante padrão do látex de borracha natural porque inibe o crescimento dos microrganismos atuando como tampão alcalino (aumentando o pH), diminui a viscosidade e neutraliza os ácidos livres formados no látex. Para a preservação de curta duração, é suficiente um percentual de 0,2% de amônia, enquanto que para uma preservação permanente é necessário chegar a 0,7%. A amônia é muito utilizada como anticoagulante após a extração do látex da árvore, em quantidades tão pequenas como 0,05%. O uso do formaldeído em combinação com a amônia é também um excelente meio de promover a conservação (SOEDJANAATMADJA; et al, 1999; PETRI; PENDLE, 1997).

O processo de centrifugação é o mais importante método de concentração, utilizado na indústria do látex concentrado. 88% da produção da Malásia, o que representa 500.000 toneladas de látex, são centrifugadas cada ano, por esse processo. Os 12% restantes são concentrados pelos processos de evaporação e por cremagem, em igual quantidade. O fundamento teórico da centrifugação é o mesmo que o do processo de cremagem, mas ao invés do campo gravitacional do processo de cremagem, é utilizado um campo centrífugo obtido através de uma centrífuga de alta rotação. Por isso, o processo de centrifugação é considerado um processo acelerado de cremagem. Na



centrífuga laval, que é o tipo mais comumente usado, o látex é introduzido no cilindro giratório da centrífuga, de aproximadamente 70 cm de diâmetro e 120 cm de altura e submetido a forças centrífugas geradas pela velocidade de rotação que excede a 700 rotações por minuto. Desta forma separa-se o látex concentrado a 60% de borracha seca, do látex desnatado, que contém ainda 6% de borracha seca (COLIN, 1980).

O látex concentrado pelo processo de centrifugação é mais puro do que o cremado. Só pelo processo de centrifugação, parte dos constituintes não borracha, que atuam como inibidores no processo de vulcanização induzido com radiação ionizante, são removidos, melhorando desta forma as propriedades mecânicas dos artefatos fabricados a partir dele. Mas foi observado também que, aumentando o número de vezes em que o látex passa pelo processo de centrifugação, decresce as propriedades mecânicas. Isto sugere que o látex não centrifugado possui em sua composição substâncias inibidoras e aceleradoras (MOHID; et al, 1990). Na fabricação de preservativos geralmente é utilizada a dupla centrifugação. A primeira centrifugação aumenta os sólidos totais e a segunda, também chamada de clareação, retira os coágulos menores remanescentes. A clareação é uma etapa importante para produção de artefatos transparentes ou translúcidos (CYR, 1998).

O látex de borracha natural é comercializado de acordo com especificações estabelecidas em normas nacionais e internacionais. As normas ISO 2004 e a ISO 2027 têm classificação mais abrangente, caracterizando oito tipos de látices. A norma brasileira NBR 11598 e a norma *American Society for Testing and Materials* (ASTM) D 1076 padronizam os métodos de ensaio e classificam o látex segundo o método de concentração e o sistema de preservação em quatro tipos:

Tipo I – O látex natural é centrifugado com alto teor de amônia. Preservado somente com amônia ou com formaldeído seguido de amônia.

Tipo II – O látex natural cremado. Preservado somente com amônia ou com formaldeído seguido de amônia.

Tipo III – O látex natural centrifugado. Preservado com baixo teor de amônia e outros conservantes.

Tipo IV - Látex cremado preservado com baixo teor de amônia e outros conservantes necessários.

O látex para comercialização deve ser estável e conter 60% ou mais de borracha. Para isso, é necessário preservá-lo e concentrá-lo. Todos os processos produtivos importantes de artigos de látex, incluindo o preservativo, partem do látex com no mínimo 60% de conteúdo de borracha.

Na fabricação de preservativos, somente o látex de mais alto nível de qualidade, preparado com o máximo de cuidado e com utensílios de material inerte, como aço inoxidável, pode ser usado (GORTON, 1994).

### 1.2.3 Vulcanização do látex

A vulcanização do látex é um processo que consiste em promover ligações químicas intermoleculares, ou seja, ligações cruzadas entre as moléculas poliméricas, de uma forma tridimensional. Esse processo permite grandes transformações nas propriedades do polímero, que concedem ao produto acabado melhores propriedades. Por exemplo, as propriedades plásticas são transformadas em propriedades elásticas, diminui a solubilidade, aumenta a resistência à tração na ruptura, diminui a elongação (DULNGALI, 1989; CALVI, 1990).

São utilizadas substâncias denominadas de "agentes de vulcanização", as quais promovem as ligações químicas intermoleculares, através de pontes de átomos de enxofre, na presença de calor. Utilizam-se também agentes auxiliares de vulcanização, com funções específicas no processo de vulcanização e com o objetivo de promover qualidades desejadas no produto acabado, como aceleradores e ativadores de vulcanização, antioxidantes, pigmentos, plastificantes, odorantes, desmoldantes, agentes ignífugos, etc. Os agentes de vulcanização se classificam em 3 grupos: enxofre, doadores de enxofre e agentes não sulfurosos (SOUZA, 1994).

O enxofre é o agente de vulcanização mais comum e o mais empregado na vulcanização de elastômeros insaturados. Por uma questão de custo, utiliza-se na maioria dos casos, o enxofre rômico. O enxofre amorfo, 10 vezes mais caro, é utilizado nos casos em que as misturas cruas devem ser armazenadas por certos períodos conservando a adesão (SOUZA, 1994).

Quando se quer melhorar a resistência ao envelhecimento, utilizam-se compostos que contém enxofre, conhecidos por agentes de vulcanização doadores de enxofre, como o dissulfeto de dimorfolinila, hexassulfeto de tetrametiltiuran, dissulfeto de dibutilxantato, dissulfeto de alquifenol, os quais ao se decomporem em determinadas temperaturas liberam quantidades apreciáveis de enxofre que promovem a reticulação (BRASIL, 1993).

Quando são utilizadas estas substâncias, o enxofre elementar pode ser reduzido ao mínimo, ou mesmo eliminado. Alguns óxidos metálicos e peróxidos orgânicos são utilizados como agentes de vulcanização não sulfurosos.

O processo de vulcanização do látex se dá a vácuo e a baixas temperaturas. Assim, faz-se necessário o uso de aceleradores ultrarrápidos, sendo os mais utilizados os sais de zinco de ditiocarbamatos como metil, etil e butil ditiocarbamatos, em combinação com o óxido de zinco, como agente de ativação. Os ditiocarbamatos são utilizados em combinação com aceleradores de menor velocidade, sendo que alguns deles conferem proteção antioxidante (HEPBURN, 1994). O processo de fabricação da borracha inclui ainda a adição de substâncias químicas como os carbamato e a resina p-ter-butil-fenolformaldeídica (Tiuram) para conferir características como elasticidade e longevidade (FERNANDES et al, 2009). Entretanto, esses aceleradores tipo tiuram são pouco utilizados na fabricação de preservativos, pois possuem alta capacidade alergênica (FOTIC, 2004; BÓ, 2007).

Os óxidos metálicos como o óxido de zinco, óxido de magnésio, óxido de chumbo (óxido litárgico), etc., são utilizados na cura de policloropreno, de borrachas nitrílicas carboxiladas e do hypalon (SOUZA, 1994). Dentre os peróxidos orgânicos utilizados na cura de elastômeros que não possuem insaturações e nem grupos funcionais reativos, como as siliconas e o poli (etileno-propileno), destacam-se o peróxido de dicumila e o peróxido de benzoila. Certas substâncias bifuncionais, como a resina epóxi, as resinas fenólicas, a quinonadioxina, e o carbamato de hexametilenodiamina são agentes de vulcanização empregados na vulcanização de borrachas nitrílicas, butílicas, fluoradas e outras (BRASIL, 1993).

Embora o processo térmico convencional de vulcanização do látex na presença de enxofre predomine na indústria, ele traz sérios problemas ambientais e toxicológicos, os quais são preocupantes há algumas décadas. Desde a década de 80, já vem sendo desenvolvido um processo alternativo de vulcanização, com vantagens econômicas, produzindo artefatos com melhor qualidade. Esse processo alternativo é a reticulação do látex induzida com radiação ionizante, que ocorre à temperatura ambiente (MACHI, 1989).

#### 1.2.4 Vulcanização por radiação ionizante

A vulcanização do látex de borracha natural com radiação ionizante com raios gama (VRG) é um processo alternativo de vulcanização que consiste em reticular o poli (1,4 *cis-isopreno*), disperso na fase aquosa na presença de ar e em temperatura ambiente. Esse processo ocorre na presença e na ausência de rádio sensibilizadores (RS), que são substâncias com alta quantidade de radicais livres, formados a 100 elétrons-volt (eV) de radical de energia absorvida (valor de  $G_{\text{radical}}$ ). Os sensibilizadores são capazes de promover a vulcanização com doses menores de radiação. Essa reação ocorre pela ação direta e indireta da radiação ionizante com as moléculas poliméricas da borracha através de mecanismos de formação de radicais. As principais vantagens desse processo são produzir artefatos que não causam problemas ambientais e nem toxicológicos, são isentos de nitrosaminas, de enxofre, ditiocarbamatos e óxido de zinco e apresentam baixa citotoxicidade (CAMPOS et al, 1999).

A vulcanização do látex de borracha natural, induzida com raios gama, ocorre tanto na ausência como na presença de RS. Entretanto, na ausência do RS a dose de irradiação necessária para promover um grau de reticulação ótimo no látex é da ordem de 180 kGy. Esta dose, denominada dose de vulcanização (DV), é muito elevada, impossibilitando a aplicação industrial desse processo alternativo de vulcanização (SOUZA, 1994).

### 1.2.5 Processo tecnológico de fabricação de preservativos

Na fabricação de preservativos, uma mistura de ingredientes (dispersão) é adicionada ao látex centrifugado para gerar o látex composto, maturado por algum tempo, entre um e cinco dias, sob condições de temperaturas controladas em torno de 30 a 60°C. Nesta etapa do processo ocorre a pré-vulcanização, cujo grau depende da tecnologia utilizada. Uma dispersão típica é constituída por:

- Enxofre coloidal 95 (como agente de vulcanização);
- Óxido de zinco (ativador da vulcanização);
- Um ou mais aceleradores como os dimetil e dietil ditiocarbamatos de zinco;
- Um ou mais estabilizadores (tipo laurato de potássio);
- Antioxidante e pigmento, caso o produto seja colorido.

Outros aditivos podem estar dispersos, dependendo de cada fabricante (GEROFI, 2000; GORTON, 1994; BAYER POLYMER, 2004). O Quadro 2 mostra um exemplo de formulação de preservativo (BÓ,2007).

Quadro 2 - Exemplo de formulação de preservativo

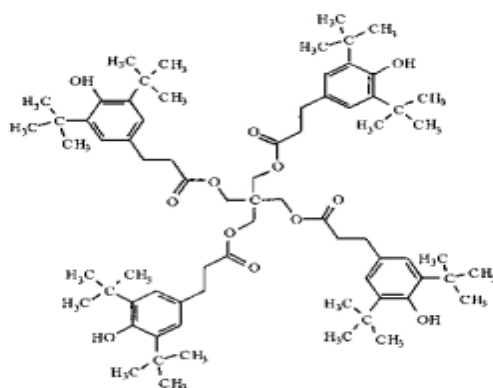
<b>MATÉRIAS-PRIMA</b>	<b>PARTES</b>	<b>FUNÇÃO</b>
Látex natural	167	Matéria-prima principal
Enxofre Coloidal 95	2,5	Agente de vulcanização
ZDBC*	0,5	Acelerador 1
ZDEC**	1,5	Acelerador 2
Óxido de zinco transparente	2,5	Ativador
Solução de hidróxido de potássio	5	Estabilizador 1
Solução de laurato de potássio	2,5	Estabilizador 2
Derivados fenólicos polinucleares	1	Antioxidante

\*ZDBC–dimetil ditiocarbamato de zinco \*\* ZDEC–dietil ditiocarbamato de zinco

Fonte: Bó, 2007

O uso do enxofre coloidal 95, como agente de vulcanização, apresenta vantagens em relação a outros tipos de enxofre, pois produz produtos de maior transparência, possui partículas menores sendo mais fáceis de serem misturadas. O número 95 representa o teor de enxofre, que está entre 93-95%. Os restantes 7 - 5% correspondem ao percentual de agente dispersante e umidade (BAYER POLYMER, 2004). Os antioxidantes (substâncias que protegem a borracha da oxidação térmica) mais utilizados são os derivados fenólicos, aril e/ou alquil substituídos. Essas substâncias são polinucleares e altamente impedidas. A Figura 4 mostra um exemplo da estrutura química molecular do Irganox 1010 agente antioxidante.

Figura 4 – Estrutura química do Irganox 1010



Fonte: ALPHEN, 1973

Formula Molecular:  $C_{73}H_{108}O_{12}$

Peso Molecular: 1177.63142 g/mol

Os preservativos são produzidos a partir de moldes de vidro que são imersos em tanques, chamado de processo de imersão (*dipping*), contendo o composto de látex. Após a imersão, os moldes passam por estufas de secagem e por escovas rotativas para a formação da bainha. São novamente submetidos à secagem e passam por um tanque de lixiviação, onde o filme de borracha é lavado. Em seguida, os produtos são retirados dos moldes por um jato de água, adiciona-se talco e são colocados em secadoras para retirada da umidade, encerrando o processo produtivo (GEROFI, 2000).

Alguns testes químicos são feitos no látex durante a etapa da imersão (viscosidade, pH, e tempo de estabilidade mecânica). Ao longo do processo de fabricação também são realizados alguns testes de qualidade, como por exemplo, verificações de defeitos visuais, controle de massa e espessura. A espessura é influenciada pela velocidade com que os moldes se movem ao longo do banho, o conteúdo de sólidos totais da água e a temperatura do látex no banho. Em geral, os fabricantes produzem preservativos com espessura média de aproximadamente 0,07 mm (GILMORE, 1998). A Figura 5 exemplifica algumas etapas da fabricação de preservativos em uma fábrica sediada em Alumínio, interior de São Paulo. Existem diferenças quanto aos desenhos dos processos na fabricação do produto, pois isso depende de cada fabricante. Entretanto, os requisitos legais têm que ser cumpridos indiferentemente do desenho do processo.

Figura 5 – Algumas etapas do processo de fabricação de preservativos



**(a)** - O látex natural, matéria prima para fazer o preservativo vem da Malásia e é armazenado no estado líquido em grandes tonéis.



**(b)** - O látex líquido é colocado em máquinas e aquecido. Moldes de vidro em formato de pênis com 160 mm recebem a primeira camada de material e vão para estufa. O molde recebe o segundo banho de látex e é resfriado, o que deixa o material com aspecto de borracha.



**(c)** - Os preservativos são colocados em máquinas de lavar para retirar o excesso de produtos químicos e aplicar o bactericida.

Fonte: (LEVORATO, 2014)

Em geral, a totalidade dos preservativos fabricados são testados eletricamente no centro da fabricação para detecção de orifícios antes de serem embalados. Existem dois tipos de testes elétricos, conhecidos como “úmido” e “seco”. O teste úmido mede a condutividade elétrica entre o lado externo e o lado interno do filme do preservativo. Os preservativos são colocados em moldes metálicos, em uma corrente circular e contínua, e são mergulhados numa



solução condutora. A resistência entre a solução e o molde é medida e os que acusam a passagem de corrente elétrica são rejeitados. Os aceitos são secos, enrolados e retirados da máquina de teste por escovas. O teste é usualmente conduzido a uma tensão inferior a 100 V. O teste seco se baseia em uma quebra dielétrica. Os preservativos são colocados em moldes rotativos metálicos e “folhas” (*flaps*) de borracha condutora ou uma malha metálica passa sobre eles. Se houver detecção de um furo ou um ponto muito fino, ocorre um fluxo de corrente e o preservativo é rejeitado. Estas máquinas operam entre 1500 e 2100 V (GORTON, 1994; GEROFI, 2000; BÓ, 2007). A Figura 6 representa o teste elétrico realizado na fábrica nos preservativos.

Figura 6 – Teste elétrico feito na fábrica para detecção de orifícios



Fonte: Filipe Anderson – Jornal Ação Crítica de 22 fev. 2015

### 1.2.6 Lubrificantes

A maior parte dos preservativos é acondicionada com um pó - amido de milho, sílica ou carbonato de magnésio - em embalagem primária (Figura 7) e um lubrificante. Os lubrificantes mais utilizados são os fluídos de silicone, enquanto os menos comuns são os glicóis de propileno e de etileno. Os lubrificantes a base de óleo mineral, em contato com os preservativos causam uma rápida deterioração no produto (VOELLER et al, 1989). Normalmente, a viscosidade do lubrificante varia entre 100 a 350 centistoke (cS) e a quantidade utilizada em cada preservativo é de 200 a 600 mg. Alguns preservativos são disponibilizados com espermicida, sendo o mais comum o surfactante nonoxinol-9. Estudos mostraram que o uso de espermicidas está associado a irritações cutâneas e infecções urinárias (FIHN et al, 1998).

Figura 7 - Colocação do pó de silicato de magnésio antes do acondicionamento do produto



Fonte: Filipe Anderson – Jornal Ação Crítica de 22 fev. 2015

O lubrificante é colocado no preservativo antes da vedação da embalagem primária que fica diretamente em contato com o preservativo, conforme mostra a Figura 8. Os materiais utilizados nas embalagens para uma proteção mais efetiva do produto são filmes de alumínio, com no mínimo 8  $\mu\text{m}$  de espessura, recobertos em ambos os lados por filme de plástico ou celofane (celulose). O revestimento externo, além de aumentar a resistência da embalagem, é utilizado para impressão da marca e de outras informações legais. Dois rolos do filme de embalagem são normalmente utilizados, fazendo um sanduíche do preservativo (ROSETTE, 1997).

Figura 8 - Colocação de lubrificante antes da vedação da embalagem primária.



Fonte: Filipe Anderson – Jornal Ação Crítica de 22 fev. 2015

As quantidades de lubrificante, bem como a vedação da embalagem primária e sua impermeabilidade à luz e ao oxigênio, contribuem de forma significativa para que o produto mantenha suas propriedades ao longo da vida útil. Os laminados que não possuem uma proteção adequada de impermeabilidade ao oxigênio e à luz UV oferecem uma menor proteção à oxidação (FREE, 1996; BÓ, 2007). A embalagem primária pode ser de formato quadrado, onde a circunferência do preservativo é preservada, ou retangular, na qual o preservativo fica comprimido enquanto permanece embalado. A compressão permanente do preservativo pode comprometer as propriedades

físicas do produto; entretanto, esta embalagem utiliza menos material em comparação à quadrada e, portanto, tem menor custo. Nos países membros do MERCOSUL, as embalagens primárias transparentes, bem como as retangulares, são proibidas. No entanto, em países de clima temperado, a embalagem transparente é utilizada em preservativos coloridos (GEROFI, 2000).

Existem quatro tipos de lubrificantes: os formulados com substâncias solúveis em água, que normalmente são mais fáceis de limpar; os derivados de petróleo, como a vaselina, que costumam sujar o corpo e as roupas; os produtos à base de silicone, similares aos de água, porém a prova d'água; e os óleos naturais, que também sujam as roupas. Os tipos de lubrificantes são:

- A base de Petróleo > fabricados a partir de gel de petróleo, óleo mineral ou petrolato, os lubrificantes a base de petróleo são o tipo mais usado de lubrificação. Tipos diferentes incluem produtos de vaselina e óleos para uso infantil. Como os lubrificantes a base de petróleo destroem o látex ao mínimo contato, não devem ser usados com preservativos, diafragmas e capas cervicais. Além disso, mancham tecidos, são difíceis de lavar e irritam o órgão genital feminino.
- A base de óleo > normalmente fabricados a partir de produtos naturais como óleos vegetais, óleos de nozes, manteiga, podendo ser usados sem problema, pois não afeta o órgão genital feminino. Entretanto, tendem a manchar os tecidos e também destroem o látex.
- A base de água > estes lubrificantes contêm tipicamente água deionizada, glicerina, propileno glicol e conservantes não tóxicos. Com ou sem sabor a maioria tem um sabor ligeiramente adocicado. Não mancham tecidos, podem ser usados com látex e outros mecanismos de controle de natalidade tipo barreira e raramente causam irritação. Apesar de serem absorvidos rapidamente durante o sexo podem ser facilmente reavivados. Por sua versatilidade e efetividade são os mais recomendados por terapeutas sexuais e casais experientes.
- A base de silicone > são similares aos com base em água com uma diferença fundamental: são totalmente à prova de água o que os torna ideais para uso em ambientes molhados. Eles também conservam efetivamente as propriedades lubrificantes por mais tempo do que os lubrificantes a base de água e são altamente concentrados. O silicone não

destrói o látex, mas exige limpeza com muito sabão e isso pode ser prejudicial à flora bacteriana do órgão genital feminino.

### 1.3 CONCEITO DE AVALIAÇÃO DE QUALIDADE: BREVE HISTÓRICO

Um marco importante na história da qualidade foi, na década de 20, o surgimento das cartas de controle de processos, desenvolvidos por Walter A. Shewhart, estatístico da Bell Labs, e que em virtude de fácil utilização, propagou-se para outras empresas. Durante a Segunda Guerra Mundial, surgiram contribuições para o desenvolvimento da qualidade da produção de guerra, em parte, devida à grande quantidade de material bélico produzido, deficiência e declínio da mão-de-obra. Após a guerra, no Japão, houve grande contribuição de pessoas ligadas à estatística, tais como: Deming, Juran, Taguchi, Ishikawa, entre outros, sempre com o foco na qualidade e não na quantidade produzida. Os resultados vieram em consequência do esforço e trabalho desses profissionais. Na década de 70, as mercadorias japonesas foram consideradas entre as melhores do mundo, segundo Davis (DAVIS, 2001). Isto obrigou os EUA a iniciarem na década de 80 uma nova fase produtiva com uma mudança de foco para a qualidade e mais uma vez William Edwards Deming, estatístico, foi muito importante nesta mudança. Em 1989 começou a iniciativa Seis Sigma da Motorola, e em 1997 a abordagem Seis Sigma se espalhou para outras indústrias. A melhoria da qualidade e produtividade sempre foi uma necessidade de qualquer setor industrial para a obtenção de vantagens competitivas (DAL'CORTIVO, 2005).

#### 1.3.1 Controle estatístico de qualidade

Um dos objetivos principais do Controle Estatístico de Qualidade é de detectar as causas especiais, investigar e aplicar ações para correção, para que o processo não produza produtos fora das especificações (DAL'CORTIVO, 2005).

A qualidade do projeto é que se estabeleça a qualidade de um produto, ou de um serviço, durante suas fases de concepção e projeto. A qualidade de conformação é como o produto corresponde às especificações exigidas pelo

projeto. A qualidade de conformação avalia quão bem um produto ou serviço atende às especificações do projeto. Ela é embutida no produto durante sua fase de fabricação e depende de inúmeras variáveis do processo produtivo. As especificações de projeto são as medidas fixadas para as características de qualidade do produto. As características são avaliadas em relação às especificações do produto ou serviço e dentro das especificações o produto deve funcionar adequadamente (DAL'CORTIVO, 2005). Qualquer processo de produção está sujeito à variação, por mais que o processo seja “perfeito”, pois um produto ou serviço sempre está sujeito à variabilidade (GRIFFITH, 1996).

#### *1.3.1.1 Nível de qualidade aceitável (nqa)*

Para inspeção de produtos por atributos, em que a variável é binomial, deve-se determinar o Nível de Qualidade Aceitável (NQA) e sua probabilidade de ocorrer proporções de unidades defeituosas que o processo produz e o Nível de Qualidade Inaceitável (NQI) (MONTGOMERY, 2004).

Se o processo estiver operando adequadamente, sob controle, essa proporção gira em torno de proporções de defeituosos que o processo produz ( $p_0$ ). Se o processo não estiver operando adequadamente, há aumento na proporção de defeituosos. Sempre existe o risco (ou chance) de que bons lotes possam ser rejeitados. Este risco é conhecido como risco tipo I, ou risco  $\alpha$  ou risco do produtor. Existe também o risco de aceitar lotes defeituosos, isto é, lotes em que a proporção de defeituosos é superior a  $p_0$ . Este risco é conhecido como risco tipo II, risco  $\beta$  ou risco do consumidor (DAL'CORTIVO, 2005).

#### *1.3.1.2 Planos de amostragem*

Os planos de amostragem que tomam por base o NQA procuram garantir que os produtos, cuja qualidade seja igual ao valor de NQA, terão uma probabilidade de aceitação muito elevada. O risco do produtor de ter lotes de boa qualidade rejeitados será, portanto, pequeno. O risco do consumidor em aceitar lotes de qualidade inferior é considerado apenas indiretamente e avaliado através de curva característica de operação (CCO) do plano escolhido. Do ponto de vista do produtor, o conceito de NQA norteia a escolha dos valores do

tamanho da amostra ( $n$ ) e o limite de aceitação ( $Ac$ ) dos planos de amostragem para diferenciar entre lotes bons e ruins. O NQA é um valor percentual que surge nas operações do produtor, escolhido na base do histórico da qualidade da fábrica ou das estratégias comerciais da empresa. Esse valor representa do ponto de vista do produtor, a preocupação com a rejeição de lotes bons, com o limite mínimo da taxa  $p$  (taxa do processo) de má qualidade, o qual, para valores maiores de  $p$  o lote será julgado inaceitável. O produtor quer acima de tudo, um plano de amostragem com alta probabilidade de aceitar lotes bons e baixíssima probabilidade de rejeitar lotes (MONTGOMERY, 2004). Isso se aplica ao processo de fabricação e não à Vigilância Sanitária, pois, no contexto do risco sanitário a Vigilância Sanitária atua para que o produto desenvolvido nesse processo seja eficiente para cumprir o propósito para o qual foi fabricado, comprovar com efetividade, a eficácia estabelecida e declarada pelo produtor no processo de fabricação.

### 1.3.2 Regulamentação da qualidade dos preservativos

Em 1951 o governo sueco iniciou a regulamentação da qualidade de preservativos, adotando um teste visual para verificação de furos ou vazamento e um teste de insuflação para avaliação da resistência. Nos primeiros cinco anos, a partir de 1951, 43% dos lotes testados foram rejeitados (LINDE, 1973).

Em 1964 o Instituto de Normalização Britânico, *British Standards Institute* (BSI), publicou a primeira edição da norma BS 3704 (BRITISH STANDARDS INSTITUTION, 1964), introduzindo uma inovação cumulativa na avaliação do teste de verificação de furos. Basicamente, existia um limite no número de orifícios por lote de produção e um limite adicional no total acumulado de furos em lotes testados por certo período. O teste de resistência era realizado colocando 3 litros de água no preservativo.

A norma inglesa foi revisada em 1972 alterando o NQA do ensaio de vazamento (reduzindo-o de 1 para 0,5) e incluindo o rolamento do preservativo após o ensaio. Além destas alterações, o corpo de prova circular no ensaio de resistência à tração e o envelhecimento artificial por 12 horas a 70°C, para a metade das amostras ensaiadas, também foram incluídas. Na década de 70,

muitos países publicaram suas próprias normas, incluindo o teste de verificação de furos e algum tipo de teste de resistência. O ensaio de resistência à tração era mais comum, enquanto que o teste de insuflação que avalia o volume e a pressão de estouro era realizado somente na Escandinávia. Em 1976, os Estados Unidos da América (EUA) publicaram a primeira edição da norma *American Society for Testing Materials* (ASTM 3492), com testes similares àqueles usados pelo BSI. A norma americana de ASTM foi revisada em 1996 e 2003 (ASTM, 1976; 1996; 2003).

Em 1974, o Instituto de Normalização da Suécia obteve recursos para desenvolver um padrão internacional de preservativos. A intenção era dar assistência a países em desenvolvimento na aquisição de preservativos de boa qualidade e assegurar que os estoques do produto na Suécia fossem de alta qualidade. Em fevereiro de 1975, em Estocolmo, o Comitê Técnico Internacional de Contraceptivos Mecânicos – ISO/TC 157 foi constituído com a participação de especialistas de 15 países, com representantes de fabricantes, laboratórios de ensaio, organismos de certificação e instituições de pesquisa. O objetivo principal do Comitê ISO/TC 157 era definir os métodos de ensaio e respectivos requisitos mínimos de qualidade para preservativos masculinos de látex de borracha natural (BÓ, 2007).

No final da década de 80, o impacto potencial do HIV se tornou evidente, e o Programa Global de AIDS da OMS foi implantado. Como parte deste programa, a importância dos preservativos foi reconhecida, e as especificações da OMS foram elaboradas, a fim de permitir que tanto a OMS quanto outros compradores adquirissem produtos de boa qualidade para prevenção do HIV. Em 1989 as especificações da OMS foram usadas pela primeira vez (BÓ, 2007) (ENERSOL CONSULTING ENGINEERS, 2006). As inovações das especificações da OMS incluíram:

- Limites mais rígidos para volume e pressão de estouro;
- Envelhecimento acelerado por 7 dias a 70°C;
- Requisitos quanto à quantidade de lubrificante;
- Requisitos para embalagens primárias quanto à forma, material e facilidade da abertura.



A primeira versão completa da norma ISO 4074-1 foi editada em 1990 (ISO, 1990) com exigências dos requisitos e respectivos NQA, além de outras nove partes que incluíam os métodos de ensaios. A partir de 1995, vários países em desenvolvimento adotaram as especificações técnicas de preservativos da OMS como padrão de requisitos de compra.

O agravamento da epidemia da AIDS e o desenvolvimento tecnológico da fabricação de preservativos e da avaliação da qualidade promoveram a publicação periódica de edições revisadas das especificações da OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1995); (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998); (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003) e da norma internacional (ISO, 2002).

A edição da ISO 4074 de 2002 (ISO, 2002), foi consolidada em um único documento e incluiu pela primeira vez requisitos mínimos de testes de estabilidade e a comprovação do tempo de validade (*shelf life*) declarado pelo fabricante.

Em 15 de agosto de 2014 a ISO 4074 foi revisada, anulando e substituindo a primeira edição (ISO 4074: 2002). Em 03 de novembro de 2015, sofreu nova revisão e esta terceira edição anula e substitui a segunda edição (ISO 4074:2014), a qual foi tecnicamente revisada. As modificações são:

- a) O tamanho máximo de um lote foi limitado a 500 000.
- b) Os requisitos específicos para avaliação de biocompatibilidade, conforme definido na ISO 10993-1, foram adicionados.
- c) Recomenda-se que os fabricantes estabeleçam procedimentos para o monitoramento periódico de contaminação microbiana (biocarga) como parte de seu sistema de gestão da qualidade, incluindo os requisitos para a ausência dos agentes patogênicos e limites para a contagem total viável sobre os preservativos acabados específicos; métodos de determinação dos níveis de bioburden (carga microbiana definido como o número de microrganismos presentes em uma superfície que não tenha sido esterilizada) sobre os preservativos são dadas no Anexo G da norma,
- d) Os requisitos específicos para os preservativos de extra forte foram apagados, mas agora há uma exigência geral para que os fabricantes justifiquem quaisquer reivindicações adicionais feitas para os seus

produtos; reivindicações relacionadas à melhoria da eficácia ou segurança tem que ser justificados por investigação clínica.

- e) Um volume mínimo de 28,0 dm<sup>3</sup> *airburst* foi introduzido para preservativos com larguras maiores do que ou igual a 65,0 mm e não mais do que 75,0 mm.
- f) O raio da aresta interior da gola de aperto onde ele contacta com o preservativo que tem que ser insuflado um mínimo de 2 mm (Anexo H).
- g) Os volumes de eletrólito utilizado no teste elétrico para determinar a quantidade de orifícios descritos no Anexo H da norma foram alinhados com os volumes utilizados para o teste de vazamento de água.
- h) Os volumes de água ou eletrólito especificados no teste de determinação de orifícios foram aumentados de preservativos que têm larguras de corpo média maior ou igual a 56 mm e / ou são mais longos do que 210 mm.
- i) Ao realizar o teste elétrico para determinação de orifícios, a tensão agora passa a ser medida a partir do momento em que o preservativo entra na imersão e por até 10 s após a completa imersão.
- j) O método de teste para determinação de orifícios especificados na norma ASTM D3492 foi incluída na referência.
- k) Um limite foi introduzido para o número de preservativos com embalagem visivelmente aberta ao ser avaliado quando são inspeccionados durante o teste para verificação de orifícios descrita no Anexo M da norma.
- l) Requisitos recomendados para propriedades mínimas *airburst* e teste de verificação de orifícios, para preservativos, mais estreitos, 45 mm e / ou menor do que 160 mm foram introduzidas no informativo Anexo P da norma para fornecer orientações às autoridades reguladoras, organismos notificados e outras partes interessadas na avaliação preservativos que caírem fora da faixa de tamanho normativo especificado nesta Norma.
- m) Foram introduzidas alterações aos métodos para a determinação do prazo de validade de preservativos, incluindo um procedimento simplificado para a determinação do prazo de validade por estudos de estabilidade acelerada com base em períodos de envelhecimento fixos a 50 ° C.
- n) O teste para determinação de orifícios, propriedades *airburst* e integridade da embalagem são necessários quando a realização de estudos de estabilidade para estabelecer que os preservativos atendem aos

requisitos mínimos de estabilidade especificados nesta Norma e ao determinar a vida de prateleira de preservativos.

- o) O procedimento para a determinação da espessura de um preservativo pelo método micrometro está descrito em detalhe.
- p) Um método alternativo para remover o lubrificante a partir do preservativo utilizando uma solução aquosa de tensoativo foi introduzido no método para determinação da quantidade de lubrificante no preservativo.
- q) Foram feitas revisões para requisitos de rotulagem, incluindo as informações adicionais fornecidas com o preservativo.

### 1.3.3 Regulamentação brasileira

O Brasil, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), adotou, a partir de 1993, a certificação compulsória de preservativos que consiste na obrigatoriedade de avaliar a qualidade dos lotes antes de serem disponibilizados ao mercado consumidor. Os métodos de ensaio e seus respectivos requisitos foram definidos no Regulamento Técnico da Qualidade (RTQ) 9, editado inicialmente em 1993 e revisado em 1995 (MINISTERIO DA SAUDE, 1995).

Em 1996, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) constituiu, no âmbito do Comitê Brasileiro Odonto-Médico-Hospitalar (CB 26), a Comissão de Estudos de Contraceptivos Mecânicos (CE 26:003.04) como fórum nacional responsável pela normalização de contraceptivos mecânicos, incluindo os preservativos masculinos e femininos, diafragmas e dispositivos intrauterinos. Em 1997, o Brasil iniciou sua participação no comitê ISO/TC 157, sendo o único país com direito a voto da América Latina. Em 1996 foi editada a primeira regulamentação harmonizada de preservativos entre os países membros do MERCOSUL. A revisão desta regulamentação foi publicada em 2002, a RDC nº 3 (ANVISA, 2002), revogada em setembro de 2008 pela RDC nº 62 (ANVISA, 2008) com os todos os requisitos técnicos para os principais ensaios de avaliação de qualidade nos preservativos masculinos. Os ensaios preconizados são: as características dimensionais (comprimento, largura e espessura), quantidade de lubrificante, verificação de furos, integridade da embalagem

primária e resistência através das propriedades de insuflação – volume e pressão de estouro. Este último ensaio é realizado antes e após o envelhecimento acelerado, a 70°C por 7 dias. A rotulagem na embalagem primária e as informações contidas nas instruções de uso também são avaliadas. Os ensaios são destrutíveis e realizados em uma amostra definida pelo tamanho do lote de fabricação, que varia entre 150.000 a 500.000 unidades. Os planos de amostragem e os níveis de inspeção utilizados são estabelecidos na norma ISO 2859-1 (ISO, 1999).

Em linhas gerais, os planos de amostragem, os requisitos e os NQA dos ensaios de avaliação da qualidade de preservativos vigentes no Brasil atualmente são equivalentes aos internacionais. No entanto, a norma nacional difere da internacional principalmente por não contemplar as exigências quanto à comprovação da vida útil dos preservativos e aos requisitos mínimos de estabilidade, além de não incluir o teste para determinação da quantidade de lubrificante e exigências em relação aos defeitos visuais. O Quadro 3 apresenta os requisitos, os NQAs e o número de unidades defeituosas que ainda permite aceitar o lote (Ac) em um número de amostras ensaiadas (N<sup>o</sup>A) dos principais ensaios de preservativos da RDC 62, vigente atualmente no Brasil e demais países do MERCOSUL.

Os testes de insuflação (pressão e volume de estouro), integridade de embalagem primária e quantidade de lubrificante, em conjunto, são úteis para avaliação do desempenho do preservativo (GEROFI; SHELLEY; DONAVAN, 1991). Entretanto, não existe um teste único que avalie a degradação que ocorre nos preservativos ao longo do tempo de validade. Neste sentido, dois requisitos obrigatórios para aprovação de novos modelos de preservativos foram incluídos na versão da norma ISO 4074:2002 de conformidade com os limites mínimos de volume e pressão de estouro ao longo do tempo declarado pelo fabricante como vida útil (*shelf life*), no tempo máximo de cinco anos e conformidade aos mesmos limites, sendo os preservativos submetidos a condições de envelhecimento acelerado em duas condições – (168 ± 2) h a (70 ± 2) °C e (90 ± 1) dias a (50 ± 2) °C. O Quadro 3 apresenta os valores dos requisitos de NQA e os critérios de aceitação dos principais ensaios preconizados na RDC 62/2008.

QUADRO 3 – Valores dos Níveis de Qualidade Aceitáveis (NQAs) e os critérios de aceitação com número de peças defeituosas que permitem aceitar o lote de fabricação dos preservativos masculino estabelecidos na RDC 62/2008 dos principais ensaios.

ENSAIO	REQUISITO	NQA	Ac em N <sup>o</sup> A
Comprimento	≥ 160 mm	4	1 em 13
Largura	± 2 mm da largura declarada	4	1 em 13
Espessura	> 0,03 mm	4	1 em 13
Integridade da embalagem primária	Embalagem primária sem defeito	2,5	1 em 20
Verificação de vazamento	Preservativo sem furo/vazamento	0,25	2 em 315
Pressão Volume (Ambiente e envelhecimento)	P ≥ 1,0 kPa V ≥ 16 dm <sup>3</sup> (Largura < 50 mm) V ≥ 18 dm <sup>3</sup> (50 mm ≥ largura < 56 mm) V ≥ 22 dm <sup>3</sup> (56 mm ≥ largura < 65 mm) V ≥ 28 dm <sup>3</sup> (65 mm ≥ largura ≤ 75 mm)	1,5	7 em 200

Ac em N<sup>o</sup>A - Número de peças defeituosas que permite aceitar o lote em um número de amostras ensaiadas, para lotes de 150.000 a 500.000 unidades.

#### 1.3.4 Certificação compulsória

No Brasil, os preservativos masculinos, a exemplo de outros produtos que possam causar algum tipo de impacto na saúde, na segurança do consumidor ou no meio ambiente, são certificados compulsoriamente. Contudo, o processo de certificação embora avalie com detalhes a produção e o produto ao final da fabricação, não aborda a questão da comercialização nos diversos estabelecimentos como farmácias, drogarias, supermercados, por serem consideradas questões típicas de Vigilância Sanitária.

A RDC nº. 62/2008, baseada na norma ISO 4074 e harmonizada no MERCOSUL, institui o Regulamento Técnico para certificação dos preservativos masculinos de látex de borracha natural e determina a certificação dos preservativos no âmbito do Sistema Brasileiro de Certificação em conformidade com as prescrições do Regulamento Técnico indicado antes de sua venda ou distribuição gratuita aos consumidores (ANVISA, 2008).

O INMETRO acredita organismos de avaliação da conformidade baseados no cumprimento dos requisitos estabelecidos em normas internacionais para diferentes tipos de avaliação da conformidade.

No caso dos preservativos masculinos e de outros produtos de certificação obrigatória, um OCP (Organismo Certificador de Produtos) é autorizado pelo INMETRO a conduzir e conceder a certificação de conformidade, com base em normas nacionais, regionais e internacionais ou regulamentos técnicos, adequados à legislação de cada país. No Brasil, a ANVISA é o órgão regulador e as normas são harmonizadas com o MERCOSUL.

Se aprovado, o produto é liberado para distribuição e consumo, devendo para isso ostentar o selo de conformidade do INMETRO, junto com o selo do organismo certificador. Estes dois selos somados a impressão do número do lote do produto e sua data de validade representam a garantia da conformidade do produto. Ou seja, a garantia de conformidade dos preservativos masculinos, emitida de acordo com as regras de um sistema de certificação, é atribuída por um selo que indica existir um nível adequado de confiança de que o produto está em conformidade com uma norma específica ou documentos normativos.

Em relação à certificação compulsória dos preservativos masculinos, a aprovação nos testes de laboratório indica, segundo a ANVISA, que aqueles preservativos possuem uma eficácia de aproximadamente 99%, ou seja, 99% dos preservativos que possuem o selo de conformidade são eficazes. No entanto, a ANVISA reconhece que a eficiência dos preservativos é de 90%. A respeito dessa diferença entre 99% da eficácia e 90% da eficiência, cumpre lembrar a análise proposta por Norman Hearst e Sanny Chen (HEARST E CHEN, 2003). Para eles, se a eficácia mede o quanto um produto pode funcionar bem quando corretamente utilizado, a eficiência avalia o quanto um produto funciona, de fato, na prática. Em função disso, é praticamente impossível medir a eficácia real de um preservativo, como por exemplo, como dispositivo de proteção contra

ISTs. Apesar de medir a eficiência dos preservativos através da avaliação dos requisitos que garantem o cumprimento da finalidade a que se propõe a certificação do produto não reproduz a efetividade sendo esta característica função da Vigilância Sanitária.

### 1.3.5 Regulamentação no âmbito internacional

Como dispositivos médicos, os contraceptivos mecânicos necessitam de regulamento em termos de aprovação do mercado, a eficácia, a qualidade e a adequação para a sua finalidade. Organismos como *World Health Organization* (WHO), the *United Nations Population Fund*, the *global-health-solutions NGO PATH*, *Consumers International and social marketing agencies*, participam do Comitê Técnico *ISO/TC 157* (Non-systemic contraceptives and STI barrier prophylactics) que abrange todos os contraceptivos mecânicos, incluindo preservativos masculinos e femininos, dispositivos intra-uterino (DIU) e diafragmas de borracha. As normas internacionais desenvolvidas por este Comitê Técnico são usadas por agências de aquisição e os profissionais de *marketing* sociais e são mencionadas extensivamente por quem usa suas especificações na compra de preservativos masculinos e femininos.

A norma de maior importância é a ISO 4074:2002, revisada em novembro de 2015, *Natural latex rubber condoms - Requirements and test methods*. Para pessoas alérgicas ou sensíveis ao látex de borracha natural, a norma ISO 23409:2011, define os requisitos e métodos de ensaio para preservativos masculinos feitos de materiais sintéticos. Produtos compatíveis com as normas ISO dominam o mercado mundial para contraceptivos mecânicos, particularmente de preservativos. Outras normas abordam os contraceptivos como:

- Female condoms (ISO 25841:2011)
- Copper-bearing contraceptive IUDs (ISO 7439:2011)
- Reusable natural and silicone rubber contraceptive diaphragms (ISO 8009:2004)
- Prophylactic dams (ISO 29942:2011)

### 1.3.6 Produção mundial de preservativos masculinos

De acordo com o Plano de Negócio estabelecido pelo Comitê Técnico de Contraceptivo Mecânico (ISO/TC 2005), a produção mundial de preservativos de uso masculino é estimada entre 13 a 15 bilhões de unidades por ano, a um custo de cerca de US\$ 4 bilhões. Pelos cálculos do *Join United Nations Programme on HIV/Aids* (UNAIDS), se, metade da população de 15 a 49 anos usasse preservativos uma vez por semana, seriam necessários 42.250 bilhões de preservativos por ano - 2,7 vezes maior do que a produção mundial de 15,35 bilhões anuais, e, com a política centrada no acesso da população a medicamentos, outro desafio desponta neste cenário: a incapacidade mundial de produzir a quantidade necessária de preservativos (OPAS, 2010).

As dificuldades dos governos para aquisição do produto já são sentidas. Quando ocorrem licitações que envolvem grandes quantidades de preservativos, no Brasil, há um pequeno número de empresas capacitadas para disputa. A maior parte dos produtores prefere destinar seu produto para a fabricação de pneus pois, a borracha não precisa ser de alta qualidade diferente do que ocorre com as destinadas a fabricação dos preservativos (FORMENTI, 2010).

### 1.3.7 *Marketing* dos preservativos masculino

A definição de "*Marketing social*" é semelhante à de Marketing Comercial. A principal diferença é a finalidade do "*Marketing social*", que tem como fundamento influir nas pessoas, especialmente aquelas com baixa condição socioeconômica, para levarem uma vida mais saudável (ANDREASEN, 1995);

O setor privado alia-se ao "*Marketing social*" e influencia no comportamento de seus clientes, levando-os a comprar produtos, como por exemplo, determinadas marcas de preservativos. Os resultados no setor privado são medidos através das vendas e da posição que um determinado produto ocupa no mercado, em uma dada região ou país. O "*Marketing social*" introduz nas suas ações a educação da população, o produto, a fim de motivar a adoção de um comportamento saudável, com a provisão de produtos e serviços de



relevância para as populações de baixa renda. Usa a rede comercial existente para distribuir os seus produtos.

Os produtos e serviços promovidos pelo “*Marketing social*” sempre são de uma marca que seja sedutora, de baixo custo, e devem estar disponíveis no mercado para a população em situação de pobreza. Por meio de uma marca específica, o produto é promovido com a utilização de múltiplos meios de comunicação, que podem incluir desde os meios de comunicação em massa até a intervenção face a face, especialmente com grupos populacionais mais vulneráveis (ANDREASEN, 1995); (HARVEY, 1999).

Outro aspecto fundamental de um programa de “*Marketing social*” se refere à distribuição do produto. Os programas têm a capacidade de atingir milhões de consumidores, através de milhares de pontos comerciais em pouco tempo. O uso da rede comercial existente permite uma distribuição rápida de produto e informação, inclusive nos considerados canais alternativos de venda, promovendo rapidamente o produto (ANDREASEN, 1995). Apesar de existirem programas de “*Marketing social*” de preservativos em aproximadamente 61 países, o rápido aumento nas vendas alcançado pelo Zaire, pela promoção através do “*Marketing social*” continua sendo um recorde até então não alcançado.

#### 1.4 VIGILÂNCIA SANITÁRIA

Em meio ao debate da Constituição Federal em 1988, a planos de estabilização da economia, à corrosão da credibilidade do governo e a uma inflação de cerca de 80% ao mês, a sociedade brasileira experimentava, no final da década de 80, uma profunda descrença nas instituições públicas e uma importante reorganização das forças políticas e sociais do país. A 8ª Conferência Nacional da Saúde, realizada em março de 1986, foi considerada um marco histórico para a saúde brasileira, pois consagrou os princípios preconizados pelo Movimento da Reforma Sanitária e impulsionava a criação do Sistema Unificado e Descentralizado de Saúde (SUDS) em 1987. Este representava uma consolidação das Políticas de Ações Integradas de Saúde (AIS), adotando como diretrizes a universalização e a equidade no acesso aos serviços, a integralidade dos cuidados, a regionalização dos serviços de saúde, a implementação de

distritos sanitários, a descentralização das ações de saúde, o desenvolvimento de instituições colegiadas gestoras e o desenvolvimento de uma política de recursos humanos (GADELHA; MARTINS, 1988).

A Lei nº 8080, promulgada em 19 de setembro em 1990, operacionaliza as disposições constitucionais, através dos objetivos e atribuições do Sistema Único de Saúde (SUS), em seus três níveis de governo. A intitulada “Lei Orgânica de Saúde”, que compreende também a Lei nº 8142, de 28 de dezembro de 1990 sobre a participação popular no SUS, veio dispor sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, assim como a organização e funcionamento dos serviços correspondentes. O artigo 6º define, pioneiramente, o conceito de Vigilância Sanitária e sua abrangência em controlar bens de consumo relacionados com a saúde. Assim, pode-se melhor compreender, tardiamente, o que determina a Lei nº 6360/76, que dispôs sobre a Vigilância Sanitária de produtos.

A Vigilância Sanitária, tal como foi instituída no Brasil, abrange a regulação de ampla gama de produtos e serviços, de natureza diversa, agrupados nos grandes ramos: dos alimentos; dos medicamentos; dos produtos biológicos, tais como vacinas e derivados de sangue; dos produtos médicos, odontológicos, hospitalares e laboratoriais; dos saneantes e desinfetantes; dos produtos de higiene pessoal, perfumes e cosméticos, além do controle sanitário dos portos, aeroportos e estações de fronteiras e da ampla gama de serviços de interesse à saúde. A variedade e grau de complexidade das tecnologias envolvidas nesses produtos e serviços confere à Vigilância Sanitária uma natureza de alta especialização. Cada um dos produtos ou grupos de produtos acima citados constitui um universo próprio, passível de estudo cuja realização exige conhecimentos de diferentes disciplinas (LUCCHESI, 2001).

#### 1.4.1 A criação da ANVISA

Em meados da década de 1990, a entrada da Vigilância Sanitária na agenda política e a segunda fase de reformas do Estado, constituíam o cenário especialmente favorável para a desejada reestruturação da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS).

Os rumos da prática de Vigilância Sanitária começaram a mudar no Brasil, inegavelmente, a partir da criação da ANVISA, através da Lei Nº 9.782 de 26 de janeiro de 1999, e conseqüentemente do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS). A criação de uma agência de regulação para atuar no campo de Vigilância Sanitária proporcionada através da definição de um marco legal, veio conferir uma profissionalização do setor, com ganho de autonomia, estabilidade dos dirigentes e blindagem contra interferências políticas, ponderando que, sua possibilidade de atuação são elementos ainda poucos (re) conhecidos apesar de sua importância para a saúde pública, (LUCESSE, 2001).

A Vigilância Sanitária acopla a necessidade da dimensão educativa à possibilidade da ação punitiva formal. Vista dessa forma, a Vigilância Sanitária é um dos braços executivos que operacionalizam o SUS na busca da concretização do direito social à saúde. Sua função principal é eliminar ou minimizar o risco sanitário envolvido na produção, circulação e consumo de certos produtos, processos e serviços tendo um papel importante na estruturação do SUS, principalmente devido à: (RIOS, 2009).

- Ação normativa e fiscalizadora sobre os serviços prestados, produtos e insumos terapêuticos de interesse para a saúde;
- Permanente avaliação da necessidade de prevenção do risco;
- Possibilidade de interação constante com a sociedade, em termos de promoção da saúde, da ética e dos direitos de cidadania

#### 1.4.2 ANVISA e os correlatos

Com o funcionamento da ANVISA, várias resoluções normativas para correlatos foram editadas. A Resolução nº 444 de 31 de agosto de 1999, estabeleceu um modelo de certificação adotado para garantir a segurança sanitária de equipamentos (ANVISA, 2005). Hoje apenas os produtos eletromédicos e os preservativos contam com regulamento específico para realização de teste compulsório vinculado ao registro e acompanhamento do desempenho do produto. As RDCs da ANVISA eram publicadas para operacionalizar o processo de registro e também outros processos de extrema relevância para a qualidade dos produtos para a saúde (BELLI, 2006).

A RDC nº 59, de 27 de junho de 2000, que definiu as boas práticas de fabricação para os correlatos e seu respectivo certificado, é uma norma de grande importância e muito conhecida pelo setor regulado. Alguns itens, relativos ao controle de projeto de produção, à existência da aprovação expressa das características especificadas, às evidências de que o projeto foi examinado e aprovado por pessoa designada e qualificada ou pelo responsável técnico, e ao procedimento de liberação de produção do fabricante, devem ser averiguados durante as fiscalizações, conforme a lista de conferência desta norma. Estes quesitos remetem a responsabilidade administrativa ao fabricante ou à pessoa jurídica encarregada pelo desenvolvimento do produto, ainda imputando ao responsável técnico a responsabilidade civil e criminal em caso de problemas (LUCCHESI, 2001).

A RDC nº 59/00 determina a revisão de projeto do dispositivo médico através de um exame sistemático e completo para avaliar a adequação do produto aos seus requisitos e a capacidade do projeto em satisfazê-los, para identificar os problemas do projeto em relação aos requisitos, e para propor soluções para esses problemas. Entre os requisitos mencionados está a segurança e eficácia. A verificação do projeto, responsabilidade do fabricante, é a evidência objetiva de que os requisitos especificados foram alcançados, e inclui o exame dos resultados de uma atividade para determinar a conformidade com as especificações estabelecidas e assegurar que o produto esteja adequado ao uso pretendido. Outras normas complementares à atividade de inspeção em fabricantes de produtos médicos foram estabelecidas, como a RDC nº 354, de 23 de dezembro de 2002, que aprova o certificado de boas práticas de armazenamento e distribuição para produtos para a saúde, e a RDC nº 331, de 29 de novembro de 2002 que institui a auto inspeção para o cumprimento das boas práticas de fabricação de produtos médicos para estabelecimentos que fabriquem, importem, distribuam ou armazenem produtos médicos (LUCCHESI, 2001).

Após extenso período em aberto e consulta pública, a RDC nº 56 foi publicada em 06 de abril de 2001. Caracteriza-se por ser uma internalização da Resolução MERCOSUL/GMC/Res. nº 72/98, e trouxe os requisitos mínimos para comprovar a segurança e eficácia de correlatos, tratados nesta resolução como produtos para saúde. A partir de então, o cumprimento dos requisitos relativos à

segurança e eficácia do produto para saúde deveria ser verificado pela autoridade de vigilância sanitária competente na produção, no registro, na fiscalização e no comércio. Também devido à necessidade de internalizar a Resolução GMC nº 40/00 do MERCOSUL, que tratava do registro de produtos médicos e da atualização dos procedimentos para registro de produtos correlatos, foi editada a RDC nº 185 em 22 de outubro de 2001 (LUCCHESI, 2001). Entretanto, apesar desse e de outros esforços para padronização de normas, não se observa resultado ou benefício relativo ao comércio de produtos médicos entre os países do MERCOSUL. A RDC nº 185/01 define o termo “produto médico”, não utilizando mais o vocábulo “correlato”, ou “produto para saúde” (diferentemente da RDC nº 56/01 que adota produtos para saúde), e rege os processos de registro até o presente. A RDC nº 185/01 é caracterizada pela modernização, pois remete à utilização de recursos de informática, dispondo um manual pormenorizado das etapas necessárias para o registro na internet, para livre consulta (ANVISA, 2005), requerendo os dizeres de rotulagem e as instruções de uso do produto para a disponibilização no *sítio* da ANVISA.

### 1.5 ANVISA E A TECNOVIGILÂNCIA

A avaliação de pré-comercialização de produtos para saúde surge oficialmente como parte do escopo da regulação sanitária, a partir da Lei Federal nº 6.360/76. Os produtos para saúde só podem ser comercializados no Brasil após registro no Ministério da Saúde. Essa obrigatoriedade visa garantir que os produtos destinados aos cuidados de saúde e sujeitos à legislação sanitária somente sejam disponibilizados para a sociedade para utilização e/ou consumo, após o cumprimento das exigências sanitárias legais. Esses critérios visam disciplinar o mercado, assegurando à população produtos seguros e eficazes para o uso a que se propõem e que possuam identidade, atividade, qualidade, pureza e inocuidade necessárias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A partir da criação da ANVISA, iniciou-se o processo de reestruturação e organização das ações de Vigilância Sanitária no Brasil visando ao estabelecimento dos focos de observação da realidade sanitária, direcionados para a identificação da relação dinâmica e associada à interação entre produtos

e/ou serviços de saúde aos seus consumidores, no âmbito da pós-comercialização (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

O gerenciamento de riscos na saúde, historicamente, se iniciou nos EUA, a partir de meados da década de 20, no contexto da “crise do erro médico”, quando gerou processos e sistemas operacionais centrados na prevenção, detecção, controle ou eliminação de riscos capazes de causar danos aos pacientes/clientes. O programa de gerenciamento de riscos, desenvolvido naquele país, constituiu-se em uma das atividades internas voltadas para a garantia da qualidade da assistência prestada. Posteriormente, foi implantado em outros países da Europa, Oceania e América Latina (KUWABARA, 2010).

A tecnovigilância é o sistema de vigilância de eventos adversos e queixas técnicas de produtos para a saúde na fase de pós-comercialização, com vistas a recomendar a adoção de medidas que garantam a proteção e a promoção da saúde da população. Visa à segurança sanitária de produtos para saúde pós-comercialização. Para o alcance de tal objetivo são realizados estudos, análises e investigações a partir de um conjunto de informações reunidas a respeito do desempenho do produto obtidas das notificações enviadas aos órgãos de Vigilância Sanitária (SÃO PAULO, 2015).

A tecnovigilância, não apenas a palavra constitui um neologismo, foi um conceito inovador desenvolvido pela ANVISA. Foi a primeira vez que se realizaram esforços de avaliação de tecnologias da saúde, eficácia e segurança *a priori*, antes de sua comercialização no Brasil e se construir, assim, uma linha de base para observá-las durante o período de comercialização. Este início de resposta à necessidade da sociedade aconteceu também devido à pressão dos reguladores internacionais por harmonização de conceitos e estruturas, como a *Global Harmonization Task Force* (GHTF), principalmente a respeito das exigências das Agências de Vigilâncias Pós Comercialização. Desde a definição inicial, os espaços e a capacidade instalada de trabalho da tecnovigilância variaram em inserção organizacional e latitudes possíveis de execução das responsabilidades designadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Na estrutura organizacional da ANVISA, a Unidade de Tecnovigilância (UTVIG) foi criada em 2001 com a responsabilidade de desenvolver diretrizes para o controle de riscos, qualidade e segurança dos equipamentos, material médico-hospitalar e dos produtos para diagnóstico de uso *in vitro*

comercializado. Essa Unidade estava inserida na estrutura da Gerência Geral de Segurança Sanitária de Produtos de Saúde Pós-Comercialização, que foi extinta em 2003. Na ocasião, a Unidade de Tecnovigilância foi incorporada à Gerência Geral de Tecnologia de Produtos para a Saúde. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Segundo a ANVISA em função de limitações da rede laboratorial para atender às demandas da tecnovigilância, a condução de grande parte das investigações das notificações em tecnovigilância ficam condicionadas aos exames documentais de pareceres, inspeções e registros do sistema interno de controle da qualidade do fabricante ou detentor do registro ou às análises laboratoriais patrocinadas pelos mesmos. Esse é um desafio a ser superado para que a tecnovigilância responda adequadamente às notificações recebidas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

#### 1.5.1 A ANVISA e o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS)

É a Administração Pública que expressa e direciona as ações do Estado. O Direito de Defesa do Consumidor foi estabelecido na Constituição Federal de 1988 e o Estado promulgou a Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990, conhecida como o Código de Defesa do Consumidor. De acordo com o Código, o consumidor é o elo mais vulnerável da cadeia de consumo de produtos e serviços. O Código reconhece que cabe ao estado proteger o consumidor e estabelece que a ação governamental terá esse sentido “pela garantia dos produtos e serviços com padrões adequados de qualidade, segurança, durabilidade e desempenho” (Art. 4º, item II – d) (JORGE, 2000).

O INCQS, Unidade Técnico Científica da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), órgão do Ministério da Saúde, faz parte do SNVS e tem como missão “Contribuir para a promoção e recuperação da saúde e prevenção de doenças, atuando como referência nacional para as questões científicas e tecnológicas relativas ao controle da qualidade de produtos, ambientes e serviços vinculados à vigilância sanitária” possuindo capacidade limitada no que se refere as análises laboratoriais de produtos para a saúde.

## 1.6 POLÍTICA PÚBLICA E OS PRESERVATIVOS

### 1.6.1 AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)

A notificação de infecção pelo HIV nas Américas foi recomendada em uma reunião técnica promovida pela OPAS/OMS no Panamá em novembro de 2012, intitulada “Consulta Regional para América Latina e Caribe sobre informação epidemiológica da infecção pelo HIV”. Em novembro de 2013, a “Oficina de Avaliação das Informações sobre o HIV no Brasil”, realizada em Brasília, contando com a participação do Centro de Controle e Prevenção de Doenças Americano, a OMS/OPAS, o Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS (UNAIDS), a academia, além de especialistas de Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde do Brasil, reforçaram a importância da notificação universal do HIV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Até junho de 2014, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) 70.677 casos de infecção pelo HIV entre adultos e 773 em crianças (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Os progressos realizados no tratamento da infecção por HIV incluem o desenvolvimento e utilização de diferentes grupos de medicamentos antirretrovirais (nucleosídeo e inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, inibidores da protease e, mais recentemente, os inibidores de integrase). A combinação destes medicamentos sob a forma de tratamento é definido por esquemas baseados em protocolos clínicos validados e constitui a chamada terapia antirretroviral altamente eficaz (HAART). Implementado desde o final de 1990, o HAART, em conjunto com várias medidas de prevenção e de controle, resultaram em melhorias importantes na expectativa de vida e qualidade de vida para as pessoas que vivem com HIV / AIDS nos países em desenvolvimento e em populações marginalizadas nos países desenvolvidos, com uma importante redução da morbidade e mortalidade (WOOD; MONTANER; BANGSBERG, 2003); (TEIXEIRA et al, 2014).

O Brasil reitera seu compromisso da meta 90/90/90 até 2020: 90% de pessoas vivendo com HIV/AIDS com conhecimento do seu estado sorológico; 90% das pessoas HIV+ em tratamento; 90% das pessoas em tratamento com carga viral indetectável (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).



### 1.6.2 Diretrizes de prevenção

No Brasil, o uso de preservativos representa uma política de ponta na prevenção. O Ministério da Saúde, preocupado com o aumento de casos de ISTs, devido a possíveis existências de desvio de qualidade nos preservativos ou do desinteresse da população no uso por conta da existência de terapia medicamentosa, aliou o programa de distribuição dos preservativos, para serem usados pela população em todas as relações sexuais (vaginal, anal, oral), com o chamado de PEP, profilaxia pós-exposição sexual, (*Efficacy of postexposure prophylaxis*), recomendando, desde outubro de 2010, o uso dos medicamentos antirretrovirais, como medida de prevenção, que consiste no consumo de medicamentos até 72 horas após a relação sexual, quando ocorrer falha ou não uso de preservativo (OPAS, 2010). Entretanto, apesar dos avanços e investimentos nos tratamentos e em novas tecnologias de inovação para o desenvolvimento de novos produtos que possam levar o mundo a atingir as metas estabelecidas pela OMS, o uso do preservativo na prevenção das infecções, principalmente do HIV, pela via sexual, continua sendo uma das fortes diretrizes de maior importância nas políticas públicas de prevenção as ISTs e AIDS em todo mundo (SCARAMUZZA, 2014).

As campanhas de saúde enfatizam a importância do uso do preservativo, o qual sempre foi e continua sendo plenamente seguro em prevenir HIV/AIDS e outras ISTs, além de evitar a gravidez indesejada. Segundo o Departamento de ISTs, AIDS e Hepatites Virais do Ministério da Saúde, "os preservativos oferecem 10 mil vezes mais proteção contra o vírus da AIDS do que a sua não utilização. Sua segurança já foi testada e comprovada em laboratório. Pesquisadores já esticaram e ampliaram duas mil vezes o látex do preservativo masculino e não foi encontrado nenhum poro" (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

O Brasil registrou, em 2015, recorde no número de pessoas em tratamento de infecção por HIV e AIDS: 81 mil brasileiros começaram a se tratar no ano passado, um aumento de 13% em relação a 2014, quando 72 mil pessoas aderiram aos medicamentos. De 2009 a 2015, o número de pessoas em tratamento no SUS aumentou 97%, passando de 231 mil para 455 mil pessoas. Isso significa que, em seis anos, o país praticamente dobrou o número de brasileiros que fazem uso de antirretrovirais.

Apesar dos bons números relacionados ao acesso e adesão ao tratamento, a AIDS ainda é uma doença sem cura que pode ser evitada através da prevenção. A campanha de carnaval, veiculada entre os dias 27/01/2016 e 06/02/2016, tem como *slogan* “*Deixe a Camisinha Entrar na Festa*”. Ela reforça o preservativo como a mais importante arma de combate ao HIV/AIDS, trabalhando a mensagem de prevenção nas ações pré-carnaval e durante as festas. Entre as peças estão filme, *jingle* para veiculação em rádios e versão estendida da música para os trios elétricos e carros de som. Foram investidos cerca de R\$ 14 milhões na iniciativa (SAÚDE, 2016).

### 1.6.3 Economia em saúde

Em 2011, a despesa nacional relacionada à infecção pelo HIV constituiu pela primeira vez, a maior parte das despesas relacionadas ao HIV em países de baixa e média renda em todo o mundo. Na África, apenas seis países da região alcançaram a meta da Declaração de Abuja de alocar 15% da despesa nacional sobre o setor de saúde. De 33 países da África subsaariana, 26 recebem mais de metade do financiamento para o HIV de fontes internacionais, 19 dos quais dependem de fontes externas, pelo menos, 75% da despesa relacionada ao HIV (TRATAMENTO, 2015).

O custo do tratamento de um paciente portador de AIDS, desde o diagnóstico até o óbito, é de aproximadamente US\$ 60.000 a US\$ 75.000, sendo que cada hospitalização custa em média US\$ 15.000. Somente o uso de zidovudina ou AZT (azidotimidina) custa US\$ 4.000 por ano (KOURI, 1991).

A evolução nos gastos com aquisição de antirretrovirais, no Brasil, foi avaliado por Grangeiro *et al* (2006), demonstrando preocupação com a sustentabilidade a longo prazo devido ao aumento na expectativa de vida dos pacientes e a incidência de novos casos (GRANGEIRO *et al*, 2006).

Os impactos sociais da AIDS são de extrema significância, seja por conta do aumento do número de infectados pelo HIV, seja pela letalidade da doença. Os seus reflexos na economia, são igualmente relevantes, pois, na grande maioria dos casos, a doença atinge a população economicamente ativa, e os custos do tratamento são bastante elevados. No caso específico do Brasil, deve-se acrescentar a esse cenário o fato de que os pacientes HIV/AIDS têm sido assistidos, com maior frequência, em hospitais públicos credenciados e ambulatórios especializados (NUNN, 2009).

Eliminar o déficit de recursos de infecção pelo HIV mobilizando recursos por meio de fontes nacionais e internacionais, incluindo mecanismos de financiamento inovadores. Isso irá requerer uma combinação de várias fontes de financiamento para mobilizar o nível necessário de recursos, a fim de “fechar o hiato de recursos em 2015/2016 e chegar a investimento global anual de 22-24 bilhões de dólares nos países de baixa e média renda”. Os doadores internacionais terão de fechar lacunas em investimentos por meio de apoio continuado a programas bilaterais vitais e através de financiamento robusto para o Fundo Global de Combate à AIDS, Tuberculose e Malária, e UNAIDS (TRATAMENTO, 2015).

#### 1.6.4 Surgimento de novos desafios

O surgimento do surto de supergonorreia, assustando as autoridades de Saúde da Inglaterra, em setembro de 2015, traz em voga a importância do uso do preservativo (SURTO DE SUPERGONORREIA, 2015).

Ao mesmo período, o Brasil enfrenta uma epidemia pela infecção causada pelo *Zika vírus* transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti* que provoca sintomas parecidos com os da dengue. O aparecimento do *Zika vírus* e uma potencial transmissão sexual reforça o incentivo ao uso do preservativo, que eleva ainda mais a importância deste produto no contexto da Saúde Pública.

Em dezembro de 2015 o Ministério da Saúde lançou o Protocolo de Atenção à Saúde e Resposta à ocorrência de Microcefalia Relacionada à Infecção pelo Vírus Zika. Apesar de a transmissão ser similar à da dengue, acredita-se que durante a manifestação dos sintomas, o vírus pode ser transmitido pelo sangue ou pela relação sexual, e, provavelmente, também poderia ocorrer na amamentação.

Este Protocolo visa a nortear os profissionais da atenção à saúde, por meio de orientações e diretrizes para as ações de prevenção da infecção pelo vírus Zika em mulheres em idade fértil e gestantes, para a atenção no pré-natal, parto e nascimento e para a assistência aos nascidos com microcefalia, em todo o território nacional. Segundo este protocolo, as equipes de Atenção Básica e de Saúde da Família têm papel fundamental na promoção da saúde sexual e reprodutiva e devem reforçar as ações de oferta, incentivo e ampliação do acesso aos métodos contraceptivos, principalmente dos preservativos masculinos, para a população, com atenção especial ao acompanhamento das mulheres de seu território que estão em idade fértil (BRASIL. Ministério da Saúde, 2015).

Segundo a OMS, até o dia 14 de abril de 2016, sete países (EUA, França, Itália, Nova Zelândia, Chile, Argentina e Peru) tinham registros da transmissão sexual do Zika vírus.

Embora recomendado pela OMS e pelo Centro de Controle de Doenças dos EUA (CDC), o uso de preservativos pelas grávidas e seus parceiros é controverso no Brasil. O Departamento de ISTs, AIDS e Hepatites Virais, do Ministério da Saúde, publicou uma nota endossando essa orientação.

A hipótese de transmissão sexual ganhou força, com vários países relatando casos, e não podemos descuidar, principalmente, das gestantes. “A camisinha deve ser usada durante a gravidez”, diz o médico epidemiologista Fabio Mesquita, diretor do departamento de DST/AIDS (COLLUCCI, 2016).

## 1.7 QUALIDADE DOS PRESERVATIVOS MASCULINO

Em todo o mundo, existem atualmente em vigência mais de 30 normas para preservativos masculinos, e, todas, baseadas na norma ISO 4074.

O único método prático para avaliação da qualidade de preservativos é a caracterização de uma amostra representativa de um lote ou de uma série de lotes. Isso porque os preservativos de borracha natural são artigos produzidos em lotes de produção em grande quantidade, que variam de 150.000 a 500.000 unidades. Dessa forma, ocorrem inevitavelmente variações individuais na qualidade do produto (BÓ, 2007).

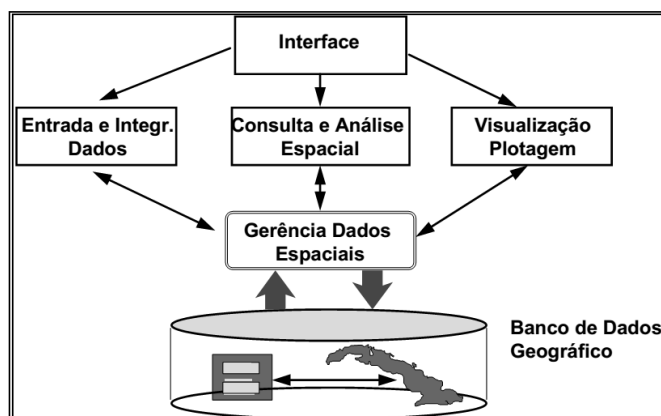
## 1.8 ANÁLISE ESPACIAL E GEOPROCESSAMENTO

A incorporação de técnicas de geoprocessamento na área de Saúde tem história relativamente recente e depende de um conjunto de bases tecnológicas e metodológicas. De um lado, o desenvolvimento tecnológico deve ser apoiado em problemas concretos na prática de Saúde para não incorrer tecnicismo ou na adoção de procedimentos inaplicáveis no dia-a-dia dos serviços. Do outro lado, esses serviços devem incorporar meios automatizados de coleta e análise desses dados espaciais para superar as dificuldades de manipulação desses dados (SANTOS; BARCELLOS, 2006).

O geoprocessamento pode ser definido como um conjunto de técnicas computacionais necessárias para manipular informações espacialmente referidas. Aplicado a questões de Saúde Coletiva permite o mapeamento de doenças, a avaliação de riscos, o planejamento de ações de Saúde e a avaliação de redes de atenção. O termo Geoprocessamento pode ser entendido como conjunto de técnicas de coleta, tratamento, manipulação e apresentação de dados espaciais (SANTOS; BARCELLOS, 2006).

A principal vantagem desta estratégia de georreferenciamento de dados é a possibilidade de serem produzidas diferentes formas de agregação de dados, construindo-se indicadores para diferentes unidades espaciais conforme o interesse (BARCELLOS, 2002). A Figura 9 apresenta a arquitetura de SIGs (CÂMARA et al, 2002).

Figura 9 - Arquitetura de Sistemas de Informações Geográficas



Fonte: <http://www.dpi.inpe.br/gilberto/tutoriais/analise/cap1.pdf>

Com o uso de Sistemas de Informações Geográficas (SIG), a implantação de endereços nos registros de saúde e o uso crescente de Sistemas de Posicionamento Global (GPS) nas ações de vigilância em saúde, é possível dispor de eventos de saúde na forma de pontos em um mapa com escala local (VINE; DEGNAN; HANCHETTE, 1997).

A utilização de SIG possibilita realizar análises espaciais complexas, pois permite integração de dados de diversas fontes, manipulação de grande volume de dados e recuperação rápida de informações armazenadas (SANTOS; BARCELLOS, 2006).

## 1.9 TESTES DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE

### 1.9.1 Ensaio físicos

Os ensaios físicos são os únicos testes de avaliação de qualidades dos preservativos masculinos preconizados pela RDC 62/2008.

- a) Propriedades dimensionais - As propriedades dimensionais estão intrinsicamente ligadas aos ensaios de capacidade volumétrica e de pressão de estouro. Dependendo das medidas de comprimento e largura nominal o volume de ar para o "airburst" serão diferenciados. A espessura aponta a possibilidade de ruptura do preservativo. Do ponto de vista do risco sanitário as propriedades dimensionais tornam-se um instrumento necessário nas

políticas governamentais de incentivo ao uso, levando-se em conta as diferenças étnicas e os preconceitos sociais.

- b) Verificação da capacidade volumétrica e pressão de estouro – Segundo as especificações da OMS (WHO, 2013), e as normas de qualidade de preservativos (ISO 4074, 2002) (ASTM D 3492, 1976), essas propriedades são os melhores indicadores de desempenho do produto. O teste de insuflação mede ambas as propriedades e, é realizado na maior parte do produto e existe sensibilidade comprovada na relação entre esses parâmetros e a degradação do filme de borracha natural (GEROFI; SHELLEY; DONOVAN, 1991). É um teste padronizado em normas internacionais e nacionais o que possibilita assegurar a consistência dos resultados. Sua importância está no fator de avaliação do produto o que poderá levar a impedir agravos na utilização.
- c) Integridade da embalagem - Este teste avalia principalmente a vedação da embalagem primária do preservativo. Em relação ao risco sanitário, a vedação da embalagem primária está ligada a possibilidade de contaminação e degradação do produto o que pode levar a falhas na hora do uso.
- d) Verificação de orifícios – Considerado o teste de maior rigor em todas as normas existentes. A impossibilidade de detecção dos micros furos pelo usuário constitui um dos maiores riscos sanitários, pois pode levar a sérios agravos a saúde pública.
- e) Embalagem e rotulagem – Do ponto de vista do risco sanitário as informações de relevância, se forem omitidas e incorretas, e a característica da embalagem, respectivamente, podem influenciar na utilização ou não do produto, e, pode danificar o preservativo no momento de abertura da embalagem primária para o uso o que poderia levar a sérios agravos.

### 1.9.2 Avaliação microbiológica

As revisões da ISO 4074 em agosto de 2014 e novembro de 2015 mostram a importância da avaliação microbiológica nos preservativos masculinos para prevenir possíveis riscos de agravos por contaminação microbiológica. Segundo a revisão da ISO 4074/2015 “Recomenda-se que os fabricantes estabeleçam

procedimentos para monitorar periodicamente contaminações microbianas (biocarga) como parte de seu sistema de gestão da qualidade, incluindo os requisitos para a ausência dos agentes patogênicos e limites para a contagem total viável sobre os preservativos acabados específicos; métodos de determinando níveis “*bioburden*”<sup>1</sup> para os preservativos.

### 1.9.3 Avaliação de citotoxicidade

A revisão da ISO 4074 de novembro de 2015 aponta a importância desta avaliação em relação ao risco sanitário, inserindo os requisitos específicos para avaliação de biocompatibilidade, conforme definido na ISO 10993-1<sup>2</sup>.

---

<sup>1</sup> Bioburden ou biocarga é um termo genérico para descrever a quantidade total de microorganismos presentes em determinada amostra.

<sup>2</sup> ISO 10993-1, Avaliação biológica de dispositivos médicos - Parte 1: Avaliação e teste, dentro de um Processo de Gestão de Risco, é o padrão mais amplamente utilizado para avaliar a biocompatibilidade de dispositivos médicos e materiais, e fornece um quadro para determinar os passos apropriados para a biocompatibilidade no planejamento de uma avaliação biológica.



## 2 PROBLEMATIZAÇÃO E JUSTIFICATIVA

A Vigilância Sanitária, como parte integrante do SUS é uma competência de caráter prioritário por sua natureza preventiva e corretiva, devendo atuar na melhoria de qualidade de vida da população. Suas ações estão voltadas para a prevenção, diminuição e eliminação dos riscos à saúde da população, decorrentes do meio ambiente, da produção, da circulação de bens e da prestação de serviços. Como política pública, não difere das outras e deve buscar o aperfeiçoamento através de uma atuação eficaz, planejada, evitando a sobreposição de ações ou ausência delas, sendo o monitoramento da qualidade dos bens e produtos destinados à saúde na pós-comercialização fundamental vertente.

A epidemia da AIDS, pelo caráter incurável da doença, com um custo socioeconômico sem precedentes, apresentou-se como um importante desafio para a Saúde Pública. Nesse cenário, a redução de danos e a prevenção se destacaram como estratégias fundamentais para o enfrentamento dessa epidemia. Com isso, a importância do preservativo masculino como instrumento na prevenção de homens e mulheres contra o contágio por ISTs e AIDS e da gravidez não desejada trouxe consigo a preocupação crescente de autoridades de Saúde de todo o mundo sobre a qualidade desse produto.

Os preservativos masculinos disponíveis no Brasil, tanto nacionais quanto os importados são certificados compulsoriamente e têm sua produção regida por rigorosos critérios, que abrangem aspectos que vão da qualidade do látex até as especificações para as embalagens primárias, de consumo e transporte. Contudo, o processo de certificação embora avalie com detalhes a produção e o produto ao final da fabricação, não aborda a questão da comercialização nos diversos estabelecimentos como farmácias, drogarias, supermercados, por serem consideradas questões típicas de Vigilância Sanitária.

O SUS tem como diretrizes principais a descentralização, a integralidade do atendimento com a prioridade à prevenção e a participação da comunidade. A atividade de Vigilância Sanitária, portanto, não somente faz parte das competências do SUS como tem caráter prioritário por sua natureza essencialmente preventiva. O que permite que se perceba e analise a Vigilância Sanitária como um espaço de intervenção do Estado, com a propriedade - por

suas funções e instrumentos - de trabalhar no sentido de adequar o sistema produtivo de bens e serviços de interesse sanitário e os ambientes às demandas sociais de saúde, para os indivíduos e para a coletividade, assim como às necessidades do sistema de saúde. Dessa forma, embora exista um programa do Ministério da Saúde que ateste a importância da qualidade dos preservativos nos resultados de uso e a existência de Normas de qualidade para certificação do produto, não existem, com foco no risco sanitário, estudos efetuados na América Latina a respeito da qualidade dos mesmos.

Dessa forma, esse estudo propõe uma metodologia que seja capaz de viabilizar e servir de suporte para as ações de Vigilância Sanitária no monitoramento da qualidade dos preservativos masculinos comercializados em nível nacional, pois, a necessidade de uma tecnovigilância ativa e sistematizada, de atuação específica, com o olhar do risco sanitário na qualidade deste produto, e que, o SNVS não pode prescindir dos laboratórios de Saúde Pública.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 GERAL**

Estabelecer um modelo de tecnovigilância sistematizado e ativo para preservativos masculinos de látex natural.

#### **3.2 ESPECÍFICOS**

- Desenvolver e propor um desenho de estudo e estabelecer um modelo de monitoramento dos preservativos comercializados no mercado nacional.
- Propor ao modelo estabelecido, ensaios analíticos das áreas de Microbiologia e Toxicologia (Citotoxicidade), ainda não contempladas na legislação em vigor.
- Realizar, como suporte às ações de Vigilância Sanitária, para maior rastreabilidade, estudo de análise espacial de geoprocessamento nas amostras de preservativos “pulverizadas” no comércio.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os testes de avaliação da qualidade dos preservativos foram realizados no INCQS/Fiocruz, nos Departamentos de Química, Microbiologia, Farmacologia e Toxicologia.

Neste estudo já estão contempladas as revisões da ISO 4074 de novembro de 2015, com a inclusão dos testes microbiológicos e de citotoxicidade, assim como os ajustes nos testes físicos estabelecidos nesta revisão.

### 4.1 DEFINIÇÃO DAS AMOSTRAS DE PRESERVATIVOS

Baseado no banco de dados dos preservativos, registrados pela ANVISA e disponibilizados no portal [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br), acessado em junho de 2015, verificou-se o quantitativo de preservativos registrados com seus respectivos fabricantes.

O processo de amostragem aleatória simples foi realizado com o uso de uma planilha Microsoft® Excel 2010, conforme exemplificado nas Figuras 10 e 10-A, desenvolvida por Fábio Basílio, servidor do INCQS.

Foi calculado um N laboratorial seguindo o número de unidades para avaliação dos preservativos masculinos, estabelecido de acordo com o Plano de Amostragem por Atributos da ISO 2859-1, utilizado nas normas existentes para o controle de qualidade desse produto, e que contabiliza, o número de unidades necessárias para realização de todos os testes necessários para avaliação dos preservativos. O N laboratorial foi estipulado em maior ou igual a 600 unidades.

Figura 10 – Programa utilizado para gerar aleatoriedade na escolha

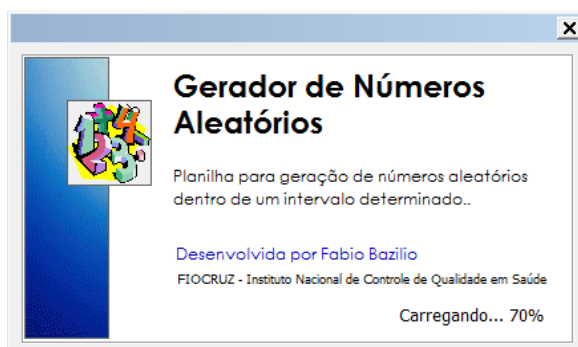


Figura 10-A - Programa utilizado para gerar aleatoriedade na escolha

	Índice	Estimativa 1	Índice	Estimativa 2	Índice	Estimativa 3
1						
2	1	51	1	86	1	64
3	2	6	2	273	2	434
4			3	129	3	260
5			4	51	4	361
6			5	54	5	402
7			6	56	6	369
8			7	43	7	103
9			8	88		
10			9	69		
11					8	267
12			10	35	9	367
13			11	34	10	343
14			12	243	11	487
15			13	151	12	14
16					13	413
17					14	73
18					15	313
19					16	282
20					17	323
21					18	166
22					19	2
23						

51. Preservativo masculino lubrificado XMS

6. Preservativo masculino não lubrificado LPE

#### 4.1.1 Amostras A – PMDP1, PMDP2

Dois diferentes lotes, identificados como Preservativos Masculino Direto do Produtor (PMDP 1 e PMDP 2), foram adquiridos diretamente do fabricante. Os lotes PMDP 1 e PMDP 2 tinham 820 unidades em cada um, perfazendo um total de 1640 unidades.

PMDP 1 = 820 unidades e PMDP 2 = 820 unidades

#### 4.1.2 Amostras pulverizadas no comércio B, C, D

As amostras identificadas como Preservativos Masculino Pulverizados no Comércio (PMPC) foram selecionadas por critérios aleatórios, excluindo a amostra B, cujo critério de escolha foi direcionado, formado por preservativos masculinos pulverizados pelo comércio, de mesma marca e modelo dos preservativos dos lotes PMDP1 e PMDP2, porém de diferentes lotes de fabricação tanto entre si, quanto dos lotes Direto do Produtor.

Para selecionar aleatoriamente as amostras foi utilizado a planilha Microsoft® Excel 2010 (Figuras 10 e 10-A) para gerar os números aleatórios do banco de dados da ANVISA, observando-se também, o índice de distribuição de mercado publicado pela Revista Nacional Supermercado Moderno em julho 2014

conforme Figura 11 e Quadro 4. O número de unidades para avaliação foi o N laboratorial estabelecido de acordo com o Plano de Amostragem por Atributos da ISO 2859-1.

#### 4.1.3 Amostras pulverizadas B – PMPC1

Foram utilizadas 660 unidades de preservativos masculinos, de diferentes lotes de fabricação, de mesma marca e modelo da Amostra A (PMDP 1 e 2), adquiridos em diversos estabelecimentos comerciais pelo Brasil.

#### 4.1.4 Amostras pulverizadas C - PMPC2

Foram utilizadas 600 unidades de preservativos masculinos de mesmo lote de fabricação, de marca e modelo diferente das anteriores, adquiridos de diversos estabelecimentos comerciais pelo Brasil.

#### 4.1.5 Amostras pulverizadas D – PMPC3

Foram utilizadas 600 unidades de preservativos masculinos de diferentes lotes de fabricação, de marca e modelo diferente das anteriores, adquiridos em diversos estabelecimentos comerciais pelo Brasil.

Figura 11 - Participação das empresas na preferência dos varejistas.



Fonte: Revista Nacional Supermercado Moderno, julho de 2014. Disponível em [www.sm.com.br](http://www.sm.com.br).

QUADRO 4 - Dados de preferências de marcas de preservativos masculinos no Brasil e sua divisão por áreas Regionais no território brasileiro

<b>BRASIL</b>	<b>ÁREA I</b> AL, BA, CE, PB, PE, RN e SE	<b>ÁREA II</b> ES, MG e Interior do RJ	<b>ÁREA III</b> Grande RIO	<b>ÁREA IV</b> Grande SP	<b>ÁREA V</b> Interior de SP	<b>ÁREA VI</b> PR, SC e RS	<b>ÁREA VII</b> AC, AP, AM, MT, MS, DF, GO, MA, PA, PI, RO, RR e TO	<b>M A R C A S</b>
<b>1-JONTEX</b>	1-JONTEX	1-JONTEX	1-JONTEX	1-JONTEX	1-JONTEX	1-JONTEX	1-JONTEX	
<b>2-OLLA</b>	2-BLOWTEX	2-OLLA	2-PRUDENCE	2-OLLA	2-OLLA	2-PRUDENCE	2-PRUDENCE	
<b>3-PRUDENCE</b>	3-EROS	3-PRUDENCE	3-OLLA		3-PRUDENCE	3-BLOWTEX	3-OLLA	
<b>4-BLOWTEX</b>	4-OLLA 5-PRUDENCE 6-LOVETEX	4-BLOWTEX			4-BLOWTEX	4-OLLA	4-BLOWTEX	

Fonte: Revista Nacional Supermercado Moderno, julho de 2014. Disponível em [www.sm.com.br](http://www.sm.com.br)

#### 4.2 ANÁLISE ESPACIAL NO CONTEXTO DE ESTUDOS DE GEOPROCESSAMENTO

Os mapas das localizações dos preservativos pulverizados no comércio foram obtidos através do Estudo de Análise Espacial e Geoprocessamento desenvolvidos no Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde – (ICICIT/Fiocruz).

#### 4.3 PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Baseado nas informações do banco de dados da ANVISA foi feita uma pesquisa da quantidade de fabricantes e/ou importadores, seus respectivos registros e produtos.

Por meio de comunicação telefônica, foi realizada uma pesquisa, entre todos os fabricantes e/ou importadores, para que obtivéssemos, em pelo menos um, a possibilidade de adquirir quantitativo de amostra necessária para seguir os critérios de amostragem, conforme legislação vigente, condicionado a

exigência de que estes preservativos ainda não estivessem sido disponibilizados comercialmente. O estudo iniciou-se com dois diferentes lotes obtidos por meio dessa pesquisa.

#### 4.3.1 Comparativo da qualidade de lotes dois diferentes (PMDP1 e PMDP2) para certificação, distribuição e mercado

Foram realizados os testes físicos, microbiológicos e de citotoxicidade, seguindo os critérios definidos na legislação, nos dois lotes adquiridos diretamente do fabricante, visando compará-los entre si, para se obter uma base de dados em relação ao comportamento dos lotes pulverizados no mercado.

#### 4.3.2 Comparativo da qualidade dos lotes coletados na indústria versus lotes coletados no mercado nacional

Foi realizada uma busca no mercado para adquirir o N Laboratorial, definido no item 4.1, de preservativos de mesma marca e modelo dos adquiridos diretamente do fabricante, conforme descrito no item 4.3 visando comparar os Lotes PMDP1 e 2 e PMPC1 de mesma marca e modelo.

### 4.4 TIPOS DE ENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE PRESERVATIVOS

#### 4.4.1 Testes físicos

Para os ensaios físicos, os lotes foram testados segundo os requisitos da ISO 4074 de novembro de 2015, da RDC 62/2008, de acordo com o plano de amostragem simples, para inspeção normal, baseados no tamanho de lote de fabricação e no nível de qualidade aceitável (NQA), que é o percentual de itens não conformes numa inspeção e está relacionado ao tamanho do lote de produção, para cada tipo de requisito, estabelecido na norma ISO 2859-1, que toma por base o lote de produção na faixa de 150.001 a 500.000 unidades.



#### 4.4.1.1 Propriedades dimensionais

##### 4.4.1.1.1 Determinação do comprimento

O comprimento dos preservativos foi medido segundo a norma ISO 4074/2015 e a RDC 62/2008 utilizando um mandril em aço, escala de 50 a 200 mm conforme a Figura 12. O preservativo é desenrolado no mandril graduado, esticando-o suavemente para alisar as dobras causadas pelo tipo de embalagem. O comprimento, em milímetros (mm), é medido descontando-se o reservatório, de treze (13) preservativos conforme estabelecidos pela legislação.

- Instrumento: Mandril em aço inox, com escala subdividida em milímetros 200 mm.

Fundamento: Suspensão livre do preservativo desenrolado sobre o mandril e observação do seu comprimento excluindo o reservatório.

FIGURA 12 – Mandril usado para medida de comprimento de preservativos



Fonte: INCQS/DQ/Lab. Ensaios Físicos

##### 4.4.1.1.2 Determinação da largura

A largura dos preservativos foi medida segundo a ISO 4074/2015 e da RDC 62/2008 utilizando-se uma régua de alumínio com escala de 300 milímetros (mm) conforme mostra a Figura 13. A largura é medida a  $(35 \pm 5)$  mm de distância da extremidade aberta, perpendicular ao comprimento do preservativo desenrolado,

na parte mais estreita do preservativo. Os mesmos preservativos usados para medir o comprimento são utilizados para medir a largura, sendo utilizadas 13 unidades conforme estabelecido na legislação.

- Fundamento: Desenrolar o preservativo sobre a régua para medir a sua largura.

FIGURA 13 – Régua utilizada para medir a largura dos preservativos



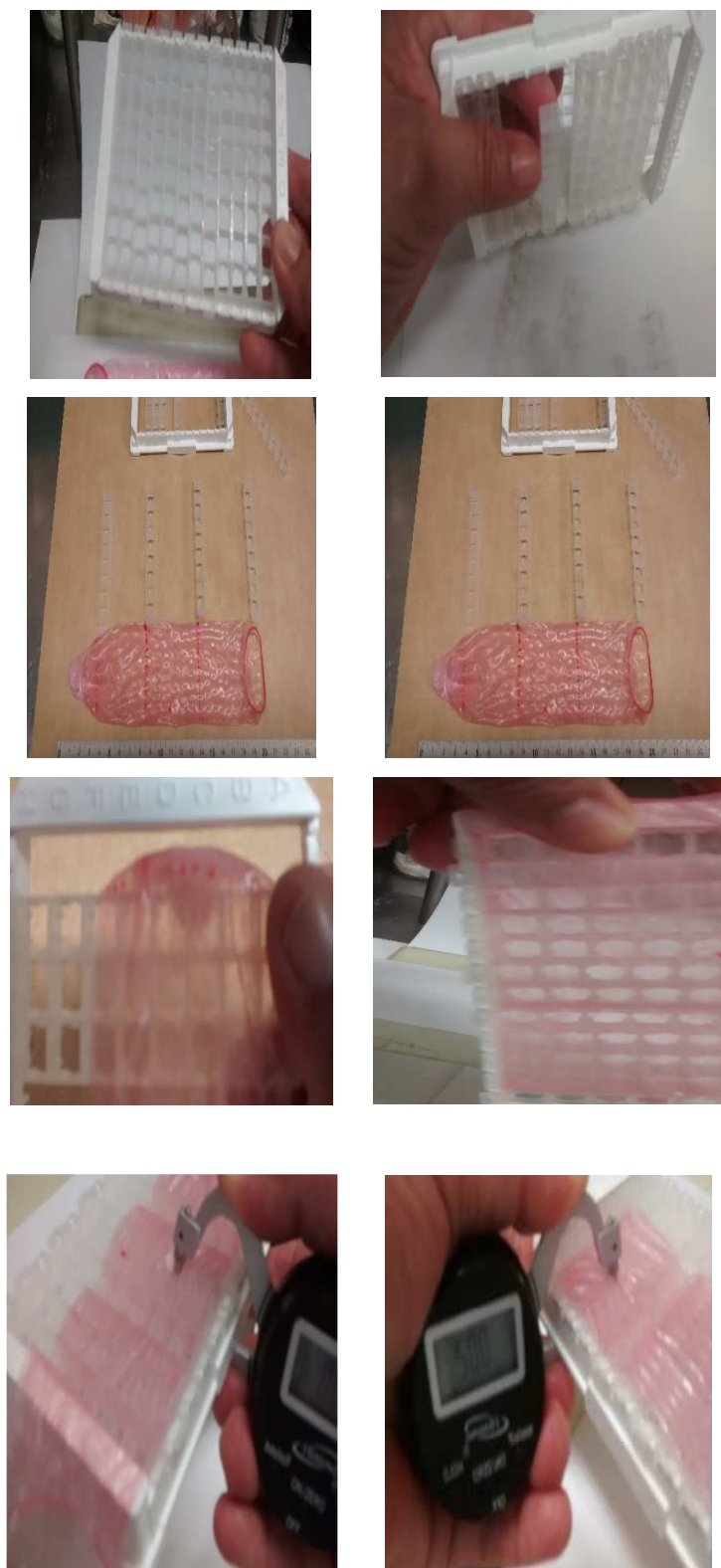
Fonte: INCQS/DQ/Lab. Ensaio Físicos

#### 4.4.1.1.3 Determinação da espessura

A espessura dos preservativos foi medida de acordo com as especificações da ISO 4074/2015 utilizando-se um micrômetro digital. A espessura é medida em três (3) posições de cada uma das 13 unidades dos preservativos usados no teste de determinação da espessura. A Figura 14 mostra um esquema elaborado para padronizar a leitura da espessura em pontos específicos dos preservativos com um micrômetro, sendo calculada a média das medidas conforme estabelecido na legislação.

- Instrumento: Micrometro
- Fundamento: A espessura simples da película é medida com um micrômetro em três posições distintas ao longo do preservativo.

Figura 14 – Determinação da espessura dos preservativos

- 
- a) Placa plástica com telas removíveis
- b) Divida o preservativo em três partes iguais
- c) Encaixe a ponta do reservatório na placa onde estão as letras, tomando cuidado para a lateral ficar alinhada na letra A ou na letra que escolher como guia. Prenda as partes marcadas encaixando os módulos das placas na área marcada das divisões do preservativo até que fique esticado sobre a tela
- d) Encaixe as pontas do micrometro no alinhamento central e faça as três leituras na mesma linha. Use as letras da placa como guia de linha, unindo as pontas do micrômetro sempre na mesma direção.

Fonte: INCQS/DQ/Lab. Ensaios Físicos

#### *4.4.1.2 Determinação de orifícios*

A determinação de orifícios foi realizada seguindo os critérios da ISO 4074:2015 e da RDC 62/2008, utilizando o equipamento Condom Conductivity Leak Tester, do fabricante ENERSOL, Austrália conforme mostra a Figura 15. O teste pode ser feito através de dois métodos: elétrico e visual. No elétrico, enche-se o preservativo suspenso com uma solução aquosa de Cloreto de Sódio, e a passagem de corrente elétrica indica a existência de furos. É realizado com 315 unidades por lote seguindo o estabelecido na legislação.

Fundamento: Os preservativos são testados eletricamente para detecção de furos. Um preservativo que não apresente furos age como um isolante e não permite que haja passagem de corrente no circuito elétrico. Um preservativo com furo permite a passagem de corrente. Os preservativos reprovados no teste elétrico devem passar pelo teste visual, rolando-os em papel absorvente colorido para que seja confirmada a existência de furos (RDC 62, 2008) (ISO 4074:2015).

Figura 15 – Equipamento usado no teste de verificação de orifícios de preservativos masculinos



Fonte: INCQS/DQ/Lab. Ensaios Físicos

#### 4.4.1.3 Determinação da integridade da embalagem

A integridade da embalagem primária foi avaliada utilizando um aparelho que consiste em colocar os preservativos acondicionados em suas embalagens primárias em uma câmara de vácuo, equipada com uma bomba de vácuo e um medidor de pressão. A câmara é submetida a uma pressão negativa de  $20 \pm 5$  kPa durante um minuto. A Figura 16 mostra o esquema do equipamento usado para realização do teste. Os preservativos são submersos em uma solução corante de coloração diferente da cor do preservativo. As embalagens primárias intumescem e permanecem intumescidas durante o tempo de um minuto, tempo em que são submetidos a pressão negativa para ensaio. O princípio deste ensaio é a determinação de vazamento na embalagem primária dos preservativos, avaliando principalmente a vedação da embalagem. Conforme estabelecido na legislação, foram avaliadas 20 unidades de preservativos de cada um dos lotes especificados, tanto dos lotes PMDP1 e PMDP2, como dos lotes pulverizados, PMPC1, PMPC2 e PMPC3.

Fundamento: Esta análise avalia principalmente a vedação da embalagem primária do preservativo. Este ensaio consiste em colocar os preservativos em uma câmara hermética acoplada a uma bomba de vácuo e um medidor de pressão. A câmara é submetida a uma pressão negativa de  $(20 \pm 5)$  kPa, durante um minuto. Os preservativos devem estar submersos em uma solução corada. As embalagens primárias devem intumescer e permanecer intumescidas durante o tempo de ensaio (um minuto). Caso isso não ocorra, essas embalagens são consideradas não conformes.

Figura 16 – Aparelho usado para realizar o teste de verificação da integridade de embalagens primária dos preservativos



Fonte: INCQS/DQ/Lab. Ensaio Físicos

#### 4.4.1.4 Determinação da capacidade volumétrica e de pressão de estouro

As propriedades de insuflação, pressão e volume de estouro, foram medidas de acordo com a ISO 4074/2015 e RDC 62/2008, utilizando um equipamento automático de insuflação de ar (Condom Inflation Tester, Bust Volume & Pressure, da ENERSOL, Austrália) - de 4 cabines, utilizando o software EInflation. A Figura 17 mostra o momento da insuflação dos preservativos no equipamento. Esse teste mede a pressão e o volume no momento do estouro. Os preservativos são inflados como um balão, estirando por inteiro o filme de látex até o seu rompimento, medindo-se, desta forma, a resistência do produto. A vazão de ar comprimido utilizada foi na faixa de  $(24 \text{ a } 30) \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$  conforme definido na legislação. Foram testadas 200 unidades de preservativos, de acordo com a legislação, dos lotes especificados.

Fundamento: Insuflação de ar no preservativo a uma vazão constante, registrando o volume e a pressão no momento do estouro (RDC 62, 2008); (ISO 4074:2015).





#### 4.4.1.5 Embalagem e rotulagem

A avaliação da embalagem e rotulagem foi realizada seguindo os critérios estabelecidos na RDC 62/2008. Todos os itens foram verificados incluindo, para rotulagem, as informações adicionais fornecidas com o preservativo, que consiste em um novo critério estabelecido pela revisão da ISO 4074/2015. A Figura 18 mostra uma não conformidade em relação a um dos itens dos critérios estabelecidos na legislação para avaliação da embalagem.

Fundamento: Condições a que devem satisfazer as embalagens e as instruções de uso.

Figura 18 – Embalagem primária não conforme segundo os critérios estabelecidos na RDC 62/2008



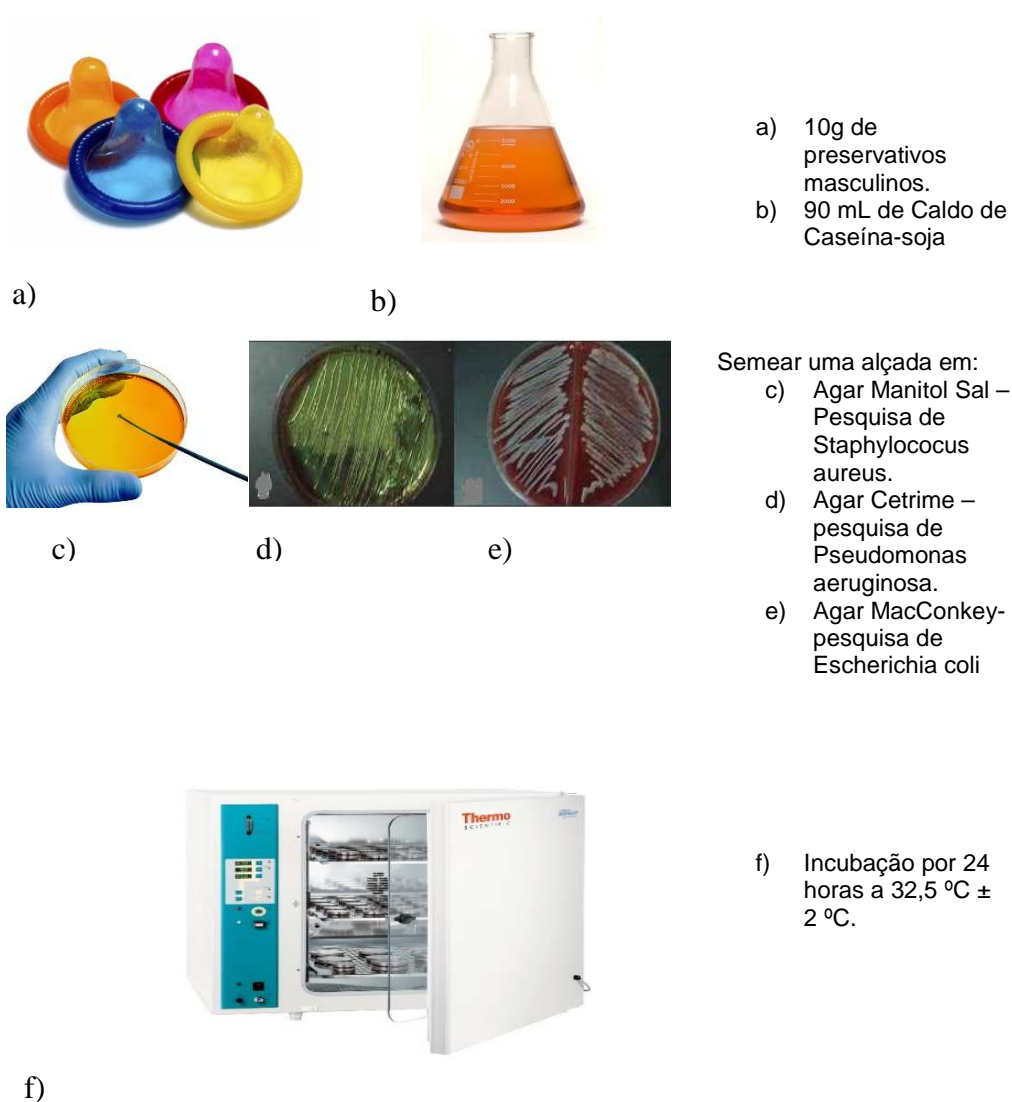
Fonte: INCQS/DQ/Lab. Ensaio Físicos

#### 4.4.2 Avaliação microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas no Departamento de Microbiologia do INCQS, Setor de Produtos não-estéreis, Laboratório de Microbiologia de Produtos Estéreis e não Estéreis. Os lotes foram testados seguindo o Procedimento Operacional Padronizado (POP) número 65.3210.008 rev. 15 (ANEXO B) de acordo com as diretrizes estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira, 5ª edição de 2010. Consiste no controle de qualidade de medicamentos não estéreis, cosméticos, artigos e insumos de

saúde, água tratada para diálise e concentrado polieletrólítico para diálise, assim como matérias-primas de uso em sua fabricação. Os testes realizados visavam a comprovar a existência de microorganismos como *enterobactérias*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* citados na RDC62/2008. A Figura 19 apresenta a sequência da avaliação microbiológica dos preservativos.

Figura 19 - Avaliação microbiológica dos preservativos masculinos



Fonte: Adaptação do esquema da Prof<sup>a</sup> Joana Angelica Barbosa- INCQS/DM

#### 4.4.3 Avaliação de citotoxicidade

Em 1959, Willian Russel e Rex Burch apresentaram à comunidade científica o livro *Principles of Humane Experimental Technique*, definindo os 3R's, cuja sigla representa "refinement", "reduction" e "replacement", que significam respectivamente: (1) refinamento: a modificação de algum procedimento operacional com animais, objetivando minimizar a dor e/ou o estresse. A experiência da dor e do estresse tem, como resultado, mudanças psicológicas que interferem nos resultados obtidos. Sendo assim, o interesse dos cientistas é assegurar que as condições ambientais para os animais sejam as melhores possíveis; (2) redução: um menor número de animais sendo utilizado para obter a mesma qualidade de informação, ou maximização da informação obtida, utilizando-se mesmo número de animais utilizados no teste clássico; e (3) substituição, dos testes *in Vivo* por testes *in vitro* (HENDRIKESSEN et al., 1994; PRESGRAVE, 2002; CORRADO, 2007).

Durante a década de 1960, existia pouca atenção da comunidade científica à regra dos 3R's. O conceito evoluiu com a tendência mundial nos anos seguintes iniciando uma forte pressão quanto a implicações éticas para a não utilização de animais em pesquisas científicas, mobilizando várias entidades e órgãos regulatórios para validação de métodos alternativos na área biomédica. A partir de 1980 o interesse pela busca de metodologias alternativas à utilização de animais na pesquisa científica foi consolidado. Novas legislações passaram a aderir ao conceito dos 3R's e as pesquisas em métodos alternativos aumentaram consideravelmente (ROWAN & ANDRUTIS, 1990; PAIXÃO, 2001).

Com o controle cada vez mais rigoroso em relação ao uso de animais de laboratório, há necessidade de desenvolver e padronizar testes *in vitro* que possam detectar a toxicidade de dispositivos para uso em seres humanos, principalmente aqueles de aplicação clínica, como os biomateriais que não devem causar reações adversas e nem lesar o organismo do paciente.





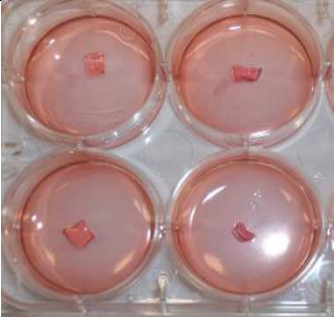


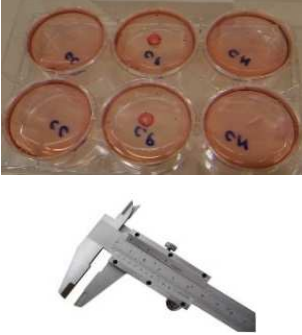
O emprego de ensaios em cultura de células de mamíferos para avaliação biológica de dispositivos médicos foi inicialmente descrito em 1965 por Rosenbluth et al. Métodos adicionais foram publicados por Guess et al. no mesmo ano. Northup em 1986 revendo essas e outras subseqüentes publicações enfatizou a sensibilidade e a correlação dos ensaios em culturas de

células em relação aos ensaios de reatividade biológica *“in vivo”* para a avaliação biológica de plásticos.

A partir da 22ª Revisão da Farmacopeia Americana, o ensaio de difusão em agar foi introduzido como teste de reatividade biológica *“in vitro”* para a avaliação de segurança de materiais plásticos de uso médico.

O teste de citotoxicidade *“in vitro”* foram realizadas no Departamento de Farmacologia e Toxicologia do INCQS, em células de fibroblastos de camundongo (L929). Consistem em colocar o material direta ou indiretamente em contato com uma cultura de células, verificando-se as alterações celulares e a incorporação de corantes vitais. Os lotes foram testados seguindo o Procedimento Operacional Padronizado (POP) número 65.3330.010 rev. 13 (ANEXO C) de acordo com as diretrizes da Farmacopeia Americana (USP 37). A Figura 20 apresenta a sequência da realização do ensaio de citotoxicidade pelo método de difusão por agar.

Figura 20 – Sequência do ensaio de citotoxicidade pelo método de difusão em agar

		<p>a) Suspensão celular b) Distribuição da suspensão celular na placa</p>
		<p>c) Incubação por 48h a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. d) Substituição do meio MEM (Minimum Essential Medium) por meio contendo vermelho neutro e ágar</p>
		<p>e) Corte e aplicação das amostras</p>
		<p>f) Incubação por 24h a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> g) g) Medição do halo de inibição com auxílio do paquímetro</p>

Fonte: Adaptação do trabalho de Cleuza Sodré Ribeiro - INCQS/DFT

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os Lotes PMDP1 e PMDP2 foram considerados padrões por serem preservativos adquiridos direto do produtor e sem ter sido disponibilizados a comercialização.

Foram encontrados, no banco de dados da ANVISA, 321 marcas de diversos modelos e 28 empresas cadastradas.<sup>3</sup>

É importante ressaltar que, mesmo de posse da pesquisa do banco de dados da ANVISA, houve dificuldades para coletar as amostras no comércio. Foi feito, como teste, um sorteio aleatório no banco de dados da ANVISA e verificou-se no comércio o preço e o produto a venda nos principais estabelecimentos comerciais licenciados para comercializar esse tipo de produto. A marca e o modelo dos preservativos sorteados não foram encontradas em nenhuma prateleira das regiões Sudeste, Sul e Centro Oeste, regiões estas onde tentamos localizar o produto. Diante desta dificuldade, realizou-se uma pesquisa de *marketing* de mercado para saber como são distribuídos os preservativos para comercialização. Essa pesquisa nos trouxe, como resultado a existência de uma revista publicada por especialistas de *marketing* de mercado, para informar as preferências comerciais das marcas no mercado nacional e o ranking das empresas nas preferências no mercado de varejistas ([www.sm.com.br](http://www.sm.com.br)). Em junho de 2014, a revista publicou uma matéria sobre preservativos masculinos apontando o *ranking* das empresas, assim como, dados de preferências de marcas de preservativos masculinos no Brasil e sua divisão por áreas regionais no território brasileiro.

### 5.1 ESCOLHAS ALEATÓRIAS

O sorteio das marcas e/ou modelos passou a levar em consideração não somente o produto selecionado no banco de dados, mas também a região de comercialização. É bom ressaltar que, nesse processo de monitoramento, existe a possibilidade também de escolha das regiões e/ou locais para o monitoramento do produto. Para tal, pode se utilizar as informações das regiões onde as marcas

---

<sup>3</sup> Acessado em 10 de março de 2015. Disponível em: <[http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta\\_Produto\\_correlato/rconsulta\\_produto\\_internet.asp](http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto_correlato/rconsulta_produto_internet.asp)>

são distribuídas. Assim como, as marcas comercializadas em âmbito nacional podem ser monitoradas, em qualquer parte da região cobrindo todo território de distribuição das marcas, utilizando, além do banco de dados disponibilizado pela ANVISA em seu portal, o ranking de marcas no mercado.

## 5.2 COLETA DE AMOSTRAS

Como a distribuição dos lotes não é homogênea no mercado, notamos a dificuldade de coletar amostras de preservativos do mesmo lote em quantidade suficiente para cumprir os requisitos da amostragem estabelecida pela Legislação. Para fins de amostragem, utilizamos a pulverização dos lotes, aplicando nossa escolha por marca e/ou modelo, sorteados aleatoriamente, utilizando o banco de dados da ANVISA e a tabela publicada na revista do *ranking* das marcas para certificar que podemos conseguir coletar a marca sorteada em alguma região do país. O N laboratorial foi estipulado em 600 unidades de preservativos de mesma marca e/ou modelo pulverizados no comércio.

Esse N laboratorial foi calculado pela soma do número de unidades estabelecido na ISO 2859 para realização de todos os testes físicos, somado às unidades necessárias para os testes microbiológicos e de citotoxicidade. Todos os ensaios seguiram o estabelecido pela ISO 4074:2015.

## 5.3 IDENTIFICAÇÕES DOS LOTES PULVERIZADOS NO N LABORATORIAL

Os lotes das amostras pulverizadas foram cadastrados em um banco de dados, recebendo uma codificação que incluiu o número de código postal para facilitar o reconhecimento de onde o produto foi adquirido, o grupo que orienta o número de preservativos de mesmo lote adquirido e um código de subgrupo que indica o tipo de estabelecimento comercial que foi coletado o produto, além da data de aquisição, endereço do local do estabelecimento comercial - que alimentam o banco de dados do georreferenciamento -, data de fabricação e prazo de validade, o que facilita a rastreabilidade dos lotes pulverizados no N laboratorial. Os Quadros abaixo 5, 6 e 7 mostram as identificações dos Lotes Laboratorial PMPC1, PMPC2, PMPC3.

## 5.3.1 Identificação do lote laboratorial PMPC1

Quadro 5 – Informação do Lote laboratorial PMPC1 das amostras pulverizadas

GRUPOS DOS LOTES	IDENTIFICAÇÃO DE LOCALIDADE (Estado, Município)	IDENTIFICAÇÃO DOS LOTE DE FABRICAÇÃO	TIPO DE ESTABELECIMENTO	SUB GRUPOS	QUANTID. DE UNIDADES DE AMOSTRAS COLETADAS/ LOTE	Numeração estabelecida nas unidades para sorteios aleatórios para realização dos ensaios
<b>A</b>	21	D-FV	FM	A21FM	3	1 a 3
<b>B</b>	21	A-FV	FM	B21FM	21	4 a 24
<b>B</b>	21	D-SV	FM	B21FM1	129	25 a 153
<b>C</b>	21	A-FV	FM	C21FM	27	154 a 180
<b>C</b>	21	D-SV	FM	C21FM1	57	181 a 237
<b>D</b>	21	D-FV	FM	D21FM	9	238 a 246
<b>E</b>	21	B FII	FM	E21FM	33	247 a 279
<b>F</b>	21	D- FV	FM	F21FM	27	280 a 306
<b>G</b>	47	C -SV	SS	G47SS	30	307 a 336
<b>H</b>	47	B -SIV	CV	H47CV	84	337 a 420
<b>H</b>	47	A- FV	CV	H47CV1	54	421 a 474
<b>H</b>	47	B- FV	CV	H47CV2	42	475 a 516
<b>I</b>	16	C -SII	DV	I16DV	144	517 a 660
<b>PMPC1 = 660 unid.</b>						

FM – Farmácia/ SS - Sex shop/ CV - Comércio Virtual / DV - Distribuidor virtual

21 = RJ

47 = SC

16 = SP



Quadro 5.1 – Lote PMPC1

- Total Unidade / Lotes Iguais coletados em diferentes regiões do Brasil

<b>IDENTIFICAÇÃO DO LOTE</b>	<b>UNIDADES/LOTE</b>
<b>D-FV</b>	39
<b>A-FV</b>	102
<b>D-SV</b>	186
<b>B-FII</b>	33
<b>C-SV</b>	30
<b>B-SIV</b>	84
<b>B-FV</b>	42
<b>C-SII</b>	144

Quadro 5.2– Lote PMPC1

Total de lotes de fabricação coletados, Tipos de estabelecimentos comerciais, e Estados onde foram coletados

<b>TOTAL DE LOTES COLETADOS</b>	<b>TIPO DE ESTABELECIM.</b>	<b>ESTADOS ONDE FORAM COLETADOS</b>	<b>TOTAL DE UNIDADES / ESTADO</b>
<b>08</b>	FM	RJ	306
	SS	SC	210
	CV	SP	144
	DV		
<b>Total de 08 Lotes de mesma marca coletados no comércio</b>		Total de 660 unidades	

FM – Farmácia/ SS - Sex shop/ CV - Comércio Virtual / DV - Distribuidor virtual

## Quadro 5.3 – Lote PMPC1

Identificação dos Lotes/Unidades Coletadas e não Conformidades

IDENTIFICAÇÃO DO LOTE DE FABRICAÇÃO	UNIDADES/LOTE	NÃO CONFORMIDADE
D-FV	39	2
A-FV	102	-
D-SV	186	2
B-FII	33	-
C-SV	30	-
B-SIV	84	1
B-FV	42	-
C-SII	144	1

## 5.3.2 IDENTIFICAÇÃO DO LOTE LABORATORIAL PMPC2

Quadro 6 - Informação do Lote laboratorial PMPC2 das amostras pulverizadas

GRUPOS DOS LOTES	IDENTIFICAÇÃO DE LOCALIDADE (Estado, Município)	IDENTIFICAÇÃO DOS LOTE DE FABRICAÇÃO	TIPO DE ESTABELECIMENTO	SUB GRUPOS	QUANTID. DE UNIDADES DE AMOSTRAS COLETADAS/ LOTE	
A	81	D36140401	SS	A81SS	600	1 a 600

FM – Farmácia/ SS - Sex shop/ CV - Comércio Virtual / DV - Distribuidor virtual

81 = PE

Quadro 6.1 -Total de lotes de fabricação coletados, Tipo de estabelecimento comercial, e região do Brasil onde foram coletados

TOTAL DE LOTES COLETADOS	TIPO DE ESTABELECIM.	ESTADOS ONDE FORAM COLETADOS	TOTAL DE UNIDADES / ESTADO
01	SS	PE	600

FM – Farmácia/ SS - Sex shop/ CV - Comércio Virtual / DV - Distribuidor virtual

Quadro 6.2 - Identificação do lote de fabricação/unidades coletada/nº de não conformidade encontrada

IDENTIFICAÇÃO DO LOTE	UNIDADES/LOTE	NÃO CONFORMIDADE
D36140401	600	1
<b>Total de 01 Lote de mesma marca coletado no comércio</b>		Total de 600 unidades

## 5.3.3 Identificação do lote laboratorial PMPC3

Quadro 7 – Informação do Lote laboratorial PMPC3 das amostras pulverizadas

GRUPOS DOS LOTES	IDENTIFICAÇÃO DE LOCALIDADE (Estado, Município)	IDENTIFICAÇÃO DOS LOTE DE FABRICAÇÃO	TIPO DE ESTABELECIMENTO	SUB GRUPOS	QUANTID. DE UNIDADES DE AMOSTRAS COLETADAS/LOTE	numeração das unidades do Lote Laboratorial
A	38	14F4608	FM	A38FM	333	1 a 332
A	38	14F2340	FM	A38FM1	12	333 a 344
A	38	14F3742	FM	A38FM2	21	345 a 365
A	38	14F2343	FM	A38FM3	16	366 a 381
A	38	13F5082	FM	A38FM4	23	382 a 404
A	38	14F1423	FM	A38FM5	18	405 a 422
A	38	13F5083	FM	A38FM6	17	423 a 439
A	38	14F2342	FM	A38FM7	12	440 a 451
B	47	14F4608	FM	B47FM	21	452 a 472
B	47	14F3742	FM	B47FM1	24	473 a 496
B	47	14F2341	FM	B47FM2	18	497 a 514
B	47	14F2342	FM	B47FM3	16	515 a 530
C	51	14F1425	SS	C51SS	30	531 a 560
D	96	14F2342	SS	D96SS	39	561 a 600
<b>PMPC 3 = 600 unid.</b>						

FM – Farmácia/ SS - Sex shop/ CV - Comércio Virtual / DV - Distribuidor virtual

38 = MG 47 = SC 51 = RS 96 = AP

Quadro 7.1 – Totais Unidades / Lotes Iguais coletados em diferentes regiões do Brasil

14F4608	354
14F2340	12
14F3742	45
14F2343	16
13F5082	23
14F1423	18
13F5083	17
14F2342	67
14F2341	18
14F1425	30
<b>Total de 10 Lotes de mesma marca coletados no comércio</b>	<b>Total de 600 unidades</b>

Quadro 7.2 – Total de lotes de fabricação coletados, Tipos de estabelecimentos comerciais, e região do Brasil onde foram coletados

TOTAL DE LOTES COLETADOS	TIPO DE ESTABELECIM.	ESTADOS ONDE FORAM COLETADOS	TOTAL DE UNIDADES / ESTADO
<b>10</b>	SS	AP	39
	FM	MG	452
	FM	SC	79
	SS	RS	30

FM – Farmácia/ SS - Sex shop/ CV - Comércio Virtual / DV - Distribuidor virtual

Quadro 7.3 – Identificação dos Lotes de Fabricação/Unidades Coletadas e não Conformidades Encontradas

IDENTIFICAÇÃO DO LOTE	UNIDADES/LOTE	NÃO CONFORMIDADE
14F4608	354	05
14F2340	12	
14F3742	45	01
14F2343	16	01
13F5082	23	
14F1423	18	
13F5083	17	
14F2342	67	
14F2341	18	
14F1425	30	
<b>TOTAL DE LOTE</b>	QUANT. TOTAL	TOTAL NÃO CONFORMIDADES
<b>10</b>	600	07

#### 5.4 MODIFICAÇÕES NAS NORMAS

A NBR ISO 14971 de 2004 - Aplicações de gerenciamento de risco em produtos para a saúde - Estabelece os requisitos gerais para o gerenciamento e procedimentos para análise, avaliação e controle do risco. Segundo esta Norma há uma grande confusão sobre os conceitos utilizados para a definição de risco e perigo, normalmente empregados para representar algo que pode gerar algum tipo de dano. Contudo, seus significados são completamente distintos. Perigo é uma fonte potencial de dano. O risco é um valor estimado que leva em consideração a probabilidade de ocorrência de um dano e a gravidade de tal dano.

Além do risco e do perigo, existem outros conceitos importantes como fator de risco, modo de falha e danos. O fator de risco é uma condição que favorece a ocorrência de falha (s) (ASSOCIATION FOR, 1990) (GULLIKSON; DAVID; BLAIR, 1996). O modo de falha é o efeito pelo qual uma determinada

falha é observada em um componente de sistema (INTERNATIONAL, 1985). O dano é um tipo de lesão física ou de prejuízo à propriedade ou ao meio ambiente (NBR ISO 14971, 1994). Este dano é avaliado de acordo com seu nível de gravidade e com a frequência de ocorrência.

Um grande argumento contra o uso do preservativo, tanto para anticoncepção quanto para prevenção de DST, fora as questões religiosas e de etnias, é o número relativamente alto de falhas que o método exhibe. Do ponto de vista da anticoncepção, o preservativo teria margem de falha da ordem de 4 a 8 no índice de Pearl - isto é, 4 a 8 gestações indesejadas em 100 mulheres que se valem do método, em cada ano (POPULATION, 2010).

Até o presente momento, o único método prático para avaliação da qualidade de preservativos é a caracterização de uma amostra representativa de um lote ou de uma série de lotes. Isto porque preservativos de borracha natural são artigos produzidos em massa, fabricados em lotes de produção de grande quantidade. Assim, ocorrem inevitavelmente variações individuais na qualidade do produto. Logo, é previsível que haja proporção de preservativos de um lote de produção que não preencha os requisitos estabelecidos nas normas de qualidade do produto. Além disso, os testes utilizados para avaliação do produto são testes destrutivos (BÓ, 2007).

Os Planos de amostragem utilizados em preservativos são definidos na norma ISO 2859-1, que tem como objetivo especificar sistemas aceitáveis de amostragem para inspeção por atributos, em termos do NQA, definido como percentual aceitável de itens não conformes em uma inspeção e está relacionado ao tamanho do lote de produção. Os planos de amostragem são baseados no tamanho de lote de fabricação e no nível de qualidade aceitável para cada requisito. O Quadro 8 mostra os requisitos do plano de amostragem da ISO 4074, anexo A, OMS e RDC 62/2008.

Quadro 8 - Plano de amostragem: ISO 4074; OMS; RDC 62/2008

ENSAIO		NQA*		Número de unidades	No. Máximo aceito de unidades Não Conforme	
		ISO/OMS	RDC/62		ISO/OMS	RDC/62
	Comprimento	1,0	4,0	13	0	1
	Largura					
	Espessura					
Pressão e Volume de Estouro		1,5		200	7	
Integridade da Embalagem		2,5		20	1	
Verificação de orifícios		0,25		315	2	

\*NQA - nível de qualidade aceitável

Durante o desenvolvimento desse estudo, algumas alterações já se mostravam necessárias, tanto na aplicação de alguns métodos de ensaios dos testes físicos, como a necessidade de inclusão de ensaios complementares não estabelecidos para o controle de qualidade do produto, com viés do risco sanitário.

As revisões sofridas pela ISO 4074 em agosto de 2014 e novembro de 2015, inseriram os ensaios complementares de microbiologia e citotoxicidade, como algumas inserções de melhorias dos métodos dos testes físicos (ex. o aumento do “airburst” para preservativos acima de 56 mm de largura nominal). Portanto, isso mostra que, antes mesmo dessas revisões, a RDC 62/2008, já estava defasada em relação aos avanços tecnológicos e de produção dos preservativos masculinos.

Para Vigilância Sanitária, o risco é avaliado em processos, procedimentos, ambientes, produtos e serviços de interesse à saúde, e o objetivo de suas ações é inibir ou minimizar seus efeitos à saúde da população. Centradas no controle dos riscos, suas práticas integram a prevenção de doenças e agravos, a proteção e a promoção da saúde (COSTA, 2009).



## 5.5 PROPRIEDADES FÍSICAS

Os testes físicos foram realizados seguindo as especificações da RDC 62/2008, da revisão da norma ISO 4074/2014 e 2015. Os lotes das amostras pulverizadas são codificados conforme mostra a Quadro 8 mantendo rastreabilidade.

Para todas as regulamentações o requisito de volume de estouro é vinculado à largura do preservativo, medida a  $(75 \pm 5)$  da extremidade fechada do preservativo.

Preservativos com até 12 meses de fabricação, de acordo com a RDC 62/2008, passam pelo teste de estabilidade após envelhecimento, antes do teste de Determinação da capacidade volumétrica e de pressão de estouro.

Com as revisões da ISO 4074:2015, além do teste de determinação da capacidade volumétrica de pressão e de estouro, passou a ser exigido também os testes de verificação da integridade da embalagem e verificação de orifícios para preservativos com até 12 meses que passam pelo teste de estabilidade após envelhecimento.

Todos os preservativos, aleatoriamente sorteados para o estudo, tinham 52 mm de largura nominal.

Em todas as regulamentações o requisito de volume de estouro é vinculado à largura do preservativo medida a  $(75 \pm 5)$  mm da extremidade fechada do preservativo.

O volume de estouro não deve ser inferior a  $16,0 \text{ dm}^3$ , para preservativos com largura nominal menor que 50,0 mm;  $18,0 \text{ dm}^3$ , para preservativos com largura nominal maior 50,0 mm e menor que 56,0 mm;  $22,0 \text{ dm}^3$ , para preservativos maiores que 56,0 mm e menor que 65,0 mm;  $28,0 \text{ dm}^3$ , para preservativos maior ou igual a 65,0 mm e menor ou igual a 75,0 mm.

Os requisitos dos ensaios dimensionais são diferentes entre as organizações, sendo a maior diferença em relação ao parâmetro da espessura. A ISO 4074 padroniza o método de medição da espessura, no entanto, não estabelece nenhuma exigência nos limites do parâmetro. Por outro lado, a OMS determina que a espessura do preservativo deva medir entre 0,050 e 0,080 mm, enquanto a RDC 62 determina somente a espessura mínima de 0,03 mm. O

Quadro 9 mostra os requisitos utilizados para avaliação da qualidade dos preservativos da ISO 4074, OMS, RDC/62.

Quadro 9 - Requisitos utilizados para avaliação da qualidade dos preservativos da ISO 4074, OMS, RDC/62.

ENSAIO		Requisito		
		ISO	OMS**	RDC/62
	Comprimento	Mínimo de		
		160 mm	180 mm	160 mm
	Largura	± 2 mm da largura nominal		
	Espessura	Não há requisito	(0,065 ± 0,015) mm	Mínimo de 0,03 mm
Pressão e Volume de Estouro		$V \geq 16 \text{ dm}^3$ (Largura < 50 mm) $V \geq 18 \text{ dm}^3$ (50 mm ≥ largura < 56 mm) $V \geq 22 \text{ dm}^3$ (56 mm ≥ largura < 65 mm) $V \geq 28 \text{ dm}^3$ (65 mm ≥ largura ≤ 75 mm) <div style="display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 2px; margin-left: 20px;">             Revisão da ISO 4074:2015           </div>		
Integridade da Embalagem		Embalagem primária não deve apresentar falha		
Verificação de orifícios		Os preservativos não devem apresentar orifícios		

\*\*A especificação da OMS para o requisito de largura também prescreve uma tolerância de ± 1mm na média de 13 medidas

A OMS prescreve que o comprimento não deve ser inferior a 170 mm para preservativos com largura menor que 50,0 mm; 180 mm para preservativos com largura maior do que 50,0 mm e menor do que 56,0 mm; e 190 mm para preservativos com largura maior do que 56,0 mm.

## 5.6 PROPRIEDADES DIMENSIONAIS (comprimento, largura, espessura)

As propriedades dimensionais consistem em medir o comprimento, a largura e a espessura dos preservativos. Em geral as dimensões do produto variam dentro das faixas de comprimento (160 a 200 mm), largura (45 a 60 mm) e espessura (0,03 a 0,09 mm).

As Tabelas (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) apresentam os resultados das propriedades dimensionais dos lotes PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2 e PMPC3.

Tabela 1 - Resultados para as medidas dimensionais de comprimento, largura, espessura para PMDP1 e PMDP2.

Unidades avaliadas	Comprimento em mm	
	PMDP1	PMDP2
1	184	190
2	186	190
3	189	187
4	185	188
5	190	183
6	187	187
7	186	188
8	190	185
9	186	189
10	182	187
11	190	189
12	187	189
13	190	186
<b>Média</b>	187,1	187,5
<b>s</b>	2,60	2,14
<b>A</b>	8	7

Unidades avaliadas	Largura em mm, medida a 35 mm da bainha	
	PMDP1	PMDP2
1	52,5	52,5
2	52,5	52,5
3	52,0	52,5
4	52,5	52,0
5	53,0	52,0
6	52,5	52,5
7	53,0	52,0
8	52,5	52,0
9	52,0	52,0
10	52,0	52,0
11	53,0	52,0
12	52,5	52,0
13	52,5	52,0
<b>Média</b>	52,5	52,2
<b>s</b>	0,4	0,2
<b>A</b>	1,0	0,5

Unidades avaliadas	Espessura em mm. Média de medida de três medidas	
	PMDP1	PMDP2
1	0,035	0,030
2	0,030	0,029
3	0,033	0,030
4	0,029	0,032
5	0,033	0,030
6	0,030	0,032
7	0,030	0,030
8	0,032	0,030
9	0,030	0,030
10	0,030	0,032
11	0,030	0,030
12	0,030	0,031
13	0,030	0,032
<b>Média</b>	0,031	0,031
<b>s</b>	0,0017	0,001
<b>A</b>	0,006	0,003

PMDP1 – Preservativos Masculino Direto do Produtor 1  
 PMDP2 - Preservativos Masculino Direto do Produtor 2

S – Desvio Padrão      A - Amplitude

Tabela 2 – Resultados para as medidas dimensionais de comprimento, largura, espessura do Lote Laboratorial PMPC1.

Unidades avaliadas	<b>COMPRIMENTO</b> mm	<b>LARGURA</b> (medida a 35mm da bainha) mm	<b>ESPESSURA</b> (Média de três leituras) mm
<b>1</b>	183	52,0	0,030
<b>2</b>	187	52,0	0,035
<b>3</b>	184	51,0	0,031
<b>4</b>	188	52,0	0,029
<b>5</b>	182	50,0	0,030
<b>6</b>	187	52,0	0,030
<b>7</b>	188	52,0	0,034
<b>8</b>	189	52,0	0,030
<b>9</b>	188	53,0	0,035
<b>10</b>	189	52,0	0,037
<b>11</b>	191	52,0	0,031
<b>12</b>	181	52,0	0,032
<b>13</b>	188	52,0	0,031
<b>Média</b>	186,5	51,8	0,032
<b>s</b>	3,04	0,7	0,002
<b>A</b>	10	2,0	0,008

**s** - desv. Pad. **A** - Amplitude

PMPC1 – Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio 1

Tabela 3 - Resultados para as medidas dimensionais de comprimento, largura, espessura do Lote Laboratorial PMPC2.

Unidades avaliadas	<b>COMPRIMENTO</b> mm	<b>LARGURA</b> (medida a 35mm da bainha) mm	<b>ESPESSURA</b> (Média de três leituras) mm
<b>1</b>	193	52,0	0,03
<b>2</b>	192	52,0	0,02
<b>3</b>	195	51,0	0,02
<b>4</b>	195	52,0	0,03
<b>5</b>	192	51,0	0,02
<b>6</b>	194	51,0	0,02
<b>7</b>	194	51,0	0,02
<b>8</b>	193	51,0	0,02
<b>9</b>	195	52,0	0,02
<b>10</b>	194	51,0	0,02
<b>11</b>	193	51,0	0,02
<b>12</b>	193	52,0	0,02
<b>13</b>	194	52,0	0,02
<b>Média</b>	193,61	51,42	0,022
<b>s</b>	1,04	0,52	0,0032
<b>A</b>	3	1	0,01

**S** - desv. Pad. **A** – Amplitude

PMPC2 – Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio 2

Tabela 4 - Resultados para as medidas dimensionais de comprimento, largura, espessura do Lote Laboratorial PMPC3

Unidades avaliadas	<b>COMPRIMENTO</b> mm	<b>LARGURA</b> (medida a 35mm da bainha) mm	<b>ESPESSURA</b> (Média de três leituras) mm
<b>1</b>	200	52,0	0,06
<b>2</b>	198	51,0	0,05
<b>3</b>	198	52,0	0,06
<b>4</b>	192	52,0	0,04
<b>5</b>	193	52,0	0,04
<b>6</b>	190	51,0	0,04
<b>7</b>	195	51,0	0,05
<b>8</b>	195	51,0	0,05
<b>9</b>	195	51,0	0,04
<b>10</b>	196	52,0	0,06
<b>11</b>	195	52,0	0,05
<b>12</b>	195	52,0	0,06
<b>13</b>	200	52,0	0,05
<b>Média</b>	195,54	51,61	0,05
<b>S</b>	2,93	0,51	0,007
<b>A</b>	10	1	0,03

**S** - desv. Pad. **A** - Amplitude

PMPC3 – Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio 3

Tabela 5 – Comparação entre as medidas de comprimento entre os Lotes laboratoriais PMPC1, PMPC2 e PMPC3

Unidades avaliadas	Comprimento em mm		
	PMPC1	PMPC2	PMPC3
1	183	193	200
2	187	192	198
3	184	195	198
4	188	195	192
5	182	192	193
6	187	194	190
7	188	194	195
8	189	193	195
9	188	195	195
10	189	194	196
11	191	193	195
12	181	193	195
13	188	194	200
<b>Média</b>	186,5	193,61	195,54
<b>S</b>	3,04	1,04	2,93
<b>A</b>	10	3	10

**s** - desv. Pad. **A** - Amplitude

PMPC – Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio 1,2,3



Tabela 6 – Comparação entre as medidas de largura entre os Lotes laboratoriais  
PMPC1, PMPC2 e PMPC3

Unidades avaliadas	Largura em mm, medida a 35 mm da bainha		
	PMPC1	PMPC2	PMPC3
1	52,0	52,0	52,0
2	52,0	52,0	51,0
3	51,0	51,0	52,0
4	52,0	52,0	52,0
5	50,0	51,0	52,0
6	52,0	51,0	51,0
7	52,0	51,0	51,0
8	52,0	51,0	51,0
9	53,0	52,0	51,0
10	52,0	51,0	52,0
11	52,0	51,0	52,0
12	52,0	52,0	52,0
13	52,0	52,0	52,0
<b>Média</b>	51,8	51,42	51,61
<b>S</b>	0,7	0,52	0,51
<b>A</b>	2,0	1	1

**S** - desv. Pad. **A** – Amplitude

PMPC – Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio 1,2,3

Tabela 7 - Comparação entre as medidas de espessura entre os Lotes laboratoriais PMPC1, PMPC2 e PMPC3

Unidades avaliadas	Resultados da Média de três leituras (mm) das 13 unidades		
	PMPC1	PMPC2	PMPC3
1	0,030	0,03	0,06
2	0,035	0,02	0,05
3	0,031	0,02	0,06
4	0,029	0,03	0,04
5	0,030	0,02	0,04
6	0,030	0,02	0,04
7	0,034	0,02	0,05
8	0,030	0,02	0,05
9	0,035	0,02	0,04
10	0,037	0,02	0,06
11	0,031	0,02	0,05
12	0,032	0,02	0,06
13	0,031	0,02	0,05
<b>Média</b>	0,032	0,022	0,05
<b>S</b>	0,002	0,003	0,007
<b>A</b>	0,008	0,01	0,03

**s** > desv. Pad. **A** > amplitude

PMPC – Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio 1,2,3

Tabela 8 – Média dos valores obtidos para as medidas dimensionais de comprimento, largura e espessura dos Lotes Laboratoriais PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3

<b>MÉDIA DOS VALORES ENCONTRADOS</b>			
	<b>Comprimento (mm)</b>	<b>Largura (mm)</b>	<b>Espessura (mm)</b>
<b>PMDP1</b>	187,1	52,5	0,031
<b>PMDP2</b>	187,5	52,2	0,031
<b>PMPC1</b>	186,5	51,8	0,032
<b>PMPC2</b>	193,6	51,4	<b>0,022</b>
<b>PMPC3</b>	195,5	51,6	0,05

PMDP – Preservativos Masculinos Direto do Produtor 1, 2  
 PMPC – Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio 1, 2, 3

O lote PMPC1, apesar de ser da mesma marca, modelo e fabricante de PMDP1 e PMDP2, é um lote formado por preservativos pulverizados, neste caso existem algumas diferenças nos resultados obtidos.

Em geral a distribuição do comprimento dentro de um lote e entre lotes de um mesmo fabricante dá uma visão da homogeneidade do processo produtivo do fabricante, neste caso, é importante avaliar a amplitude e o desvio padrão entre as medidas.

A largura define o tamanho do preservativo e refere-se principalmente ao perímetro (duas vezes a largura plana, semicircunferência).

As especificações da OMS exigem dois requisitos combinados em relação à largura: os preservativos devem ter largura individual de  $52 \pm 2$  mm com tolerância de  $\pm 1$  mm na média das treze medidas. Em relação a RDC 62/2008 exige que a média da largura seja de  $\pm 2$  mm da largura nominal declarada pelo fabricante.

O resultado da espessura é a média das três medidas realizadas em cada um dos treze preservativos de cada lote.

As especificações da OMS exigem que a média da espessura esteja na faixa de 0,05 a 0,08 mm. O Lote PMPC3 atingiu o limite mínimo estabelecido por esta especificação.

Todos os preservativos usados nesta Tese apresentaram largura nominal declarada de 52 mm e média de espessura fina.

Quando todas as propriedades dimensionais são iguais, preservativos mais finos tendem a apresentar uma vida útil mais curta do que aqueles de maior espessura, já que a oxidação está relacionada com a razão entre a área de contato e o volume do preservativo (KESTELMAN, 2000).

Com relação aos resultados obtidos para as propriedades dimensionais, o comprimento e a largura de todos os lotes analisados estão em conformidade com a legislação. Entretanto, em relação a espessura, os resultados obtidos para o lote PMPC2, Amostra C, está não conforme, pois, apresentou valor médio abaixo do valor mínimo estabelecido pela RDC 62/2008 que estabelece a média mínima de 0,03 mm para medida da espessura.

## 5.7 DETERMINAÇÃO DE ORIFÍCIOS

Pode-se observar através do Quadro 10 os resultados do teste de verificação de orifícios para os lotes laboratoriais PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3. O Quadro 10.1 mostra a correlação lote de fabricação, identificação da amostra, unidades coletadas e não conformidades encontradas no lote laboratorial PMPC3. A Figura 21 representa as amostras não conformes no teste de verificação de Orifícios

Quadro 10 - Resultados encontrados para o teste de verificação de orifícios para os Lotes laboratoriais de PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3.

	<b>Determinação de Orifícios</b>		
	<b>IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA NC</b>	<b>Nº DE NC/LOTE</b>	<b>TOTAL DE NC</b>
<b>PMDP 1</b>	00	00	00
<b>PMDP 2</b>	00	00	00
<b>PMPC 1</b>	00	00	00
<b>PMPC 2</b>	00	00	00
<b>PMPC 3</b>	A38FM	03	07
	B47FM	02	
	B47FM1	01	
	A38FM3	01	

NC – Não conformidade

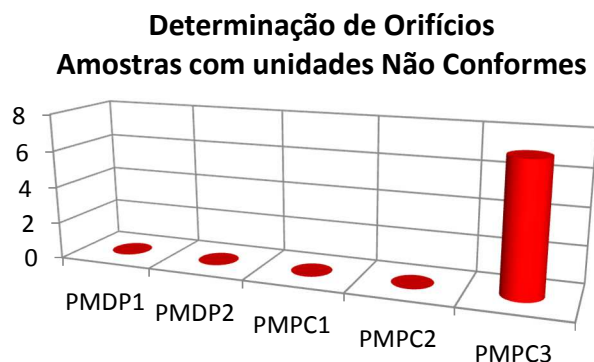
PMDP – Preservativo Masculino Direto do Produtor 1, 2

PMPC – Preservativo Masculino Pulverizado no Comércio 1, 2, 3

Quadro 10.1 – Correlação Lote de Fabricação/Amostra Identificada/Quantidade de Unidades Coletado/Não Conformidades Encontradas

<b>IDENTIFICAÇÃO DO LOTE</b>	<b>EQUIVALÊNCIA DA AMOSTRA AO LOTE</b>	<b>UNIDADES/LOTE</b>	<b>NÃO CONFORMIDADE</b>
14F4608	A38FM B47FM	354	05
14F2340	A38FM1	12	
14F3742	B47FM1	45	01
14F2343	A38FM3	16	01
13F5082	A38FM4	23	
14F1423	A38FM5	18	
13F5083	A38FM6	17	
14F2342	B47FM3	67	
14F2341	B47FM2	18	
14F1425	C51SS	30	

Figura 21 – Amostras não conformes no Teste de Verificação de Orifícios em todos os lotes do estudo



De acordo com os resultados obtidos para o teste de determinação de orifícios, o Lote PMPC3, em três (3) unidades de mesmo lote de fabricação, adquiridos em diferentes lugares, não conformidades. Ressaltamos que lote laboratorial é formado pela soma de unidades coletadas no comércio de diversos Estados brasileiro, de mesma marca, escolhas aleatórias. Logo, é um grande alerta encontrar três unidades de mesmo lote de fabricação insatisfatórios nestas condições.

## 5.8 DETERMINAÇÃO INTEGRIDADE DA EMBALAGEM PRIMÁRIA

De acordo com as especificações da OMS, a embalagem primária deve ser quadrada para que o preservativo que permanece na embalagem não se distorça. Deve ser hermeticamente selada e opaca para proteger o produto de contato com oxigênio, a umidade e a luz. O material deve ser laminado (alumínio), flexível e impermeável, com camada interna de material plástico (polietileno).

O princípio deste ensaio é a determinação de vazamento na embalagem primária. Os preservativos acondicionados na embalagem primária são submetidos a uma pressão menor do que a pressão atmosférica mantendo o vácuo por 1 minuto. Conforme o plano de amostragem estabelecido pela legislação, são avaliadas 20 unidades sendo o lote aprovado se apresentar até uma (1) unidade não conforme.

O Quadro 11 mostra os resultados encontrados para o teste de verificação da integridade da embalagem primária dos lotes laboratoriais PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3. O Quadro 11.1 mostra a correlação dos lotes de fabricação, identificação da amostra, quantidade de unidades coletadas e não conformidade encontrada. A Figura 22 mostra a embalagem não conforme em relação ao teste de integridade da embalagem primária.

Quadro 11 - Resultados encontrados para teste de verificação da integridade da embalagem de PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3

	DETERMINAÇÃO DA INTEGRIDADE DA EMBALAGEM		
	IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA NC	Nº DE LOTE FABRICAÇÃO	TOTAL DE NC
<b>PMDP 1</b>	00	00	00
<b>PMDP 2</b>	00	00	00
<b>PMPC 1</b>	00	00	00
<b>PMPC 2</b>	00	00	00
<b>PMPC 3</b>	D96SS	14F2342	01

NC – Não conformidade

PMDP – Preservativo Masculino Direto do Produtor 1, 2

PMPC – Preservativo Masculino Pulverizado no Comércio 1, 2, 3

Quadro 11.1 – Correlação Lote de Fabricação/Identificação da Amostra/Quantidade de Unidades do Lote Coletado/Não Conformidade

IDENTIFICAÇÃO DO LOTE DE FABR.	IDENT. DA AMOSTRA AO LOTE	UNIDADES/LOTE	NÃO CONFORMIDADE
14F4608	A38FM B47FM	354	
14F2340	A38FM1	12	
14F3742	A38FM2 B47FM1	45	
14F2343	A38FM3	16	
13F5082	A38FM4	23	
14F1423	A38FM5	18	
13F5083	A38FM6	17	
14F2342	A38FM7 B47FM3 <b>D96SS</b>	67	01
14F2341	B47FM2	18	
14F1425	C51SS	30	

FIGURA 22 – Não conformidade encontrada no teste de verificação de Integridade da embalagem primária



Fonte: DQ/INCQS

## 5.9 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE VOLUMÉTRICA E DE PRESSÃO DE ESTOURO

O teste de insuflação é historicamente utilizado como indicador da resistência do preservativo, medindo a pressão e o volume de estouro. As principais vantagens são a avaliação quase total do produto, sensibilidade às falhas localizadas no filme, possibilidade de correlacionar o baixo desempenho no teste com a degradação e o envelhecimento do preservativo, bem como, com a taxa de rompimento em uso.

Avaliamos 200 unidades dos Lotes PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2 e PMPC3 conforme estabelecido no plano de amostragem, NQA de 1,5%, máximo de aceitos de 7 unidades de não conformes no Lote laboratorial PMPC1.

O Quadro 12 mostra a relação dos lotes de fabricação, a identificação das unidades e sua equivalência ao lote de fabricação e o número de unidades de cada lote de fabricação coletadas no comércio para formar o Lote laboratorial PMPC1.

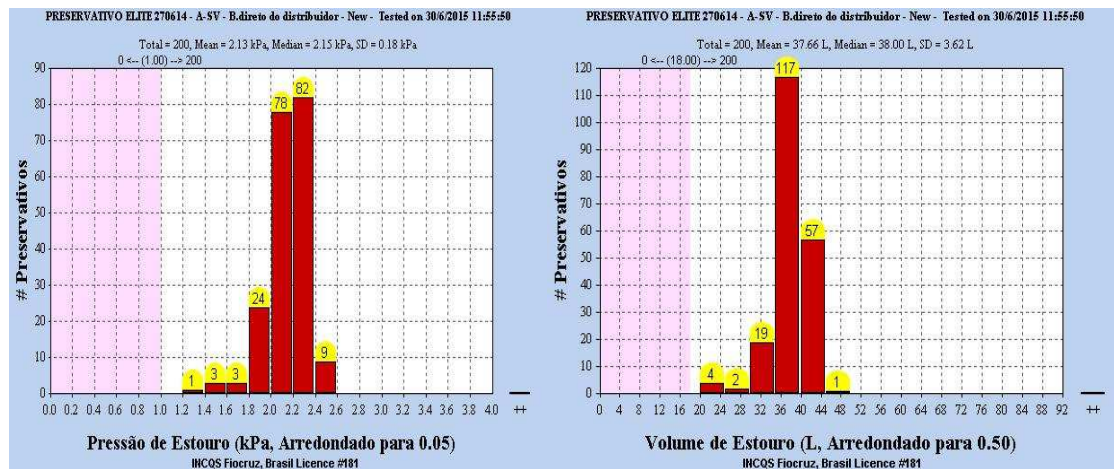


Quadro 12 – Relação dos lotes de fabricação, a identificação das unidades e sua equivalência ao lote de fabricação e o número de unidades de cada lote de fabricação coletadas no comércio para formar o Lote laboratorial PMPC1.

<b>IDENTIFICAÇÃO DO LOTE DE FABRICAÇÃO</b>	<b>EQUIVALÊNCIA DA AMOSTRA AO LOTE</b>	<b>UNIDADES/LOTE</b>
<b>D-FV</b>	A21FM F21FM	39
<b>A-FV</b>	B21FM C21FM	102
<b>D-SV</b>	B21FM1	186
<b>B-FII</b>	E21FM	33
<b>C-SV</b>	G47SS	30
<b>B-SIV</b>	H47CV	84
<b>B-FV</b>	H47CV2	42
<b>C-SII</b>	I16DV	144

O teste do volume apresenta-se como propriedade de maior importância neste teste. Observamos que a maior parte das não conformidades é maior no volume de estouro do que na pressão. As Figuras 23, 24, 25, 26, 27 mostram os histogramas dos resultados do ensaio de verificação da capacidade volumétrica e de pressão de estouro para os testes realizados nos lotes PMDP 1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3, respectivamente. Esses gráficos são gerados pelo programa do ensaio e os limites mínimos da pressão e do volume estão na parte escura do gráfico.

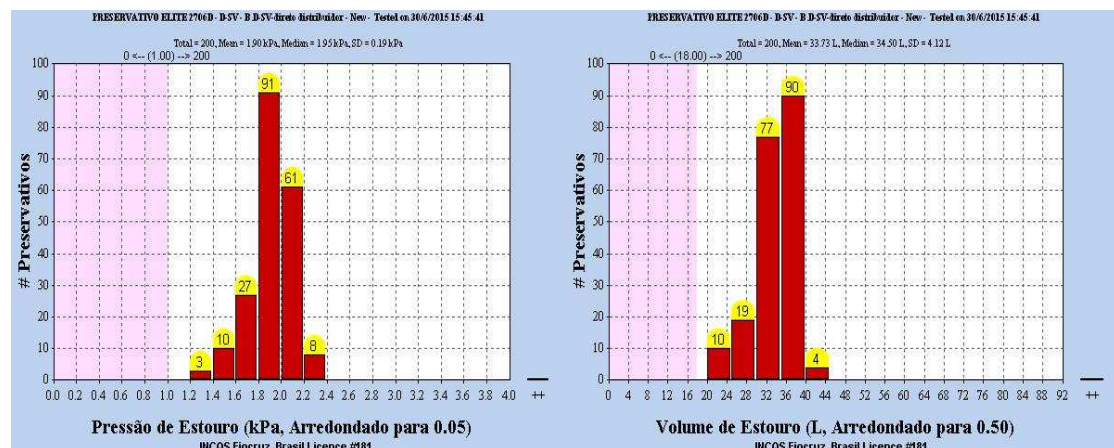
Figura 23 – Histograma do Lote PMDP1  
teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro



N = 200 unidades

PMDP1 – Preservativo Masculino Direto do Produtor 1

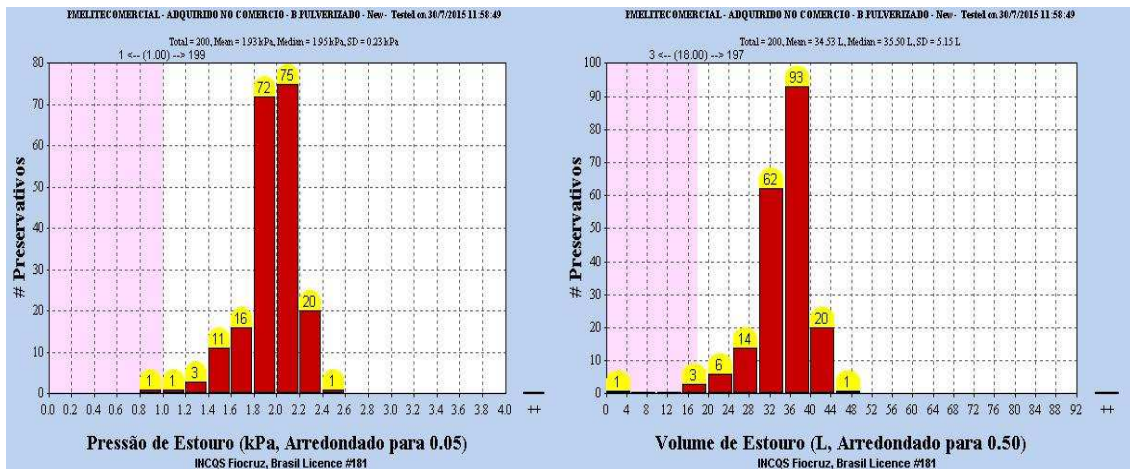
Figura 24 – Histograma do Lote PMDP2  
teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro



N = 200 unidades

PMDP2 – Preservativo Masculino Direto do Produtor 2

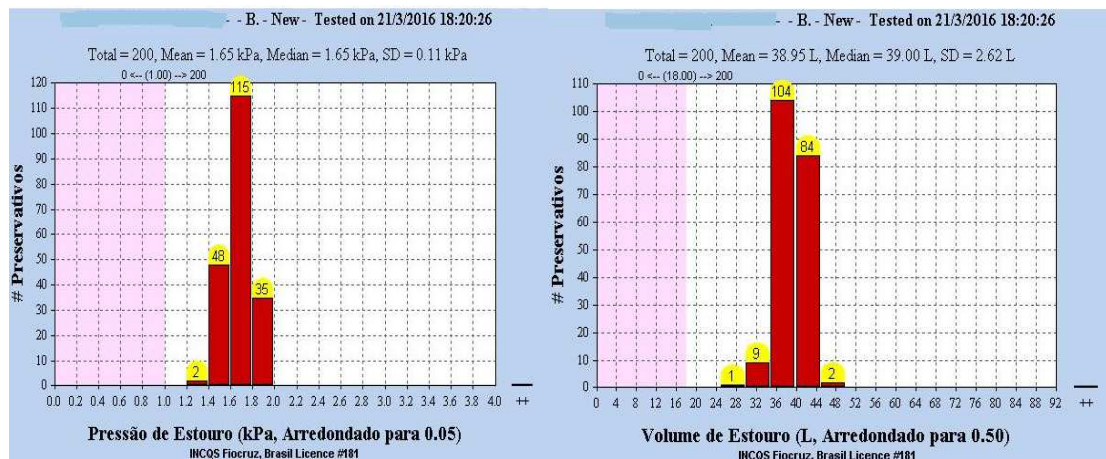
Figura 25– Histograma do Lote PMPC1 teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro



N = 200 unidades

PMPC1 – Preservativo Masculino Pulverizado do Comércio 1

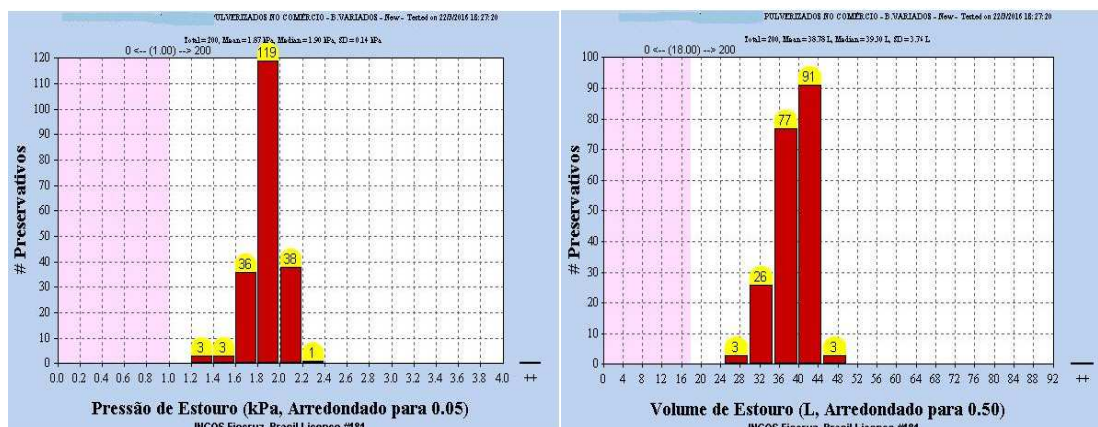
Figura 26 – Histograma do Lote PMPC2 teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro



N = 200 unidades

PMPC2 – Preservativo Masculino Pulverizado do Comércio 2

Figura 27 – Histograma do Lote PMPC3 teste de determinação da capacidade volumétrica e pressão de estouro



N = 200 unidades

PMPC3 – Preservativo Masculino Pulverizado do Comércio 3

Tabela 9 – Resultado das medidas de dispersão para o ensaio de determinação da capacidade volumétrica e de pressão de estouro dos Lotes Laboratoriais PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3.

LOTE	Pressão (kPa)				Volume (L)			
	$\bar{x}$	s	Ep	Variância	$\bar{x}$	s	ep	Variância
PMDP1	2,130	0,175	0,012	0,031	37,662	3,622	0,256	13,120
PMDP2	1,896	0,189	0,013	0,036	33,732	4,120	0,291	16,977
PMPC1	1,930	0,255	0,018	0,065	34,535	5,147	0,363	26,494
PMPC2	1,655	0,114	0,008	0,013	38,945	2,617	0,185	6,849
PMPC3	1,866	0,139	0,009	0,019	38,777	3,761	0,266	14,142

$\bar{x}$  - Média s - desvio padrão ep - erro padrão

PMDP – Preservativo Masculino Direto do Produtor 1, 2

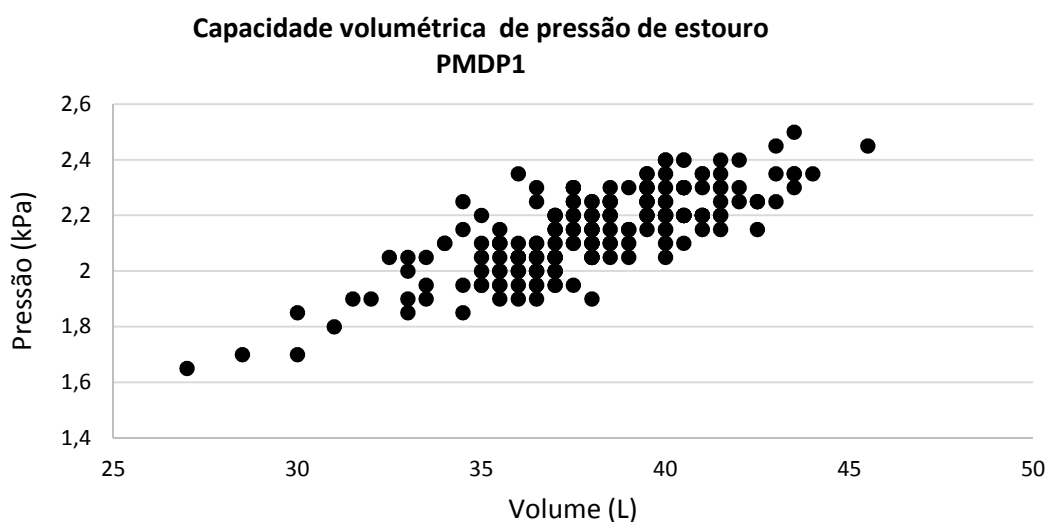
PMPC – Preservativo Masculino Direto do Produtor 1, 2, 3

A Tabela 9 mostra que as médias de pressão de estouro variaram entre 1,896 e 2,130 (kPa) e as do volume entre 33,732 e 38,945 (L). Considerando o erro padrão e que os Lotes PMPC1, PMPC2, PMPC3 são lotes de fabricação pulverizados, não há equivalência estatística tanto para pressão como para o

volume, podendo ser considerado como limitações intrínsecas ao método de ensaio e a variabilidade dos preservativos que são fabricados em massa.

As Figuras 28 a 32 mostram os gráficos que representam variabilidades de cada Lote estudado para pressão e volume de estouro, mostrando que as unidades não são uniformes. Entretanto, a distribuição alonga para esquerda, tanto para pressão como para o volume, caracterizando uma distribuição não normal contaminada por “outliers”, porém dentro da área de conformidade, com exceção do Lote PMPC1 que apresentou valores de pressão e volume abaixo dos valores estabelecidos.

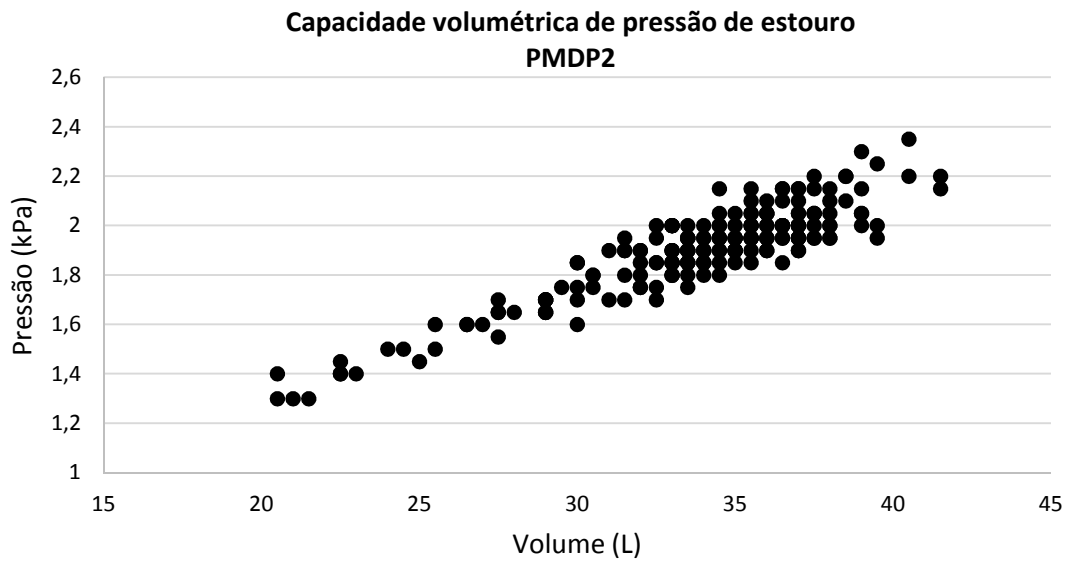
Figura 28 – Gráfico do teste determinação da capacidade volumétrica de pressão e de estouro do Lote PMDP1



N = 200

PMDP1 – Preservativos Masculinos Direto do Produtor 1

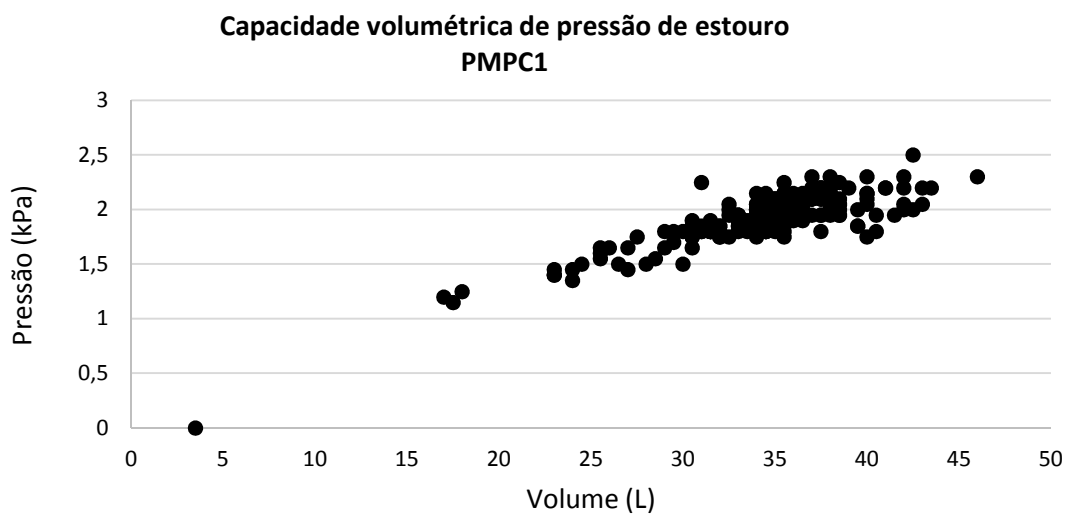
Figura 29 – Gráfico do teste determinação da capacidade volumétrica de pressão e de estouro do Lote PMDP2



N = 200

PMMP2 – Preservativos Masculinos Direto do Produtor 2

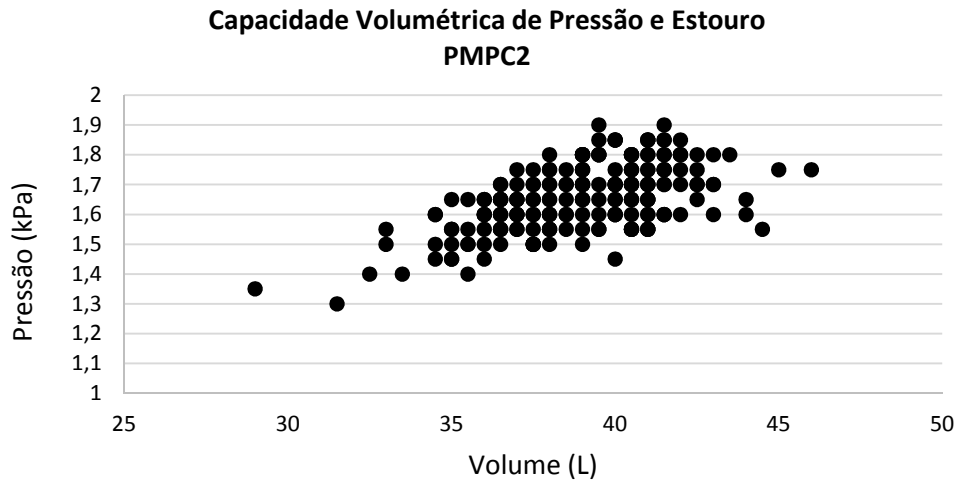
Figura 30 – Gráfico do teste determinação da capacidade volumétrica de pressão e de estouro do Lote PMPC1



N = 200

PMPC1 – Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio 1

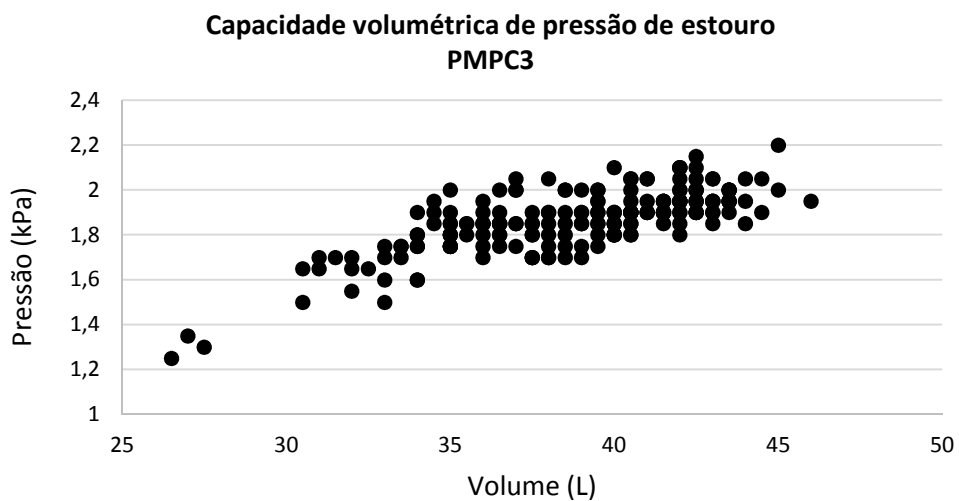
Figura 31 – Gráfico do teste determinação da capacidade volumétrica de pressão e de estouro do Lote PMPC2



N = 200

PMPC2 – Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio 2

Figura 32 – Gráfico do teste determinação da capacidade volumétrica de pressão e de estouro do Lote PMPC3



N = 200

PMPC3 – Preservativos Masculinos Pulverizados no Comércio 3

A norma estabelece os limites mínimos individuais iguais a 1 kPa e 18 dm<sup>3</sup> para a pressão e volume de estouro, respectivamente. A amostra não conforme é aquela que apresenta não conformidade em ambos os parâmetros ou em um deles. No Lote laboratorial PMPC1 encontramos não conformidades, para ambos os requisitos (pressão e volume). A Tabela 10 mostra os resultados de não conformidades encontradas, a correlação com o lote de fabricação, a identificação da unidade não conforme, e o total de unidades não conformes por lote identificado para o teste de verificação de capacidade volumétrica e de pressão de estouro. A Tabela 4 representa os Lotes Laboratoriais estudados, quantidades avaliadas e as não conformidades encontradas.

A incidência de não conformidades no volume de estouro é maior do que na pressão de estouro pois, em geral, a amostra que apresenta não conformidade na pressão também apresenta no volume.

Tabela 10 – Resultados de não conformidades encontradas para o teste de verificação da capacidade volumétrica e pressão de estouro dos Lotes Laboratoriais PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3, identificando as amostras e sua correlação com o lote de fabricação

#### VERIFICAÇÃO DA CAPACIDADE VOLUMÉTRICA E PRESSÃO DE ESTOURO

	IDENTIFICAÇÃO NO LOTE LABORATORIAL	Nº DE LOTE DE FABRICAÇÃO	TOTAL DE NC
<b>PMDP 1</b>	00	00	00
<b>PMDP 2</b>	00	00	00
<b>PMPC 1</b>	B21FM1	D-SV	01
	G47SS	C-SV	01
	H47CV	B-SIV	01
	I16DV	C-SII	01
	F21FM	D-FV	01
<b>PMPC 2</b>		00	00
<b>PMPC 3</b>		00	00

NC – Não conformidade

PMDP – Preservativo Masculino Direto do Produtor 1, 2

PMPC – Preservativo Masculino Pulverizado no Comércio 1, 2, 3



Tabela 10.1 – Lotes Laboratoriais/quantidades de unidades avaliadas/não conformidades encontradas

AMOSTRAS	N	p	V	total
<b>PMDP 1</b>	200	00	00	00
<b>PMDP 2</b>	200	00	00	00
<b>PMPC 1</b>	200	03	05*	05
<b>PMPC 2</b>	200	00	00	00
<b>PMPC 3</b>	200	00	00	00

\* Foram encontrados dois preservativos furados em PMPC1.

**P** - pressão **V** - volume

PMDP – Preservativo Masculino Direto do Produtor 1, 2  
PMPC – Preservativo Masculino Pulverizado no Comércio 1, 2, 3

Pelas características dos gráficos, podemos notar uma variabilidade nos lotes de fabricação, tanto nos lotes pulverizados como também nos testes realizados com preservativos de mesmo lote de fabricação. Isso pode ser explicado por ser um produto produzido em massa, pela influência das propriedades do filme de látex que dependem do látex original, do tipo de armazenamento até a sua utilização, do tempo de maturação do látex, da dispersão, da composição (látex + dispersão), das condições de imersão e de vulcanização, das condições e do tempo de estocagem após o *dipping* e antes da finalização do produto. O que ressalta a importância de além da certificação, uma análise de monitoramento *versus* análise controle *versus* análise fiscal, por se tratar de um produto heterogêneo em cada lote de fabricação.

## 5.10 EMBALAGEM E ROTULAGEM

As embalagens primárias e de consumo devem satisfazer as condições prescritas no ANEXO I da RDC/62.

Os resultados encontraram uma (1) não conformidades em relação a embalagem de consumo, segundo o item f, do Anexo I.4.2 da RDC na amostra PMPC1. Esse item tem os seguintes dizeres “*proteja este produto do calor, da umidade e da luz*” como mostra a Figura 33 a embalagem danificada

possivelmente pela ação do sol. Vale ressaltar, como essa embalagem pertence ao Lote de preservativos pulverizados no comércio, entendemos então que esta não conformidade foi em decorrência do não acondicionamento adequado por parte do comerciante, estando em desacordo com as orientações disponíveis na própria embalagem do produto. O Quadro 13 e a Tabela 11 mostram a identificação do preservativo com embalagem não conforme.

Figura 33 – Embalagem de consumo danificada pela ação da luz.



Quadro 13 – Identificação preservativo com embalagem não conforme no teste de embalagem e rotulagem

CORRELAÇÃO DO LOTE DE FABRICAÇÃO/IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA DE EMBALAGEM NÃO CONFORME	
Lote de fabricação	IDENT. NO LOTE LABORAT.
D-FV	A21FM

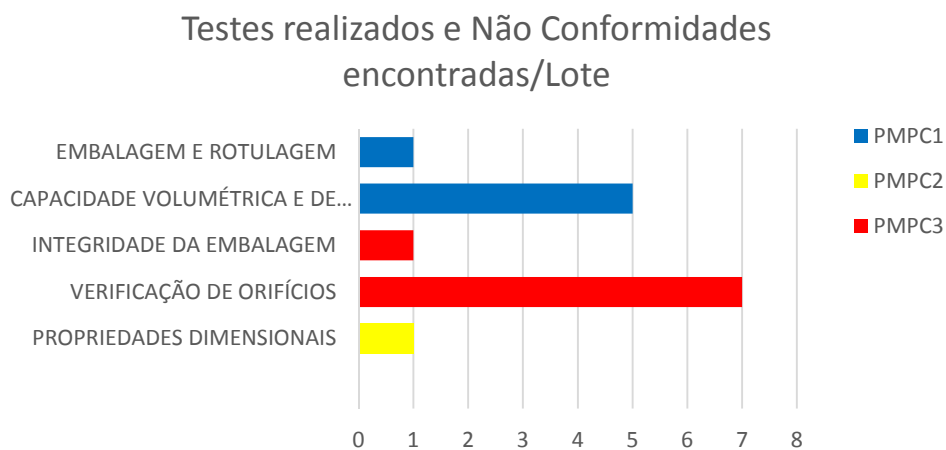
Na Tabela 11 podemos observar que, em todos os Lotes pulverizados no comércio, para os testes físicos, encontramos não conformidades em um ou outro ou ambos os testes. Somente nos Lotes PMDP1 e PMDP2 não houve ocorrência de nenhuma não conformidades. A Figura 34 mostras os ensaios realizados e as não conformidades encontradas nos Lotes estudados para os testes físicos.

Tabela 11 – Testes realizados e não conformidades encontradas nos Lotes Laboratoriais

	<b>PMDP1</b>	<b>PMDP2</b>	<b>PMPC1</b>	<b>PMPC2</b>	<b>PMPC3</b>
Propriedades Dimensionais	-	-	-	1	-
Verificação de orifícios	-	-	-	-	7
Integridade da embalagem	-	-	-	-	1
Capacidade volumétrica e pressão de estouro	-	-	5	-	-
Embalagem e rotulagem	-	-	1	-	-

PM DP – Preservativo Masculino Direto do Produtor 1, 2  
 PM PC – Preservativo Masculino Pulverizado no Comércio 1, 2, 3

Figura 34 - Testes realizados e não conformidades encontradas nos Lotes laboratoriais



## 6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

A versão original do Regulamento Técnico de Qualidade nº 9 do INMETRO previa a realização de testes microbiológicos para o controle de qualidade dos preservativos masculinos. Entretanto, esse procedimento deixou de ser exigido na versão final, tendo a Secretaria de Vigilância Sanitária adotado o mesmo procedimento que se verifica em âmbito internacional. Os testes microbiológicos também não se incluem entre os requisitos de controle de qualidade dos preservativos adotados pela Comunidade Europeia e em nenhuma nação industrializada (SCHIAVO, 1997).

Entretanto, a RDC 62/2008 estabelece em princípios gerais que os fabricantes deverão tomar as precauções adequadas para minimizar a contaminação microbiológica do produto durante o processo de fabricação e embalagem e, estabelece ainda que, quando se realiza a avaliação, a contagem de microorganismos aeróbios totais devem ser menores que 100 ufc/g e deve comprovar a ausência de *enterobactéria*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. A Figura 35 mostra a avaliação microbiológica realizada nos preservativos masculinos.

Figura 35 – Avaliação microbiológica dos preservativos masculinos



Fonte: Prof<sup>a</sup>. Joana Angélica B. Ferreira. Dep. Microbiologia, INCQS/Fiocruz

Os Quadros 14 a 18 mostram os resultados encontrados nos testes microbiológicos para os Lotes laboratoriais PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3. O Quadro 19 mostra os microorganismos encontrados nos Lotes Laboratoriais e suas respectivas identificações. O Quadro 20 mostra os preservativos não conformes encontrados nos testes microbiológicos, identificando os Lotes laboratorial e correspondentes lotes de fabricação.

Segundo Versalovic e colaboradores, os microorganismos encontrados nos Lotes estudados tem as seguintes características (VERSALOVIC, 2011).

***Escherichia coli*** – bastonete Gram-negativo, são patógenos capazes de causar doenças debilitantes em tecidos intestinais e extra intestinais, como gastroenterite, intoxicação alimentar, infecções nos tratos urinários e respiratórios, as vezes podendo levar ao óbito.

***Citrobacter freundii***, esta bactéria pode ser isolada de análises clínicas como agente patogênico - causadores de doença, podendo ser encontradas nas fezes dos humanos e animais

***Pseudomonas aeruginosa*** – bastonete Gram-negativo, flagelado e aeróbio. É um microrganismo versátil e encontrado em diferentes ambientes, incluindo solo, água, animais e plantas. É considerado mais um patógeno secundário ou oportunista do que causador de infecções primárias em pacientes saudáveis, apesar disso, é um microrganismo de importância clínica, visto que é um dos principais patógenos causadores de infecções hospitalares em pacientes debilitados ou imunodeficientes.

***Candida albicans*** – Fungo presente na microbiota intestinal e genitourinária em 70% dos humanos. É um patógeno oportunista, causando normalmente infecções brandas ou assintomáticas em indivíduos saudáveis e infecções mais severas em indivíduos com sistema imunológico debilitado. Os exemplos mais comuns de infecção por *C. albicans* são a candidíase orofaríngea e a candidíase vulvovaginal. Adicionalmente às infecções em mucosas, o microrganismo pode causar infecções sistêmicas e invasivas, que são infecções potencialmente letais, onde o fungo atravessa a barreira epitelial e atinge a corrente sanguínea (candidemia), podendo infectar quase todos os órgãos.

***Enterobacter cloacae*** é facultativamente anaeróbia sua morfologia é forma de bastonete, encontra-se amplamente distribuída em água, esgotos, solo, carne, ambientes hospitalares; na pele e trato intestinal do homem e outros animais comporta-se comensal. Está associada a infecções do trato urinário, infecções do trato respiratório, sepse e bacteremia.

***Pseudomonas stutzeri*** - -septicemia, osteomielite e artrite, endocardite, meningite, pneumonia e/ou empiema, ectima gangrenosa, ventriculite.

Quadro 14 – Resultados dos testes microbiológicos para o Lote laboratorial PMDP1

AMOSTRA	IDENT. NO LOTE DE FABRICAÇÃO	DATA DA AVALIAÇÃO	Bactérias aeróbias totais U.F.C/g	<i>Enterobactérias</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	OUTROS
Preservat. Masculino	D-FIV	01/02/2016	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Bolores e Leveduras Ausência em 1g

PMDP1 – Preservativo Masculino Direto do Produtor 1

UFC – unidade de formação de colônias

Quadro 15 – Resultados dos testes microbiológicos para o Lote laboratorial PMDP2

AMOSTRA	IDENT. NO LOTE DE FABRICAÇÃO	DATA DA AVALIAÇÃO	Bactérias aeróbias totais U.F.C/g	<i>Enterobactérias</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	OUTROS
Preservat. Masculino	A-FIV	01/02/2016	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Bolores e Leveduras Ausência em 1g

PMDP2 – Preservativo Masculino Direto do Produtor 2

UFC – unidade de formação de colônias

Quadro 16 – Resultados dos testes microbiológicos para Lote laboratorial PMPC1

AMOSTRA	IDENT. NO LOTE LABOR.	DATA	Bactérias aeróbias totais U.F.C/g	<i>Enterobactérias</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	OUTROS
Preserv. Masculino	B21FM1	02/12/15	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	
Preserv. Masculino	F21FM	02/12/15	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência de 1g	
Preserv. Masculino	G47SS	02/12/15	1,3 x 10 <sup>3</sup>	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência de 1g	
Preserv. Masculino	I16DV	02/12/15	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência de 1g	
Preserv. Masculino	H47CV	02/12/2015	3,0 x 10 <sup>5</sup>	Presença de <i>Enterobacter cloacae</i> e <i>Citrobacter freundii</i>	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Presença de <i>Candida albicans</i> em 1g	Presença de <i>Pseudomonas stutzeri</i>

PMPC1 – Preservativo Masculino Pulverizado no Comércio 1

UFC – unidade de formação de colônias



Quadro 17 – Resultados dos testes microbiológicos para Lote laboratorial PMPC2

<b>AMOSTRA</b>	<b>IDENT. NO LOTE LABOR.</b>	<b>DATA</b>	<b>Bactérias aeróbias totais U.F.C/g</b>	<b><i>Enterobactérias</i></b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	<b><i>Candida albicans</i></b>	<b>OUTROS</b>
Preservat. Masculino	A81SS	07/01/15	1,6 x 10 <sup>3</sup>	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	

PMPC2 – Preservativo Masculino Pulverizado no Comércio 2

UFC – unidade de formação de colônias

Quadro 18 – Resultados dos testes microbiológicos para Lote laboratorial PMPC3

AMOSTRA	IDENT. NO LOTE LABOR.	DATA	Bactérias aeróbias totais U.F.C/g	<i>Enterobactérias</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	OUTROS
Preserv. Maculino	B47FM1	21/03/2016	1,0 x 10 <sup>3</sup>	Presença de <i>Escherichia coli</i>	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Bolores e Leveduras Ausência em 1g
Preserv. Maculino	A38FM1	21/03/2016	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Bolores e Leveduras Ausência em 1g
Preserv. Maculino	B47FM2	21/03/2016	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Bolores e Leveduras Ausência em 1g
Preserv. Maculino	A38FM4	21/03/2016	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Bolores e Leveduras Ausência em 1g
Preserv. Maculino	A38FM7	21/03/2016	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Bolores e Leveduras Ausência em 1g
Preserv. Maculino	A38FM3	21/03/2016	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Presença em 1g	Bolores e Leveduras 3,0 x 10 <sup>2</sup> U.F.C/g
Preserv. Maculino	C51SS	21/03/2016	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Bolores e Leveduras Ausência em 1g
Preserv. Maculino	A38FM	21/03/2016	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Bolores e Leveduras Ausência em 1g
Preserv. Maculino	A38FM6	21/03/2016	< 10	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Bolores e Leveduras Ausência em 1g

PMPC3 - Preservativo Masculino Pulverizado no Comércio 3  
UFC – unidade de formação de colônias

Quadro 19 – Microrganismos encontrados nos Lotes laboratoriais e identificação das unidades insatisfatórias

	<b>PMDP1</b>	<b>PMDP2</b>	<b>PMPC1</b>	<b>PMPC2</b>	<b>PMPC3</b>
<b>Bactérias aeróbias totais</b> U.F.C/g	-	-	G47SS H47CV	A81SS	B47FM1
<b><i>Enterobactérias</i></b>	-	-	H47CV	-	-
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	-	-	-	-	-
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	-	-	-	-	-
<b><i>Candida albicans</i></b>	-	-	H47CV	-	A38FM3
<b>Bolores e Leveduras</b>	-	-	-	-	A38FM3
<b><i>Escherichia coli</i></b>	-	-	-	-	B47FM1
<b><i>Pseudomonas stutzeri</i></b>	-	-	H47CV	-	-
<b><i>Citrobacter freundii</i></b>	-	-	H47CV	-	-
<b><i>Enterobacter cloacae</i></b>	-	-	H47CV	-	-

A ISO 4074 foi revisada em novembro de 2015 com as seguintes recomendações:

*“Recomenda-se que os fabricantes deve estabelecer procedimentos para o monitoramento periódico de contaminação microbiana (biocarga) como parte de seu sistema de gestão da qualidade, incluindo os requisitos para a ausência dos agentes patogénicos e limites para a contagem total viável sobre os preservativos acabados específicos; métodos de determinação dos níveis de bioburden sobre os preservativos são dadas no Anexo G”.*

De acordo com os resultados encontrados, nos Lotes laboratorial pulverizados foram encontradas unidades **insatisfatórias** em relação as análises microbiológicas apresentadas nos Quadro 19 e 20.

Quadro 20 – Preservativos não conformes em relação as análises microbiológicas, Lotes laboratorial, identificação da amostra e os correspondentes lotes de fabricação

LOTE LABORATORIAL	Identificação das amostras nos Lotes laboratoriais	Lote Fabricação
PMPC1	G47SS H47CV	C-SV B-SIV
PMPC2	A81SS	D36140401
PMPC3	B47FM1 A38FM3	14F3742 14F2343

As bactérias encontradas estão presentes entre os agentes etiológicos dominantes, responsáveis por mais de 85% dos casos de infecção das vias urinárias, dentre eles os bacilos Gram-negativos que são habitantes normais do trato intestinal. O mais comum é a *Escherichia coli*, seguida dos gêneros *Proteus*, *Klebsiella* e *Enterobacter*. Entre as bactérias Gram positivas, encontram-se o *Enterococcus faecalis* e espécies do gênero *Staphylococcus*. Mas praticamente todos os outros agentes bacterianos e fúngicos também podem causar infecção do trato urinário (ITU). (ROBBINS *et al*,2000).

## 7 AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE

O estudo *in vitro* utilizando culturas de células se enquadra no Princípio dos 3Rs que preconiza a redução, o refinamento e a substituição dos ensaios “*in vivo*” pelo “*in vitro*”.

De acordo com a ISO 10993, o ensaio de citotoxicidade *in vitro* é o primeiro teste biológicos a ser realizar para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material de uso em dispositivos biomédicos.

O látex de borracha natural comercial, concentrado a 60%, é submetido ao processo de vulcanização para adquirir boas propriedades mecânicas. Mundialmente é empregado o processo térmico na presença de enxofre descoberto por Charles Goodyear em 1839 (BRASIL, MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E, 1993). Esse processo consiste em formar uma rede tridimensional entre as moléculas poliméricas da borracha, transformando as propriedades plásticas em elastomérica através da utilização de enxofre, aceleradores e óxido de zinco na presença de calor. Estes compostos são alergênicos e podem gerar efeitos tóxicos devido a esses produtos adicionados.

A revisão da ISO 4074, em novembro de 2015, adicionou os critérios específicos definido na ISO 10993-1, para avaliação de biocompatibilidade em preservativos masculinos de látex natural.

O grau de citotoxicidade é quantificado numa escala de 0 a 4 como mostra o Quadro 21. A amostra é considerada satisfatória se nenhuma cultura exposta à amostra-teste mostrar citotoxicidade superior ao grau 2 (citotoxicidade branda). O Quadro 22 representa os resultados dos testes de citotoxicidade encontrados para os Lotes PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3.

Quadro 21 - Classificação do grau de citotoxicidade

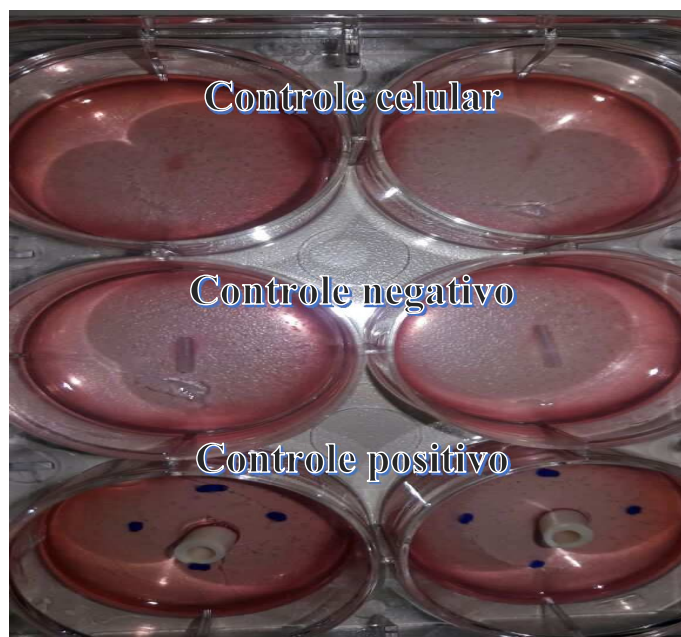
<b>GRAU</b>	<b>CITOTOXICIDADE</b>	<b>DESCRIÇÃO DA ZONA DE CITOTOXICIDADE</b>
0	Ausência	Ausência de descoramento ao redor ou sobre a amostra
1	Leve	Zona de descoramento limitada à área sob a amostra
2	Branda	Tamanho da zona de descoramento a partir da amostra menor que 0,5 cm.
3	Moderada	Tamanho da zona de descoramento a partir da amostra compreendido entre 0,5 a 1,0 cm
4	Severa	Tamanho da zona de descoramento a partir da amostra maior que 1,0 cm, porém, não envolvendo a placa inteira

Quadro 22 – Resultados dos testes de citotoxicidade dos Lotes PMDP1, PMDP2, PMPC1, PMPC2, PMPC3

	<b>GRAU DE CITOTOXICIDADE</b>	
<b>PMDP 1</b>	2	Branda
<b>PMDP 2</b>	2	Branda
<b>PMPC 1</b>	2	Branda
<b>PMPC 2</b>	3	Moderada
<b>PMPC 3</b>	2	Branda

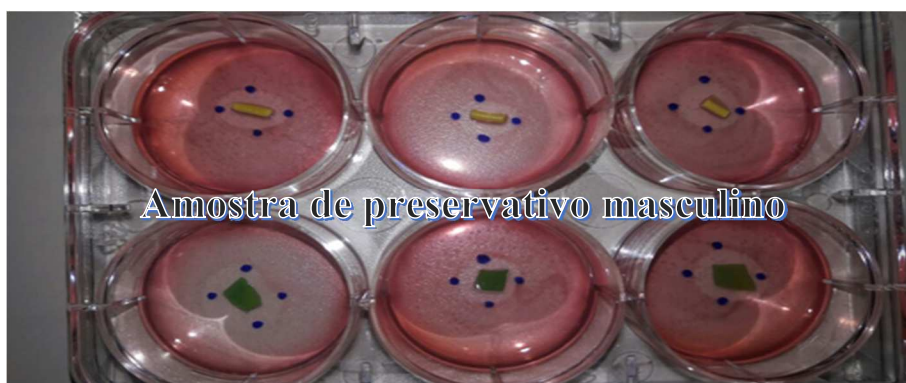
Os resultados mostram que, em todos os lotes, foram encontrados grau de citotoxicidade. Entretanto, um dos Lotes (PMPC2), o tamanho da zona de descoramento a partir da amostra foi de 0,91 cm. A cultura exposta à amostra-teste mostrou citotoxicidade de grau 3 (citotoxicidade moderada) sendo considerado insatisfatório.

Figura 36 – Teste de citotoxicidade: Controles celular, negativo e positivo



Fonte: Renata Calil /DFT/INCQS/Fiocruz

Figura 37 – Teste de citotoxicidade: Amostra de preservativo masculino



Fonte: Renata Calil /DFT/INCQS/Fiocruz

## 8 ESTUDO DE ANÁLISE ESPACIAL DE GEOPROCESSAMENTO

Os dados dos lotes pulverizados foram mapeados permitindo maior rastreabilidade. Através das Figuras 35 e 36 pode-se observar os mapas georeferenciados com os pontos onde foram coletados os preservativos pulverizados no comércio nacional e as não conformidades encontradas por pontos e os tipos de estabelecimentos comerciais onde foram adquiridos os preservativos e suas localizações regionais respectivamente.

Figura 38 - Mapa georeferenciado com os pontos de coleta dos preservativos pulverizados no comércio e as não conformidades encontradas por ponto

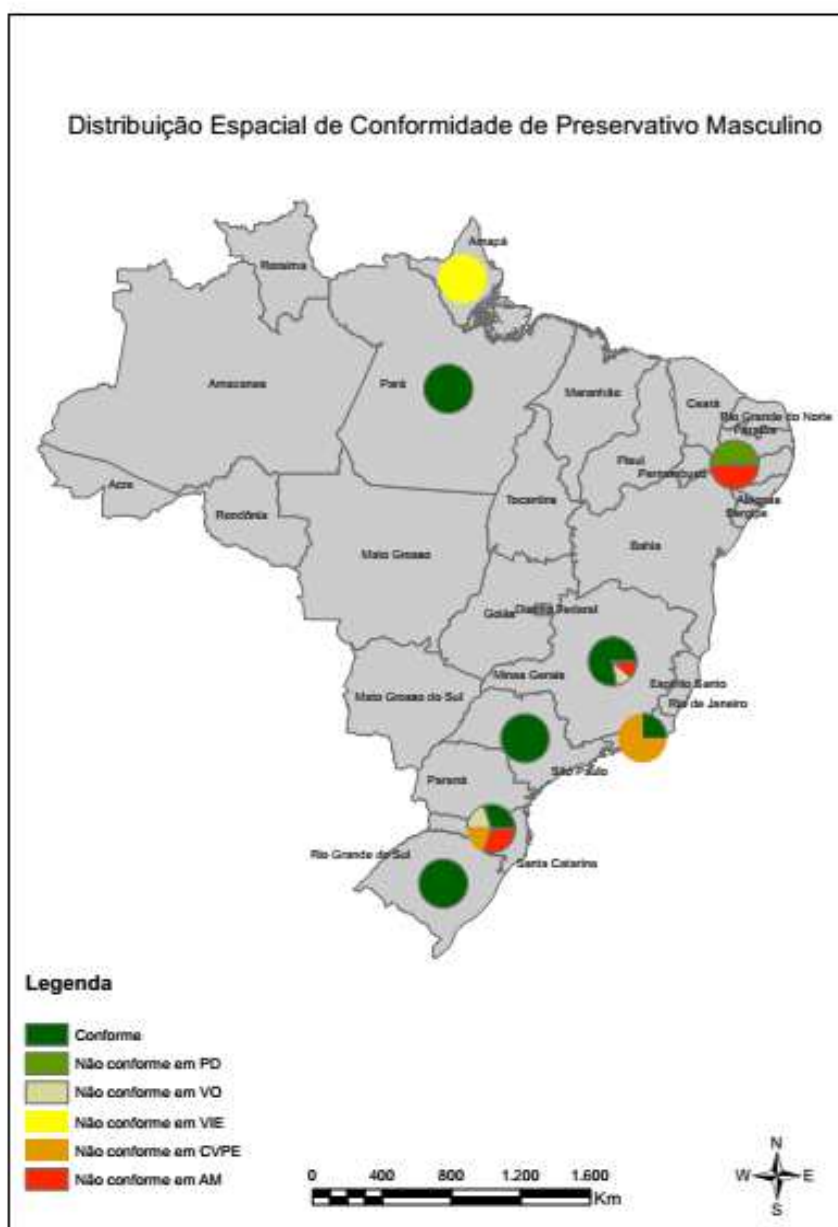
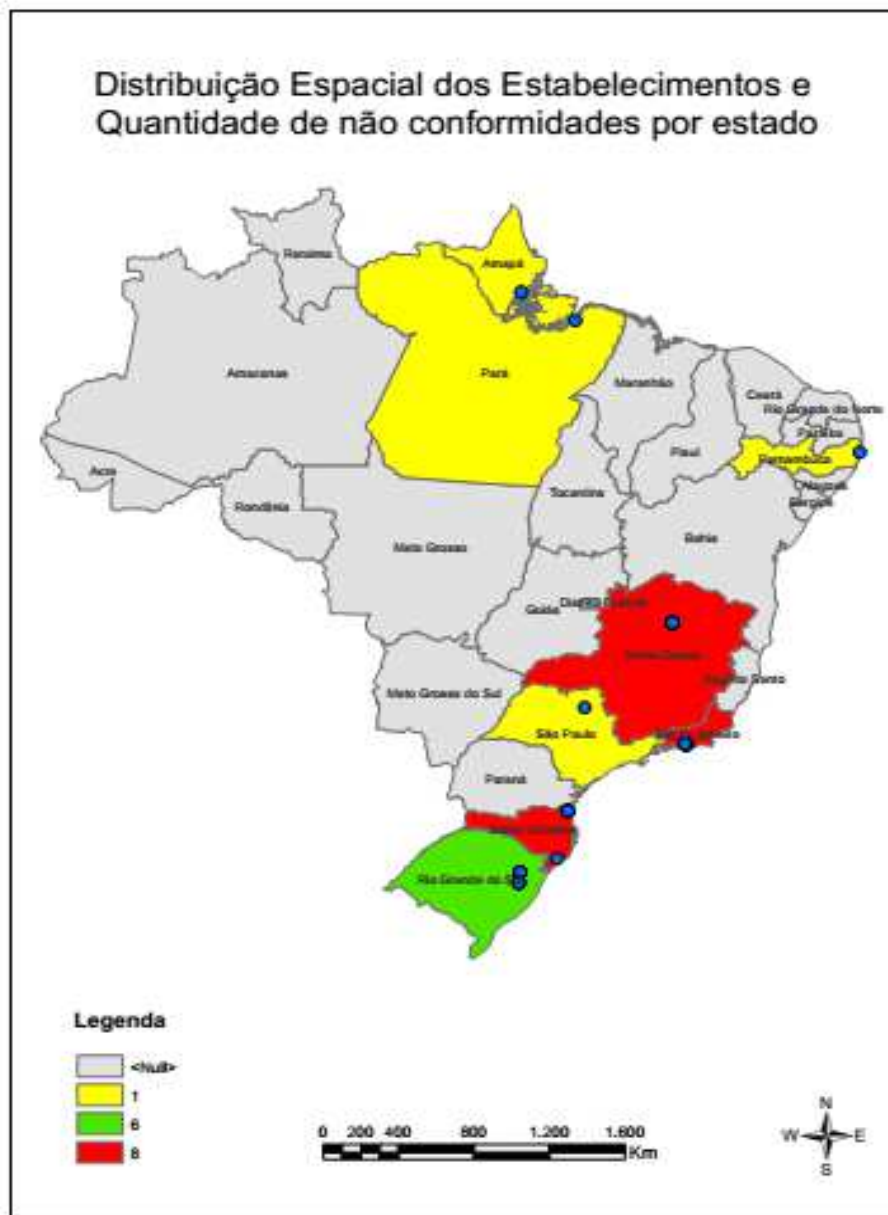




Figura 39 - Mapa georeferenciados com os tipos de estabelecimentos comerciais onde foram adquiridos os preservativos pulverizados e suas localizações regionais.



## 9 CONCLUSÕES

- O modelo desenvolvido imprime nova vertente de tecnovigilância sistematizada e ativa para preservativos masculinos, unindo um conjunto de dados, se afirmando pela utilização dos ensaios analíticos físicos, microbiológico e citotóxicos, disponibilizados pelo laboratório de Saúde Pública, aliando uma ferramenta de informação tecnológica para o mapeamento e a rastreabilidade através do estudo de análise espacial de geoprocessamento, acenando um caminho que possibilita direcionar as ações de Vigilância Sanitária, permitindo que o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária possa responder adequadamente às notificações recebidas.
- Os resultados observados permitem indicar a necessidade de ação da Vigilância Sanitária no produto no mercado, visto que, em todos os lotes pulverizados no comércio encontramos não conformidades em um ou outro ou ambos os ensaios realizados.
- Os diferentes testes são complementares e não estão necessariamente correlacionados. Isso ilustra a importância de executar as análises de qualidade de maneira ampla, pois, na maioria das vezes, o lote de fabricação, aponta não conformidade em um ou mais testes.
- No teste de determinação da capacidade volumétrica e de pressão de estouro, o número de não conformidades no volume de estouro é maior do que o número de não conformidade na pressão de estouro, pois, quando os preservativos estão não conformes na pressão também estão no volume.
- As normas contabilizam “amostra defeituosa”, e não o parâmetro “não-conforme”, dessa forma, o total de amostras defeituosas por lote não é a soma do número das não-conformidades individuais por parâmetros. Neste caso, no teste de determinação da capacidade volumétrica de pressão de estouro, os parâmetros, pressão e volume, deveriam ser considerados parâmetros individuais quando monitorados pela Vigilância Sanitária, em função da avaliação do risco sanitário.
- Na avaliação microbiológica, os resultados apontam a necessidade de inclusão, como critérios de aceitação, a presença ou não de microrganismos patogênicos.

- A revisão da norma ISO 4074 em novembro de 2015 reforçou os acréscimos e mudanças em relação aos testes físicos preconizados para o controle de qualidade dos preservativos masculinos e a necessidade de atualização da Resolução de Diretoria Colegiada (RDC), número 62 de setembro de 2008, além da atuação do papel da Vigilância Sanitária.

## **10 PRODUTO FINAL**

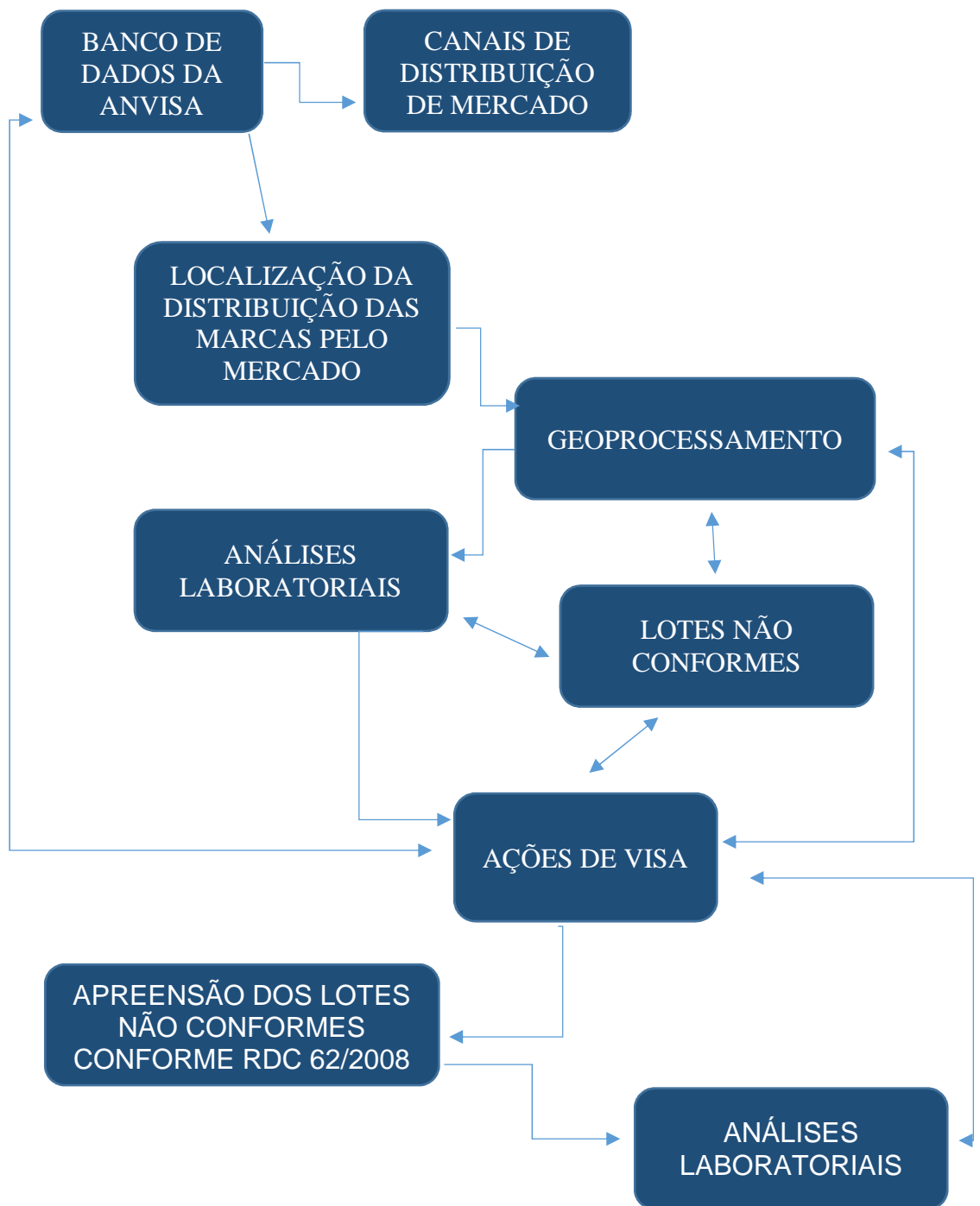
Este modelo foi desenvolvido baseado nos critérios estabelecidos pela RDC 62/2008. No entanto, muito embora imprima nova vertente de tecnovigilância sistematizada e ativa para preservativos masculinos, para concluir se um lote está ou não reprovado ao uso, é fundamental que os ensaios sejam realizados em um único lote de fabricação. Por ser muito difícil a coleta de uma grande quantidade de preservativos no comércio, a metodologia de coleta aplicada com preservativos pulverizados, mesclando diferentes lotes de fabricação de mesma marca, informa o número de amostras não conformes no universo coletado, abrindo o espaço para atuações do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária.

O modelo começa com uma pesquisa ao banco de dados da ANVISA para diagnosticar o número de preservativos registrados e seus respectivos fabricantes. Aliado a isso, pesquisar os canais de distribuição do produto no mercado para localização das marcas e suas distribuições no comércio nacional. Após a localização das distribuições comerciais das marcas, o geoprocessamento fará a localização das amostras pulverizadas. Uma vez definido a localização, são coletadas no mercado, enviadas ao laboratório, cadastradas no sistema de georreferenciamento. As análises são realizadas e identificados todos os lotes de fabricação não conformes. Os laudos parciais são elaborados e são solicitadas ações de Vigilância Sanitária para que sejam coletados, segundo a amostragem estabelecida pela RDC 62/2008, amostras dos lotes de fabricação considerados não conformes na etapa inicial de amostra pulverizada. A Vigilância Sanitária apreende os lotes solicitados, retornam ao laboratório onde são realizadas as análises. Os laudos são concluídos e enviados a Vigilância Sanitária para as devidas providências.

O fluxo é uma sequência operacional que orienta o desenvolvimento das ações de Vigilância Sanitária no monitoramento dos preservativos masculinos comercializados no mercado nacional, possibilitando entender, identificar e mapear, apontando, onde e como essas ações deveram ocorrer. Dessa forma, é fundamental que o seguimento seja contínuo e realizado, passo a passo, como mecanismo essencial para iniciar o movimento de ação. A Figura 40 mostra o fluxo do modelo estabelecido.

Figura 40 - Modelo de tecnovigilância sistematizado e ativo para preservativos masculinos de látex natural

## TECNOVIGILÂNCIA SISTEMATIZADO E ATIVO



## **11 PERSPECTIVAS**

Muito embora exista o processo de certificação que avalia com detalhes a produção e o produto ao final da fabricação, indiferentemente deste processo, o modelo apresentado reúne as condições necessárias para promover as ações do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária no monitoramento dos preservativos masculinos no comércio.

Sendo os preservativos masculinos um produto de alta complexidade, de apelo econômico, universal e de políticas públicas de prevenção de ISTs, nossa perspectiva é que, esse modelo se integre às ações do Sistema de Vigilância Sanitária, com viés do risco sanitário, se expressando como ferramenta que impulsionará as ações de tecnovigilância do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, visando o aumento da confiabilidade sanitária na utilização do preservativo masculino.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de tecnovigilância: abordagens de Vigilância Sanitária de produtos para saúde comercializados no Brasil**. Brasília, 2010. (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 03, de 08 de janeiro de 2002. Os preservativos masculinos de látex de borracha natural devem atender às prescrições do Regulamento Técnico que consta do anexo desta Resolução. Brasília, 2002. Acesso em: 21 set. 2010. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0003\\_08\\_01\\_2002.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0003_08_01_2002.html)>.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 56, de 06 de abril de 2001. Estabelece os requisitos essenciais de segurança e eficácia aplicáveis aos produtos para saúde, referidos no Regulamento Técnico anexo a esta resolução. Brasília, 2001. Acesso em: 07 maio 2014. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/rdc0056\\_06\\_04\\_2001.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/rdc0056_06_04_2001.html)>.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 59, de 27 de junho de 2000. Determina a todos fornecedores de produtos médicos, o cumprimento dos requisitos estabelecidos pelas "Boas Práticas de Fabricação de Produtos Médicos". Brasília, 2000. Acesso em: 12 jan. 2015. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2000/rdc0059\\_27\\_06\\_2000.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2000/rdc0059_27_06_2000.pdf)>.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 62, de 03 de setembro de 2008. Estabelece os requisitos mínimos a que devem obedecer aos Preservativos Masculinos de Látex de Borracha Natural. Brasília, 2008. Acesso em: 03 set. 2014. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2008/res0062\\_03\\_09\\_2008.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2008/res0062_03_09_2008.html)>.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 97, de 09 de novembro de 2000. Define e caracteriza o termo "grupo de produtos" e suas aplicações. Brasília, 2000. Acesso em: 03 set. 2014. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2000/rdc0097\\_09\\_11\\_2000.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2000/rdc0097_09_11_2000.html)>.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 260, de 23 de setembro de 2002. Regula os produtos para a saúde. Brasília, 2002. Acesso em 20 jun. 2014. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0260\\_23\\_09\\_2002.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0260_23_09_2002.html)>.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 331, de 29 de novembro de 2002. Estabelece a auto inspeção como um dos instrumentos de avaliação do cumprimento das Boas Práticas de Fabricação de Produtos Médicos, para fins de prorrogação da validade do Certificado de Boas Práticas de Fabricação de Produtos Médicos. Brasília, 2002. Acesso em: 17 jun. 2014. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0331\\_29\\_11\\_2002.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0331_29_11_2002.html)>.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 354, de 23 de dezembro de 2002. Aprova e institui o "Certificado de Boas Práticas de Armazenamento e Distribuição para

produtos para saúde – “CBPAPDS”, conforme modelo disponível no site da ANVISA. Brasília, 2002. Acesso em: 03 set. 2014. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0354\\_23\\_12\\_2002.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0354_23_12_2002.html)>.

AGOSTINI, D. L. S. **Caracterização dos constituintes do látex e da borracha natural que estimulam a angiogênese**. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais)– Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente, SP, 2009.

ALPHEN, J. V. Antidegradants. In: VAN TURNHOUT, C. M. **Rubber Chemicals**. Boston: D. Reidel Publishing Company, 1973. p. 67-109.

AMERICAN FOUNDATION FOR AIDS RESEARCH. The effectiveness of condoms in preventing HIV transmission. **Issue Brief**, n. 1, Jan 2005.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D 1076**: Standard specification for rubber – concentrated, ammonia preserved, creamed, and centrifuged natural latex. Philadelphia, 1997, 12 p.

\_\_\_\_\_. **ASTM D 3492**: rubber contraceptives. Philadelphia, 1976, 11p.

\_\_\_\_\_. **ASTM D 3492**: rubber contraceptives. Philadelphia, 1996, 11p.

\_\_\_\_\_. **ASTM D 3492**: rubber contraceptives. Philadelphia, 2003, 14p.

\_\_\_\_\_. **ASTM D 3494**. Philadelphia, 1993.

ANDREASEN, A.R. **Marketing social change**: changing behavior to promote health, social development and the environment. San Francisco: Jossey Bass Publishers; 1995.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Histórico da ABNT**: 65 anos. Rio de Janeiro, 2005. 146 p.

\_\_\_\_\_. **NBR ISO 14971**: produtos para Saúde: aplicação de Gerenciamento de Risco em Produtos para Saúde, Rio de Janeiro, 2003.

\_\_\_\_\_. **NBR 11598**: Látex concentrado de borracha natural. Rio de Janeiro, 1989.

\_\_\_\_\_. **NBR ISO 14971**: produtos para saúde: aplicação de Gerenciamento de Risco em Produtos para Saúde, Rio de Janeiro, 2004.

ASSOCIATION FOR THE ADVANCE OF MEDICAL INSTRUMENTATION. **Design of Clinical Engineering Assurance and Risk Management Programs**. Arlington, 1990.



BARCELLOS, C.C. et al. Organização espacial, saúde e qualidade de vida: análise espacial e uso de indicadores na avaliação de situações de saúde. **Inf. Epidemiol. SUS**, Brasília, v.11, n.3, set. 2002.

BATEMAN, L. Structure, composition and biochemistry of hevea latex. In: **THE CHEMISTRY and physics of rubber-like substances**. New York: John Wiley & Sons, 1963. p. 43-72

BAYER POLYMER. **Natural latex**: condoms, São Paulo, 2004.

BELLI, C.V. **Novas perspectivas no controle dos produtos para saúde no Brasília visão do setor regulador e do setor regulado**. 2006, 311 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública)– Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BERKAMAN, A. et al. A critical analysis of the Brazilian response to HIV/AIDS: lessons for controlling and mitigating the epidemic in developing countries. **Am J Public Health**. v. 95, p. 1162-1172, 2005.

BERTOLOZZI, M. R. et al. Os conceitos de vulnerabilidade e adesão na Saúde Coletiva. **Rev. Esc. Enferm. USP**. v. 43, n. 2, p. 1326-1330, 2009.

BLACKLEY, D. C. **High polymer latices**: their science and technology. London: Maclaren & Sons Ltd., 1966. p. 159-255.

\_\_\_\_\_. **Polymers latices**; Chapman & Hall: Glasgow, vol. 2, 1997.

BÓ, M.C. **Degradação de preservativos masculinos de borracha natural**: análise de dados, modelagem do processo e previsão do tempo de validade, 2007, 316 f. Tese (Doutorado em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros)– Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

BODE, H. B., KERKHOFF, K., JENDROSSEK, D. Bacterial degradation of natural and synthetic rubber. **Biomacromolecules**, n. 2, p. 295-303, 2001.

BRITISH STANDARDS INSTITUTION. **BS 3704**: Rubber condoms, London, 1964. 10 p.

BRASIL. Constituição (1988). Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado; 1988.

\_\_\_\_\_. Decreto nº 74170, de 10 de junho de 1974. Regulamenta a Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973, que dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 11 jun. 1974. Seção 1, p. 6630.

\_\_\_\_\_. Decreto nº 79094, de 05 de janeiro de 1977. Regulamenta a Lei no 6.360, de 23 de setembro de 1976, que submete a sistema de vigilância sanitária os medicamentos, insumos farmacêuticos, drogas, correlatos,

cosméticos, produtos de higiene, saneantes e outros. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 7 jan. 1977. Seção 1, Suplemento, p. 11.

\_\_\_\_\_. Decreto Legislativo nº 197, de 25 de setembro de 1991. Aprova o texto do Tratado para a Constituição de um Mercado Comum entre a República Federativa do Brasil, a República Argentina, a República do Paraguai e a República Oriental do Uruguai, firmado em Assunção, em 26 de março de 1991. **Diário do Congresso Nacional**, Brasília, DF, 26 set. 1991. Seção 1, p. 18236.

\_\_\_\_\_. Decreto Lei nº 200, de 25 de fevereiro de 1967. Dispõe sobre a organização da administração federal, estabelece diretrizes, para a reforma administrativa, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 27 fev. 1967. Seção 1, p. 4.

\_\_\_\_\_. Decreto Lei nº 2848, de 07 de dezembro de 1940. Código Penal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Rio de Janeiro, DF, 31 dez.1940. Seção 1, p. 23911.

\_\_\_\_\_. Lei nº 378, de 13 de janeiro de 1937. Dá nova, organização ao Ministério da Educação e Saúde Pública. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Rio de Janeiro, DF, 15 jan. 1937. Seção 1, p. 1210.

\_\_\_\_\_. Lei nº 4701, de 28 de junho de 1965. Dispõe sobre o exercício da atividade hemoterápica no Brasil e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 jul. 1965. Seção 1, p. 6450.

\_\_\_\_\_. Lei nº 5172, de 25 de outubro de 1966. Dispõe sobre o sistema tributário nacional e institui normas gerais de direito tributário aplicáveis a união, estados e municípios **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 out. 1966. Seção 1, p. 12567.

\_\_\_\_\_. Lei nº 5991, de 17 de novembro de 1973. Dispõe sobre o Controle Sanitário do Comércio de Drogas, Medicamentos, Insumos Farmacêuticos e Correlatos, e dá outras Providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 19 dez. 1973. Seção 1, p. 13049.

\_\_\_\_\_. Lei nº 6360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 set. 1976. Seção 1, p. 12647.

\_\_\_\_\_. Lei nº 6437, de 20 de agosto de 1977. Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá outras providências. (Versão Consolidada pela Procuradoria da ANVISA). Brasília,

2016. Acesso em: 24 fev. 2016. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/L6437.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L6437.htm)>.

\_\_\_\_\_. Lei nº 8078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre proteção do consumidor, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 set. 1990. Seção 1, p. 1.

\_\_\_\_\_. Lei nº 8080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 set. 1990. Seção 1, p. 18055.

\_\_\_\_\_. Lei nº 8142, de 28 de dezembro de 1990. Dispõe sobre a participação da comunidade na gestão do Sistema Único de Saúde (SUS) e sobre as transferências intergovernamentais de recursos financeiros na área da saúde e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 dez. 1990. Seção 1, p. 25694.

\_\_\_\_\_. Lei nº 9677, de 02 de julho de 1998. Altera dispositivo do Capítulo III do Título VIII do Código Penal, incluindo na classificação dos delitos considerados hediondos crimes contra a saúde pública, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 set. 1998. Seção 1, p. 1.

\_\_\_\_\_. Lei nº 9782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 27 jan. 1999. Seção 1, p. 1.

\_\_\_\_\_. Lei nº 9784, de 29 de janeiro de 1999. Regula o processo administrativo no âmbito da administração pública federal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 01 fev. 1999. Seção 1, p. 1.

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio, Superintendência da Borracha. **Curso Básico em Tecnologia de Elastômeros**. Brasília, 1993. vol. 1-6.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Ministerial nº. 1.271, de 06 de junho de 2014. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 jun. 2014. Seção 1, p. 67.

\_\_\_\_\_. Portaria Ministerial nº. 2.314, de 20 de dezembro de 2002. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 27 dez. 2002. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Protocolo de atenção à saúde e resposta à ocorrência de microcefalia relacionada à infecção pelo vírus Zika**. Brasília, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. **Boletim Epidemiológico AIDS e DST: semanas epidemiológicas - janeiro a junho de 2006**. Brasília, nov. 2006. 52 p.

\_\_\_\_\_. Programa Nacional de DST e AIDS. **Boletim Epidemiológico AIDS / DST: 27ª semanas epidemiológicas - julho a dezembro de 2013: Ano III, n. 1**. Brasília, 2014,

\_\_\_\_\_. **Comportamento sexual da população brasileira e percepções do HIV/AIDS**. Brasília, 2000. (Série Avaliações 4)

\_\_\_\_\_. **Comportamento sexual da população brasileira e percepções do HIV/AIDS**. Brasília, 2013.

\_\_\_\_\_. **Diretrizes para implantação do Projeto Saúde e Prevenção nas Escolas**. Brasília, 2006. 24 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

\_\_\_\_\_. **Legislação sobre DST e AIDS no Brasil: Direitos Humanos**. Brasília, 2000. v. 1. 160 p.

\_\_\_\_\_. **Perfil da AIDS no Brasil e metas do governo para controle da epidemia**. Brasília, 17p. 2006.

\_\_\_\_\_. **Plano Estratégico do Programa Nacional de DST e AIDS 2005**. Brasília, 2005. 121 p.

\_\_\_\_\_. **Política brasileira de AIDS: Principais resultados e avanços 1994-2002**. Brasília, 2003. 16 p.

\_\_\_\_\_. **Política de Distribuição de Preservativos para Ações de Prevenção das DST/HIV/Aids no Brasil**. Brasília, 2005.

\_\_\_\_\_. **Pesquisa sobre conhecimento, atitudes e práticas na população brasileira de 15 a 54 anos- PECAP**. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2005. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/data/documents/storedDocuments>>. Acesso em: 10 mar. 2015.

BRASIL Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **RTQ-9: preservativo masculino de borracha**. Brasília, 1995. 4 p.

\_\_\_\_\_. **RDC 03: Preservativo de látex de borracha natural**. Brasília, 2002. 18 p.

BRITISH STANDARDS INSTITUTION. **BS 3704: Rubber condoms**, London, 1964. 10 p.

CALVI, L. C. Princípios básicos sobre a Tecnologia. **Associação Brasileira de Tecnologia da Borracha - Boletim Técnico**, n. 41, p. 3-10, 1990.

CÂMARA, G. et al. Análise espacial e geoprocessamento. In: CAMARA, G. (Org.). **Análise espacial de dados geográficos**. Rio de Janeiro: IMPA, 2002. Disponível em: <<http://www.dpi.inpe.br/gilberto/tutoriais/analise/cap1.pdf>>. Acesso em: 15 jan 2016.

CAMPOS, V. E. et al. Avaliação toxicológica de filmes de látex de borracha natural vulcanizado com radiação ionizante. In: CONGRESSO GERAL DE ENERGIA NUCLEAR, 7, 31 ago.-3 set, 1999, Belo Horizonte. **Anais...** Rio de Janeiro: ABEN, 1999. Disponível em: <<https://www.ipen.br/biblioteca/cd/inac/1999/PDF/CG14AQ.PDF>>. Acesso em: 16 maio 2015.

CAMARGO JR., K. R. Prevenção do HIV: desafios múltiplos. **Divulgação Saúde Debate**. n. 27, p. 70-80, 2003.

COLIN, W. E. *Developments in Rubber and Rubber Composites - 1*. Great Britian, p. 79-86, 1980.

COLLIER, A. **The Humble Little Condom: a history**. New York: Prometheus Books, 2007.

COLLUCCI, C. Contágio sexual por vírus da zika leva a nova orientação para grávidas. **Folha de São Paulo**, São Paulo, 19 abr. 2016, Folha Cotidiano. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/cotidiano/2016/04/1762480-zika.shtml>>. Acesso em: 19 abr. 2016.

CONDONS, In: HATCHER, R.A. **Essentials of contraceptive technology**. Baltimore: Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, 2003. Cap 11.

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. **Homepage**. Brasília, 2003. Disponível em: <<http://conselho.saude.gov.br/apresentação/historia.htm>>. Acesso em: 25 jan. 2015

CONNAT M.A.; SPICER D.W.; SMITH C.D. Herpes simplex virus transmission: condoms studies. **Sexual Transmitted Diseases**, v.11, p. 94-95, 1984.

CORNISH, K. Similarities and differences in rubber biochemistry among plant. **Phytochemistry**, v. 57 n. 6, p. 1123-1134, 2001.

COSTA, E. A. Vigilância Sanitária: Balanço e perspectivas. In: CONFERÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1., 26-30 nov.2001, Brasília. **Caderno de Textos**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária: 2001. p. 37-51.

\_\_\_\_\_. Vigilância Sanitária e Proteção a Saúde In: DIREITO Sanitário e Saúde Pública. v. 1. Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Gestão do Trabalho e da Educação na Saúde, 2003. p. 189-216.

\_\_\_\_\_. **Vigilância Sanitária: temas para debate.** Salvador: EDUFBA; 2009.

CYR, D. R. S. Rubber, natural. In: *ENCYCLOPEDIA of polymer science and engineering.* New York: John Wiley & Sons, 1998, v. 14, p. 63-98.

DAL'CORTIVO, Z. **Aplicação do controle estatístico de processo em sequencias curtas de produção e análise estatística de processo através do planejamento econômico.** 2005, 164 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Programa de Pós-Graduação em Métodos Numéricos em Engenharia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

DAVIS, M. M.; AQUILANO N. J.; CHASE R.B. **Fundamentos da Administração da Produção.** 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2001.

DOURADO, Inês et al. Revisitando o uso do preservativo no Brasil. **Rev. bras. epidemiol.**, São Paulo, v. 18, supl. 1, p. 63-88, 2015.

DULNGALI, S. Látex Industry and development in Malaysia. In: *INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RADIATION VULCANIZATION OF NATURAL RUBBER LATEX, 1989, Tokyo. Proceedings...* Tokyo: Japan Atomic Energy Research Institute, 1989. p. 100-110. (JAERI-M-89-228).

ENERSOL CONSULTING ENGINEERS. **Interlaboratory trial of condoms testing laboratories.** Sidney, 2001. 285 p.

\_\_\_\_\_. **Elnflation 3.** Sidney, 2006.

FELDBLUM, P. J., ROSENBERG, H.J. A historical perspective on condoms. In: *CONDOMS IN THE PREVENTION OF SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES: Proceedings of a conference.* Atlanta, Georgia: February 1987. Research Triangle Park, North Carolina, American Social Health Association, 1989. p. 1-3.

FERNANDEZ, O.L. et al. Associação de urticária de contato e dermatite alérgica de contato à borracha. **An. Bras. Dermatol.** v. 84, n. 2, p. 177-179, 2009.

FERREIRA, M. et al. Evaluation of natural rubber from clones of *Hevea brasiliensis*. **Rubber Chemistry and Technology**, v. 75, n. 1, p. 171-177, abr. 2001.

FIHN, S.D. et al. Use of spermicide-coated condoms and other risk factors for urinary tract infection caused by *Staphylococcus saprophyticus*. **Arch. Int. Med.**, v. 158, n. 3, p. 281-287, 1998

FLOYD, S. et al. The effect of antiretroviral therapy provision on all-cause, AIDS and non-AIDS mortality at the population level: a comparative analysis of data from four settings in Southern and East Africa. **Trop Med Int Health**, v. 17, e84-93, 2012.

FONTES, M. B. Interfaces entre as políticas internacionais e nacionais de AIDS. In: PARKER, R.; GALVÃO, J.; BESSA, M. S. Saúde, **Desenvolvimento e Política**: respostas frente a AIDS no Brasil. São Paulo, Ed. 34, 1999. p.91-122.

FORMENTI, L. Produção mundial de preservativos é novo desafio na luta contra a AIDS. **O Estado de S. Paulo**, São Paulo, 30 dez. 2010, Geral. Disponível em: <<http://www.estadao.com.br/noticias/geral,producao-mundial-de-preservativos-e-novo-desafio-na-luta-contr-a-aids-imp-,659767>>. Acesso em: 26 jun. 2014.

FREE, M.J. Condoms: the rubber remedy. In: **CONDOMS: The Multimedia Resource on Condoms**. Washington: UNFPA, [2005]. 1 CD-ROM.

FREE, M.J. et al. Latex rubber condoms: Predicting and extending shelf life. **Contraception**, v. 53, n. 4, p. 221-229, 1996.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Milestones in U.S. Food and Drug Law History**. Silver Spring, 2009. Disponível em: <<http://www.fda.gov/opacom/backgrounders/miles.html>>. Acesso em: 12 nov. 2014.

FOTIC et al. Allergic contact dermatitis to condoms: description of a clinical case and analytical review of current literature. **Immunopharmacol. Immunotoxicol.**, v. 26, p. 481-485, 2004.

FUNDO DE POPULAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. Necessidades contraceptivas e de gerenciamento logístico no Brasil. **Relatório Técnico**, New York, n. 21, p. 94, 1995.

GADELHA, P.E., MARTINS, R.A. Política nacional de saúde e a 8ª CNS. **Rev. Saúde Debate**, v. 20, p. 79-83, 1988.

GALIANI, P. D., MALMONGE, J. A., SANTOS, D. P., MALMONGE, L. F., Avaliação de Clones de Borracha Natural Crua por Ensaio Padrão e Análise Dinâmico-Mecânica, Polímeros: **Ciência e Tecnologia**, vol. 17, nº 2, p. 93-97, 2007

GAZELEY, K.F., GORTON, A.D.T., PENDLE, T.D. Latex concentrates: properties and composition. In: ROBERT, A.D. **Natural rubber science technology**. Oxford: Oxford University Press, 1990. p. 63-98.

GEROFI, J. Latex condom manufacture. In: MINDEL, A. **Condoms**. London: BMJ Books, 2000. p. 19-32.

GEROFI, J., SHELLEY, G., DONAVAN, B. A study of the relationship between tensile testing of condoms and breakage in use. **Contraception**, v. 43, p. 177-185, 1991.

GILMORE, C.E. The development of non-latex condoms. In: MCNEILL, E.T. et al. **The latex condom recent advances, future directions**. North Carolina: Family Health International, 1998. p. 65-71.

GORTON, T. Latex product manufacturing technology. In: BHOWMICK, A.K., HALL, M.M., BENAREY, H.A. **Rubber Products Manufacturing Technology**. Herthford: Marcel Dekker, 1994. p. 823-844.

GOVERNO DO ESTADO DO ACRE. **Manejo Florestal Sustentável na Amazônia Brasileira**. Rio Branco: Fundação de Tecnologia do Acre, 2004. p.133-141. (Projeto PD 94/90).

GRANGEIRO, A. et al. Sustentabilidade da política e acesso a medicamentos antirretrovirais no Brasil. **Rev. Saúde Públ.**, v. 40, Supl, p. 60-69, 2006.

GRASSIE, N., SCOTT, G. **Polymer Degradation & Stabilization**. Cambridge: Cambridge University Press, 1985. p. 1-16.

GRIFFITH, G. K. Statistical process control methods for long and short runs. 2. ed. Milwaukee, Wisconsin: ASQ Quality Press, 1996.

GULLIKSON, M. L; DAVID, Y.; BLAIR, C. A. The Role of Quantifiable Risk Factors in a Medical Technology Management Program. **EC / PTSM Series**, n.3, p. 11- 20, 1996.

HARDIN, G. Breaking the taboo. (Birth control) In: HARDIN, G. **Birth control**. Indianapolis: Indiana, Bobbs-Merrill, 1970. p. 42-51.

HARVEY, P.D. **Let every child be wanted: how social marketing is revolutionizing contraceptive use around the world**. Westport, Connecticut: Auburn House, 1999.

HEARST, N.; CHEN, S. 2003. Condom promotion for AIDS prevention in the developing world: is it working? **Stud. Fam. Plann.** v. 35, n. 1, p. 39-47, 2004.

HEARST, N; CHEN, S. **Condom promotion for AIDS prevention in the developing world: is it working?** Report to UNAIDS, 2003

HEPBURN, C. Rubber compounding ingredients – need, theory, and innovation, Part I. **Rapra Review Reports**, v. 7, n. 7, Report 79, 1994.

HILLESHEIM, B; CRUZ, L. R. Risco, Vulnerabilidade e Infância: Algumas Aproximações. **Psic. Sociol.** v. 20, n. 2, p. 192-199, 2008.

HONORATO, S. B. Efeito antioxidante de Efeito Antioxidante de Componentes do Látex da Seringueira Mangabeira Sobre a Degradação termo-oxidativa do Poli(1,4-*cis*-isopreno) Sintético. **Dissertação** (Mestrado em Ciências na área de Química Inorgânica) Universidade Federal do Ceará - UFC – Fortaleza, 2005.



HOUAISS, A.; VILLAR, M. S.; FRANCO, F. M. M. **Dicionário Houaiss da língua portuguesa**. Rio de Janeiro: Objetiva, 2001.

INTERNATIONAL ELECTROTECHNICAL COMMISSION. Analysis techniques for system reliability - Procedure for failure mode and effects analysis (FMEA). IEC60812, Suisse, 1985.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 4074**: Rubber Condoms. Switzerland, 1990

\_\_\_\_\_. **ISO/TC 157 N619**: Business Plan - Mechanical contraceptives. Switzerland, 2005. 10 p.

\_\_\_\_\_. **ISO 2859-1**: Sampling procedures for inspection by attributes – Part 1: Sampling schemes indexed by acceptance quality (AQL) for lot-by-lot inspection. Switzerland, 1999. 87 p.

\_\_\_\_\_. **ISO 4074**: natural latex rubber condoms – requirements and test methods. Switzerland, 2002. 46 p.

\_\_\_\_\_. **ISO 4074: 2** natural latex rubber condoms – requirements and test methods. Switzerland, 15 de Agosto 2014.

\_\_\_\_\_. **ISO 4074:3** natural latex rubber condoms – requirements and test methods. Switzerland, 3 de November 2015.

\_\_\_\_\_. **ISO 10993.1**. Biological Evaluation and Biocompatibility Testing of Medical Devices. Switzerland, 23 de abr de 2013.

\_\_\_\_\_. **ISO/TC 157 N619**: Business Plan: Mechanical contraceptives. Switzerland, 2005. 10 p.

\_\_\_\_\_. **ISO 2004**: Natural rubber latex concentrate – Centrifuged or creamed, ammonia- preserved types – Specification. Switzerland, 1977.

\_\_\_\_\_. **ISO/TC 157 WG10 N 84**: Proposition for bursting test method. Switzerland, 1999. 5p.

\_\_\_\_\_. **ISO 2027**: Natural rubber latex concentrate, evaporated, preserved – Specification. Switzerland, 1990

INTERNATIONAL ELECTROTECHNICAL COMMISSION. Analysis techniques for system reliability - Procedure for failure mode and effects analysis (FMEA). IEC60812, Suisse, 1985.

JORGE, E. Um pacto pela saúde. In: GOUVEIA R. **Saúde Pública, Suprema Lei**: A nova Legislação para conquista da Saúde. São Paulo: Mandacaru; 2000. p. 31-34

JUAN-LOPEZ, M. Sanitary regulation in Mexico and the free trade treaty. **Salud Publica Mex.**, v. 36, n. 6, p. 617-623, 1994.

JUDSON, F.N. et al. In vitro evaluation of condoms with and without nonoxynol-9 as physical and chemical barriers against *Chlamydia trachomatis*, herpes simplex virus type 2, and human immunodeficiency virus. **Sexual Transmitted Diseases**, v.16, p. 51-56, 1989.

JURAN, J. M. **Planejando para a Qualidade**. 3. ed. São Paulo: Pioneira, 1995.

KARAFIN, L., KENDALL, A. R. Advantages and disadvantages of the condom. **Medical Aspects of Human Sexuality**, v. 3, n. 11, p. 73-77, 1969.

KATZ NELSON S., DREW W.L., MINTZ L. Efficacy of condoms as a barrier to the transmission of cytomegalovirus. **Journal Infection Diseases**, v.150 p.155-157, 1984.

KESTELMAN, P. International quality standards: unfinished evolution. In: MINDEL, A. **Condoms**. London: BMJ Books, 2000. p. 33-45.

KISH, L.S., et al. An ancient method and a modern scourge: the condoms as a barrier against herpes. **Journal of American Academy Dermatology**, v.9, p. 769-770, 1984.

KOUR, V. et al. CRF19\_cpx is an Evolutionary fit HIV-1 Variant Strongly Associated with Rapid Progression to AIDS in Cuba. **EBio Medicine**, v. 2, p. 244-254, 2015.

KOURI, Y. Custos efetivos dos programas de AIDS. **J. Bras. Doenças Sex. Transm.** v. 3, n, 1, p. 14-16, 1991

KUWABARA, C. C. T.; EVORA, Y. D. M.; OLIVEIRA, M. M. B. Risk and Management in Technovigilance: construction and Validation of a Medical-Hospital Product Evaluation Instrument. **Rev. Latino-Am. Enfermagem.**, v.18, n. 5, p. 943-951, 2010.

LANDRY, D. J.; SINGH, S.; DARROCH, J, E. Sexuality education in fifth and sixth grades in U.S. public schools, 1999. **Fam Plann Perspect**, v. 32, n. 5, p. 212-219, 2000.

LEVORATO, A.C. Fábrica de camisinhas em Alumínio é 'dominada' por mulheres. Reportagem no G1 Sorocaba e Jundiaí, 6 de setembro de 2014

LEWIS, M. A brief history of condoms. In: MINDEL, A. **Condoms**. London: BMJ Books, 2000, 230 p. p. 1-18.

LIMA, D. L. M.; MARTINS, M. L. C. Certificação: um acordo frágil: uma reflexão sobre racionalidade e retórica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOCIOLOGIA, 13., 2007, Recife. **Anais...** Recife: UFPE, 2007.

LINDE, S. Inspection and control of contraceptive at Apotekens Central laboratorium. **Satryk ur Svensk Farmaceutisk Tidschrift**, v. 77, p. 588- 594, 1973.

LUCCHESI, G. **Globalização e regulação sanitária**: os rumos da Vigilância Sanitária no Brasil. 2001, 244 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública)– Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001.

LYTLE C.D., et al. A sensitive method for evaluating condoms as virus barriers. **J. AOAC Int**, v. 80, n. 2, p.319-324, 1997.

\_\_\_\_\_. Lack of latex porosity: a review of virus barrier tests. **J Rubb Res**, v. 21 n. 1, p. 29-39, 1999.

MACHI, S. Radiation Vulcanization of Natural Rubber Latex. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RADIATION VULCANIZATION OF NATURAL RUBBER LATEX, 1989, Tokyo. **Proceedings...** Tokyo: Japan Atomic Energy Research Institute, 1989.

MADUREIRA, V.S.; TRENTINI, M. Da utilização do preservativo masculino à prevenção de DST/aids. **Rev. Cienc. Saúde Colet.**, v. 13, n. 6, p. 1307-1316, 2008.

MARK, J.E., ERMAN, B., EIRICH, F.R. **Science and Technology of Rubber**. New York: Academic Press, 1994.

MAXWELL, A.E.; BASTANI, R.; WARDA, U. S. Condom use in young blacks and Hispanics in public STD clinics. **Sex Transm Dis**, v. 26, n.8, p. 463-471, 1999.

MENDONÇA, B.O.M. **Conhecimento de comportamentos vulneráveis em sexualidade entre adolescentes de um Município do Oeste Goiano**. Dissertação (Mestrado em Enfermagem)– Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

MESQUITA, F et al. Brazilian Response to the Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immunodeficiency Syndrome Epidemic among Injection Drug Users. **Clin Infect Dis**, v. 37, p. S382-S385, 2003

MOHID, N. et al. Effect of non-Rubber Components on Sensitized RVNRL In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RADIATION VULCANIZATION OF NATURAL RUBBER LATEX, 1989, Tokyo. **Proceedings...** Tokyo: Japan Atomic Energy Research Institute, 1989. p. 157-63 (JAERI-M-89-228).

MONTGOMERY, D. C. **Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros**. 2. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2003.

\_\_\_\_\_. **Introdução ao controle estatístico da qualidade**. 4. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2004.

\_\_\_\_\_. **Introduction to statistical process control**. 2. ed., New York: John Wiley & Sons, Inc., 1991.

NETO, A.B. et al. Revisão sobre a eficácia do preservativo em relação à proteção contra Infecções Sexualmente Transmissíveis e gestação. **Diagn. Trat.** V. 14, n. 3, p. 123-125, 2009.

NICHIATA, L. Y. I. et al. A Utilização do Conceito “Vulnerabilidade” pela Enfermagem. **Rev Latino-am Enfermagem**. V. 16, n. 5, p. 923-928, 2008.

NUNN, A.S et al. AIDS treatment in Brazil: impacts and challenges. **Health Affairs**. v. 28, n. 4, p. 11103-11113, 2009.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Módulos de Princípios de Epidemiologia para o Controle de Enfermidades**. Módulo 3: medida das condições de saúde e doença na população. Brasília: OPAS; Ministério da Saúde, 2010.

PAIVA, V. Beyond magic solutions: prevention of HIV and AIDS as a process of Psychosocial Emancipation. **Divulg. Saúde Debate**. v. 27, p. 192-203, 2003.

PAIVA, V.; PUPO, L. R.; BARBOZA, R. O direito à prevenção e os desafios da redução da vulnerabilidade ao HIV no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 40, supl, p. 109-119, 2006.

PAIVA, V. et al. Uso de preservativos-Pesquisa Nacional MS / IBOPE 2003. Brasília, 2007. Disponível em: < [http://www.aids.gov.br/sites/default/files/artigo\\_preservativo.pdf](http://www.aids.gov.br/sites/default/files/artigo_preservativo.pdf)>. Acesso em: 25 jun. 2014.

PAIPHANSIRI, U.; TANGBORIBOONRAT, P. Prevulcanisation of skim latex: morphology and its use in natural rubber based composite material. **Colloid Polymer Science**, v. 284, p. 251-257, 2005.

PENDLE, T. D. Production, properties & stability of NR lattices. In: MEETING OF THE RUBBER DIVISION, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, Detroit, Michigan, 17-20 Oct, 1989.

PETRI, C.; PENDLE, T. D. Developments in stabilizers for natural rubber latex compounds. *Natuurrubber Natural Rubber*, v. 9, Dec 1997

PICCININO, L. J.; MOSHER, W. D. Trends in contraceptive use in the United States. **Family Planning Perspectives**, v. 30, n. 1, p. 4-10, 1998.

PINKERTON S. D.; ABRAMSON P. R. Effectiveness of condoms in preventing HIV transmission. **Soc. Sci. Med**, v. 44, n. 9, p. 1303-1312, 1997.

POPULATION Information Program, **Center for Communication Programs**, Disponível em: <<http://www.jhuccp.org/index.stm>>. Acesso em: 04 set. 2014.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE.  
**Procedimento Operacional Padrão (POP) 65.3210.008 rev. 15.** Rio de Janeiro, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE.  
**Procedimento Operacional Padrão (POP) 65.3330.010.** Rio de Janeiro, 2015.

QUINN J. Condoms: manufacturing perspectives and use. In: ZATUCHNI GI et al. **Vaginal contraception: new developments.** Hagerstown: Md., Harper and Row, 1979. p. 66-81

RICARDO, N. M. P. S.; FEITOSA, J. P. A.; SILVEIRA, E. R. Some roles of methanol-soluble fraction of rubber from *Manihot glaziovii*. Part 1. Sitosterol and fatty acids. **Polymer Bulletin**, v. 46, p.10-114. 2001.

RIOS, U.P. Aspectos da Gestão em Vigilância Sanitária a partir de um Plano de Ação. **Webartigos**, 2009. Disponível em: <<http://www.webartigos.com/artigos/aspectos-da-gestao-em-vigilancia-sanitaria-a-partir-de-um-plano-de-acao/13948/>>. Acesso em: 23 maio 2015.

RIPPEL, M. M. **Caracterização microestrutural de filmes e partículas de látex de borracha natural.** 2005. Tese (Doutorado em Físico-Química)– Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

ROBBINS, S. L.; RIM, I. N. **Patologia Estrutural e Funcional.** 6. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara. Koogan, 2000. p. 834-892.

ROCHMAN, A.R. **As últimas décadas do século: realismo e liberalismo na política externa brasileira 1970 e 1990.** 2002. Tese (Doutorado em Ciências Políticas)– Faculdade de Filosofia Ciências Humanas e Letras, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

RODRIGUES, M. J. Infecções Sexualmente Transmissíveis (DST) na Adolescência. **Nascer e Crescer**, v. 19, n. 3, p. 200, 2010.

ROSETTE, J.L. Foil aluminum. In: BRODY, A.L., MARSH, K.S. **The Wiley Encyclopedia of Packing Technology.** New York: John Wiley & Sons, Inc. 1997. p. 458-465.

ROUQUAYROL, M. Z. **Epidemiologia & Saúde.** Rio de Janeiro: Medsi Editora Médica e Científica, 1994.

SAÚDE leva campanha de prevenção para carnavais de rua. **Agência Fiocruz de Notícias**, Rio de Janeiro, 4 fev. 2016. Disponível em: <<https://agencia.fiocruz.br/saude-leva-campanha-de-prevencao-para-carnavais-de-rua>>. Acesso em: 15 mar. 2016.

SALDANHA, J. S.; ANDRADE, C. S.; BECK, S.T. Grau de adesão ao tratamento com anti-retrovirais entre indivíduos HIV positivos atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria. **Saúde**. v. 35, n. 1, p. 4-9, 2009.

SANTOS, S. M.; BARCELLOS, C. **Abordagens espaciais na Saúde Pública**. Brasília: Ministério da Saúde; Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 2006.

SÃO PAULO. Secretaria de Saúde. Centro de Vigilância Sanitária. **Tecnovigilância**. São Paulo, [2014]. Disponível em: <[http://www.cvs.saude.sp.gov.br/apresentacao.asp?te\\_codigo=23](http://www.cvs.saude.sp.gov.br/apresentacao.asp?te_codigo=23)>. Acesso em: 21 jul. 2015.

SCARAMUZZA, M.C. **Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST)**. São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://www.boasaude.com.br/artigos-de-saude/2828/-1/doencas-sexualmente-transmissiveis-dst.html>>. Acesso em: 12 dez. 2014.

SCHAURICH, D.; MEDEIROS, H. M. F.; MOTTA, M. G. C. Vulnerabilidades no Viver de Crianças com AIDS. **R. Enferm. UERJ**. v. 15, n. 2, p. 284-290, 2007.

SCHIAVO, Marcio Ruiz. **Preservativo masculino: hoje mais necessário do que nunca!** Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Programa Nacional de DST/AIDS, 1997.

SCHMALZ, G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials advantages and limitations. **J. Dent.**, v. 22, Suppl. 2, p. 6-11, 1994.

SOEDJANAATMADJA, U. M. S. et al. Does Hevein stabilise or destabilise rubber latex? **Journal of Rubber Research**, v. 2, n. 2, 1999.

SOUZA, A. **Comportamento do An-B/KOH/HPt-B na vulcanização do látex de borracha natural induzida com raios gama**. 1994. 117 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear)– Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

SPANGBERG, L.; PASCON, E. A. The importance of material preparation for the expression. Of cytotoxicity during *in vitro* evaluation of biomaterials. **J. Endod.**, v 5, n. 5, 1988.

SPANGBERG, L. Kinetic and quantitative evaluation of material cytotoxicity *in vitro*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 35, n. 3, p. 389-401, 1973.

SPRUYT, A. et. al. Dual method use among family planning clients: Kingston, Jamaica, 1996. Presented at the 124th Annual Meeting of the American Public Health Association, New York, NY, November 17-21, 1996.

SURTO de supergonorreia assusta autoridades de saúde da Inglaterra. **O Globo**, Rio de Janeiro, 18 set. 2015. Saúde. Disponível em: <<http://oglobo.globo.com/sociedade/saude/surto-de-supergonorreia-assusta-autoridades-de-saude-da-inglaterra-17529282#ixzz47iXHDgOz>>. Acesso em 05 maio 2016.

TEIXEIRA, T.R.A. et al. Social geography of AIDS in Brazil: identifying patterns of regional inequalities. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 2, p. 259-271, 2014 .

TRATAMENTO 2015. Organização Mundial da Saúde, relatório ONUSIDA, 2015.

UNAIDS. Plan for the establishment of the Country Response Information System (CRIS)-2002-2003. Acessado como "Draft as of Sunday, June 08, 2013" em <http://elink.unaids.org/menew/CRIS/Cris.as>

VERSÃO mais potente do HIV identificada em Cuba encurta em 7 anos o tempo de manifestação da doença. **Correio Braziliense**. Brasília, 2015. Disponível em: < [http://sites.uol.com.br/app/noticia/saudeplena/noticias/2015/02/19/noticia\\_saudeplena,152297/identificada-em-cuba-versao-mais-potente-do-hiv.shtml](http://sites.uol.com.br/app/noticia/saudeplena/noticias/2015/02/19/noticia_saudeplena,152297/identificada-em-cuba-versao-mais-potente-do-hiv.shtml)>. Acesso em: 14 abr. 2015.

VERSALOVIC, J. et al, **Manual of clinical microbiology**. 10. ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 2011.

VINE, M. F.; DEGNAN, D.; HANCHETTE, C. Geographic information systems: their use in environmental epidemiologic research. **Environmental Health Perspectives**, v. 105, n. 6, p. 598-605, 1997.

VOELLER, B. et al. Mineral oil lubricants cause rapid deterioration of latex condoms. **Contraception**, v. 39, p. 95-101, 1989.

WASSERHEIT, J. N. Epidemiological synergy: Interrelationships between HIV infection and others STD. **Sexually Transmitted Diseases**, v.19, p. 61-77, 1992.

WEBER, C. A. T. **Programa de saúde da Família**: educação e controle da população. Porto Alegre: AGE, 2006.

WOOD, E. et al. Expanding access to HIV antiretroviral therapy among marginalized populations in the developed world. **AIDS**, v. 17, p. 2419-2427, 2003.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Effectiveness of male latex condoms in protecting against pregnancy and sexually transmitted infections**. Geneva, 2013. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs243/en/>>. Acesso em: 14 jun. 2014.

\_\_\_\_\_. **Specification and guidelines for condom procurement:** Global Programme on AIDS. Geneva. 1998. 68 p. (GPA/TCO/PRV/95.9)

\_\_\_\_\_. **The male latex condom:** specification for condom procurement. Switzerland, 2003. 100 p.

\_\_\_\_\_. **The male latex condom:** specification for condom procurement. Switzerland, 2011. 153 p.

\_\_\_\_\_. **Position statement on condoms and HIV prevention,** Washington, 2004. Disponível em: <<http://www.who.int/publications/en>>. Acesso em: 27 mar. 2014.

\_\_\_\_\_. **Preservativo Testing:** Laboratory Pre-Qualification. Genebra, 1995.

YOUSSEF, H. The history of the condom. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 86, n. 4, p. 226-228, 1993.



ANEXO A

Resolução da Diretoria Colegiada, nº 62 de 03 de setembro de 2008 (RDC  
62/2008)

## **Título: Resolução RDC nº. 62, de 03 de setembro de 2008**

**Ementa:** Estabelece os requisitos mínimos a que devem obedecer aos Preservativos Masculinos de Látex de Borracha Natural.

**Publicação:** D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 05 de setembro de 2008

**Órgão emissor:** ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**Alcance do ato:** federal – Brasil

**Área de atuação:** Tecnologia de Produtos para Saúde

**Relacionamento(s): revoga:** Resolução nº. 03, de 8 de janeiro de 2002.

**Texto de retificação:** onde se lê: "Art. 4º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação." Art. 5º Fica revogada a Resolução RDC ANVISA nº. 3, de 8 de janeiro de 2002". leia-se: " Art. 4º Esta Resolução entra em vigor 90 (noventa) dias após a data de sua publicação. ""Art. 5º Fica revogada a Resolução RDC ANVISA nº. 3, de 8 de janeiro de 2002, publicada no DOU de 30 de janeiro de 2002, a partir da vigência desta Resolução.

### **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 62, DE 3 DE SETEMBRO DE 2008**

Estabelece os requisitos mínimos a que devem obedecer aos **Preservativo**s Masculinos de Látex de Borracha Natural.

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o inciso IV do art. 11 do Regulamento aprovado pelo Decreto nº. 3.029, de 16 de abril de 1999, e tendo em vista o disposto no inciso II e nos §§ 1º e 3º do art. 54 do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em 19 de agosto de 2008, e

considerando as diretrizes e recomendações do Ministério da Saúde sobre as ações contra o HIV/AIDS e outras doenças de transmissão sexual, bem como as políticas de saúde sexual e reprodutiva;

considerando as diretrizes e especificações da Organização Mundial da Saúde - OMS sobre **PRESERVATIVOS** masculinos de látex natural;

considerando a Portaria nº. 2941/07 do Ministério da Saúde que tornou pública a presente regulamentação para recebimento de sugestões;

considerando a necessidade de se estabelecer critérios adequados e específicos aos **PRESERVATIVOS** masculinos de forma a garantir a segurança, a eficácia e a qualidade dos mesmos para a população;

considerando a necessidade de internalizar a Resolução MERCOSUL/GMC N°. 10/08, que estabelece requisitos mínimos para **PRESERVATIVOS** masculinos de látex natural.

adota a seguinte Resolução da Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Aprovar o Regulamento Técnico que estabelece os requisitos mínimos a que devem atender os **PRESERVATIVOS** Masculinos de Látex de Borracha Natural, conforme especificado em Anexo.

Art. 2º Os **PRESERVATIVOS** masculinos de látex de borracha natural devem atender, também, aos requisitos de certificação de conformidade no âmbito do Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade (SBAC).

Art. 3º As solicitações de registro, revalidação ou inclusão de modelo em família de **PRESERVATIVOS**, junto à ANVISA, devem apresentar, além das exigências contidas em legislação específica, documentos que comprovem que o **PRESERVATIVO** masculino de látex natural atende aos requisitos deste Regulamento, emitido por organismo de certificação credenciado.

Art. 4º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 5º Fica revogada a Resolução RDC ANVISA nº. 3, de 8 de janeiro de 2002.

DIRCEU RAPOSO DE MELLO

ANEXO

REGULAMENTO TÉCNICO PARA **PRESERVATIVOS** MASCULINOS

DE LÁTEX DE BORRACHA NATURAL

1. Princípios Gerais
2. Definições
3. Projeto
4. Data de Vencimento
5. Dimensões
6. Capacidade Volumétrica e Pressão de Estouro
7. Verificação de Orifícios
8. Integridade da Embalagem
9. Embalagem e Rotulagem
- A. Plano de Amostragem

- B. Determinação do Comprimento
- C. Determinação da Largura
- D. Determinação da Espessura
- E. Determinação da Capacidade Volumétrica e da Pressão de Estouro
- F. Determinação da Estabilidade após o Envelhecimento
- G. Verificação de Orifícios
- H. Integridade da Embalagem
- I. Embalagem e Rotulagem
- J. Lavagem

## 1. PRINCÍPIOS GERAIS

Os **PRESERVATIVO**s masculinos de uso único, confeccionados a partir do látex de borracha natural, devem ser projetados para serem usados sobre o pênis ereto durante a relação sexual, com a finalidade de impedir a passagem do semem, auxiliar na prevenção da concepção e ajudar a prevenir as doenças sexualmente transmissíveis.

### NOTAS:

- a) Os espermicidas, lubrificantes, aromatizantes, corantes, material anti-séptico ou pó, aplicados ao **PRESERVATIVO**, não devem conter nem liberar substâncias em quantidades tóxicas, localmente irritantes ou de outra forma prejudiciais em condições normais de uso, não sendo estes produtos objeto desta regulamentação. A autoridade de saúde competente, ou um comprador, pode exigir que o fabricante forneça um certificado sobre a composição ou outras propriedades.
- b) **PRESERVATIVO**s, por serem artigos produzidos em massa, podem apresentar variações qualitativas dentro de cada lote de produção. Os planos de amostragem, que podem ser usados para verificação da conformidade dos **PRESERVATIVO**s com este Regulamento, são dados no Anexo A.
- c) Os instrumentos utilizados nos ensaios devem estar calibrados.
- d) Os fabricantes de **PRESERVATIVO**s deverão tomar as precauções adequadas para minimizar a contaminação microbiológica do produto durante o processo de fabricação e embalagem. No caso em que a Autoridade Sanitária julgar necessário verificar o cumprimento deste requisito, poderá solicitar o controle microbiológico destes produtos. Quando se realize o experimento, conforme a norma ISO 4074:2002, a contagem de microorganismos aeróbios totais deve ser menor que 100 ufc/g e deve comprovar ausência de enterobactérias, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.
- e) Este Regulamento será atualizado sempre que as Autoridades Sanitárias julgarem pertinente o seu aprimoramento para a proteção da saúde da população, considerando o mérito e as novas referências internacionais. Para questões urgentes de saúde pública, seu tratamento deve ser célere no âmbito do

MERCOSUL, com o objetivo de atender às necessidades dos países relacionadas à segurança sanitária e ao acesso da população.

## 2. DEFINIÇÕES

### 2.1. Lote

Conjunto de **PRESERVATIVOS** de mesmo projeto, cor, forma, dimensões e formulação de látex, fabricados continuamente e essencialmente ao mesmo tempo, usando o mesmo processo e matérias-primas, mesmas especificações e mesmos equipamentos e embalados com o mesmo lubrificante ou qualquer outro aditivo e colocado no mesmo tipo de embalagem primária. Todos os **PRESERVATIVOS** que compõem um lote devem ter a mesma formulação e o mesmo desenho, dimensões, cor, tipo e textura e serem fabricados na mesma linha de produção e vulcanizados sob condições idênticas.

### 2.2. Tamanho de Lote

O tamanho do lote deve ser estabelecido de acordo com os intervalos de 35.001 a 150.000 e 150.001 a 500.000 de modo que seja assegurada a compatibilidade com os planos de amostragem dados na ISO 2859-1. O tamanho do lote não pode ser superior a 500.000. Para um tamanho de lote inferior a 35.001 unidades, considera-se 35.001 o tamanho do lote.

### 2.3. Plano de Amostragem

Plano específico que indica o número de unidades de produto contido em cada lote que será inspecionado (tamanho da amostra ou série de tamanhos de amostras) e o critério para aceitação do lote (número de aceitação e de rejeição).

### 2.4. Amostra e Tamanho da Amostra

A amostra consiste de uma ou mais unidades do produto, retiradas do lote a ser inspecionado, de forma aleatória e independentemente de sua qualidade. O número de unidades do produto da amostra constitui o tamanho da amostra.

### 2.5. Nível de Inspeção

Relação entre o tamanho do lote e o tamanho da amostra.

### 2.6. Nível de Qualidade Aceitável - NQA

Máximo percentual de unidades defeituosas que, para fins de inspeção de amostragem, pode ser considerado aceitável.

### 2.7. Porcentagem não conforme

Porcentagem de **PRESERVATIVOS** num lote que não está conforme em um ou mais aspectos com as exigências deste Regulamento.

### 2.8. Bainha

Tipo de acabamento da extremidade aberta do **PRESERVATIVO**.

## 2.9. Número de Lote

Número ou combinação de numerais, símbolos ou letras utilizados pelo fabricante para fornecer uma identificação única de um lote de **PRESERVATIVOS** individualmente embalados, mediante o qual se torna possível rastrear esse lote por todas as fases de fabricação até a embalagem.

## 2.10. Embalagem Primária

Envoltório imediato de um único **PRESERVATIVO**.

## 2.11. Embalagem de Consumo

Embalagem planejada para ser distribuída a um consumidor, contendo uma ou mais embalagens primárias.

## 2.12. Máquinas Automáticas

Equipamento destinado ao fornecimento de **PRESERVATIVO** em sua embalagem primária ou de consumo.

## 2.13. Data de Fabricação

A data de fabricação do lote deve ser considerada a data em que os **PRESERVATIVOS** foram moldados (dipping), sem levar em consideração a etapa completa em que foram embalados.

## 3. PROJETO

Os **PRESERVATIVOS** podem ser classificados quanto ao projeto da seguinte maneira: lisos, texturizados, lados paralelos ou não paralelos, extremidade simples, extremidade com reservatório, secos, lubrificados, transparentes, translúcidos, opacos ou coloridos, anatômicos, aromatizados e outros. A extremidade aberta do **PRESERVATIVO** deve terminar por uma bainha em toda a sua circunferência.

## 4. DATA DE VENCIMENTO

Data estabelecida após a qual o **PRESERVATIVO** não deve ser utilizado. Esta data, indicada no rótulo, não deve superar 5 (cinco) anos, contados da data de fabricação.

Se a embalagem de consumo incluir **PRESERVATIVOS** de diferentes lotes, a data de vencimento será determinada pelo lote com data de vencimento menor.

## 5. DIMENSÕES

### 5.1. Comprimento

Quando ensaiados conforme o Anexo B, o comprimento dos **PRESERVATIVOS** não deve ser inferior a 160 mm.

### 5.2. Largura

Quando ensaiados conforme o Anexo C, a largura nominal deve ser igual à especificação declarada pelo fabricante (veja Anexo I) dentro de uma tolerância de  $\pm 2$  mm.

A largura do **PRESERVATIVO** deve ser medida no ponto mais estreito localizado dentro de 35 mm da extremidade aberta, ou em ponto mais estreito indicado pelo fabricante dentro desta medida.

NOTA: A largura para determinação dos requisitos para volume de estouro conforme 6.1 pode ser medida ao mesmo tempo.

### 5.3 Espessura

Quando ensaiado conforme o Anexo D, a espessura dos **PRESERVATIVOS** não deve ser inferior a 0,03mm.

### 5.4 Aceitação

Ver item A-2.1.

## 6. CAPACIDADE VOLUMÉTRICA E PRESSÃO DE ESTOURO

### 6.1. **PRESERVATIVO** não tratado em estufa

Quando ensaiado conforme Anexo E, a pressão de estouro não deve ser inferior a 1 kPa (2kPa para **PRESERVATIVOS** Extra Resistentes - ver item 6.3) e a capacidade volumétrica não deve ser inferior a:

? 16,0 dm<sup>3</sup>, para **PRESERVATIVOS** com largura menor do que 50,0 mm; ou

? 18,0 dm<sup>3</sup>, para **PRESERVATIVOS** com a largura maior do que ou igual a 50,0 mm e menor que 56,0 mm; ou

? 22,0 dm<sup>3</sup>, para **PRESERVATIVOS** com a largura maior do que ou igual a 56,0 mm, arredondado ao 0,5 dm<sup>3</sup> mais próximo.

A largura é a média de 13 **PRESERVATIVOS** (expressa em mm) medida a  $(75 \pm 5)$  mm da extremidade fechada sem o reservatório conforme descrito no Anexo C.

### 6.2. **PRESERVATIVO** envelhecido em estufa

Quando envelhecido em estufa conforme no Anexo F e ensaiado conforme descrito no Anexo E, a capacidade volumétrica e a pressão de estouro devem cumprir ao especificado em 6.1.1. e 6.1.2 para o caso de **PRESERVATIVOS** extra-resistentes.

NOTA: Somente os **PRESERVATIVOS** com menos de 12 meses da fabricação (incluindo o próprio mês da fabricação) devem ser submetidos ao envelhecimento em estufa conforme o Anexo F.

### 6.3. **PRESERVATIVOS** extra-resistentes

Os **PRESERVATIVOS** que estiverem rotulados como ?Extra Resistente?, ?Extra Forte? ou qualquer outra denominação que sugira maior resistência, devem atender aos requisitos adicionais, a seguir:

#### 6.3.1 Propriedades mecânicas

Quando ensaiado conforme o anexo E, a pressão de estouro não deve ser menor que 2 kPa e a capacidade volumétrica deve estar de acordo com o item 6.1.

#### 6.4. Aceitação

Ver item A-2.2.

### 7. VERIFICAÇÃO DE ORIFÍCIOS

Quando ensaiado conforme no Anexo G, não deve apresentar orifícios.

#### 7.1. Aceitação

Ver item A-2.3.

### 8. INTEGRIDADE DA EMBALAGEM

Quando a embalagem primária for ensaiada conforme no Anexo H, não pode apresentar falhas.

#### 8.1. Aceitação

Ver item A-2.4.

### 9. EMBALAGEM E ROTULAGEM

Quando examinadas visualmente, as embalagens dos **PRESERVATIVOS** devem estar conforme o Anexo I.

#### 9.1. Aceitação

Ver item A-2.5.

## ANEXO A - PLANO DE AMOSTRAGEM

### A-1. VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE

Para verificação da conformidade dos **PRESERVATIVOS** com este Regulamento devem-se adotar os planos de amostragem estabelecidos no item A-2.

#### A-2. AMOSTRAGEM

A amostragem e o estabelecimento do plano de amostragem devem ser realizados conforme a norma técnica ISO 2859-1, aplicada a **PRESERVATIVOS** de um mesmo lote.

NOTA: O fabricante, para controle de seu processo, poderá aplicar plano de amostragem simples, duplo ou múltiplo, a seu critério, uma vez que os três possuem a mesma curva característica de operação.

##### A-2.1. DIMENSÕES (COMPRIMENTO, LARGURA e ESPESSURA)

Unidade do produto: **PRESERVATIVO** embalado individualmente

Plano de amostragem: simples

Regime de inspeção: normal



Nível de inspeção: S2 (especial)

Nível de qualidade aceitável: 1,0 (individual para cada parâmetro)

#### A-2.2. CAPACIDADE VOLUMÉTRICA E PRESSÃO DE ESTOURO

Unidade do produto: **PRESERVATIVO** embalado individualmente

Plano de amostragem: simples

Regime de inspeção: normal

Nível de inspeção: I (geral)

Nível de qualidade aceitável: 1,5

#### A-2.3. VERIFICAÇÃO DE ORIFÍCIOS

Unidade do produto: **PRESERVATIVO** embalado individualmente

Plano de amostragem: simples

Regime de inspeção: normal

Nível de inspeção: I (geral) mínimo Letra M

Nível de qualidade aceitável: 0,25

#### A-2.4. INTEGRIDADE DA EMBALAGEM

Unidade do produto: **PRESERVATIVO** embalado individualmente

Plano de amostragem: simples

Regime de inspeção: normal

Nível de inspeção: S3 (especial)

Nível de qualidade aceitável: 2,5

#### A-2.5. EMBALAGEM E ROTULAGEM

Unidade do produto: embalagem primária e de consumo

Plano de amostragem: simples

Regime de inspeção: normal

Nível de inspeção: S2 (especial)

Nível de qualidade aceitável: 1,0

## ANEXO B - DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO

### B-1. PRINCÍPIO

Suspensão livre do **PRESERVATIVO** desenrolado sobre um mandril graduado e observação do seu comprimento, excluindo o reservatório.

### B-2. INSTRUMENTO

Mandril com escala subdividida em milímetros, tendo as dimensões mostradas na Figura 1.

### B-3. EXECUÇÃO DO ENSAIO

B-3.1. Desenrolar o **PRESERVATIVO**, esticando-o não mais que 20 mm, duas vezes para alisar as dobras.

B-3.2. Quando necessário, retira-se o lubrificante com um papel absorvente e coloca-se pó inerte, para evitar que haja aderência do **PRESERVATIVO** ao mandril.

B-3.3. Colocar o **PRESERVATIVO** sobre o mandril e deixá-lo pender livremente, de modo que seja estirado somente pelo próprio peso.

B-3.4. Anotar, arredondado ao milímetro mais próximo, o menor valor do comprimento que possa ser lido no lado externo da escala, na extremidade aberta do **PRESERVATIVO**. Esta medida deve ser feita evitando-se erros de paralaxe.

### B-4. CONTEÚDO DO RELATÓRIO DE ENSAIO

O relatório do ensaio deve conter os seguintes itens:

- a) identificação da amostra;
- b) data do ensaio;
- c) número de **PRESERVATIVOS** ensaiados;
- d) comprimento dos **PRESERVATIVOS**;
- e) número de **PRESERVATIVOS** fora da especificação.

## ANEXO C - DETERMINAÇÃO DA LARGURA

### C-1. PRINCÍPIO

Desenrolar o **PRESERVATIVO** sobre uma régua para medir a sua largura.

### C-2. INSTRUMENTO

Régua de aço, com escala dividida em milímetros.

### C-3. EXECUÇÃO DO ENSAIO

C-3.1. Desenrolar o **PRESERVATIVO** e, quando necessário retirar o lubrificante com um papel absorvente e colocar pó inerte, para evitar que haja aderência do **PRESERVATIVO** à régua.

C-3.2. Estendê-lo sobre a margem da régua, soltando-o livremente de modo que seu eixo longitudinal permaneça perpendicular ao eixo longitudinal da régua.

C-3.3. Medir, arredondando ao 0,5 mm mais próximo, a largura do **PRESERVATIVO** nos pontos especificados neste Regulamento.

### C-4. CONTEÚDO DO RELATÓRIO DO ENSAIO

O relatório do ensaio deve conter os seguintes itens:

- a) identificação da amostra;
- b) data do ensaio;
- c) número de **PRESERVATIVOS** ensaiados;
- d) largura dos **PRESERVATIVOS**;
- e) número de **PRESERVATIVOS** fora da especificação.

### ANEXO D - DETERMINAÇÃO DA ESPESSURA

#### D-1. PRINCÍPIO

A espessura simples da película é medida em posições distintas ao longo do **PRESERVATIVO**.

#### D-2. INSTRUMENTOS

Relógio comparador montado em um suporte rígido e dispendo de uma placa de base plana. O comparador deve ser graduado em 0,001 mm e estar em conformidade com as recomendações da ISO R 463. O relógio deve possuir um apalpador plano com um diâmetro entre 3 mm e 7 mm em um ângulo reto em relação ao êmbolo e paralelo à placa de base, e deve ser operado com uma pressão de 22 kPa  $\pm$  5 kPa.

#### D-3. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

D.3.1. Usar luvas adequadas quando manusear o **PRESERVATIVO**.

D.3.2. Mover o **PRESERVATIVO** dentro da embalagem de maneira que fique fora da área a ser rasgada. Rasgar a embalagem e retirar o **PRESERVATIVO**.

NOTA: Em nenhuma hipótese utilizar tesoura ou outro instrumento pontiagudo para abrir a embalagem.

D.3.3. Desenrolar o **PRESERVATIVO** assegurando-se de que o mesmo não esteja excessivamente esticado em qualquer direção.

D.3.4. Lavar o **PRESERVATIVO** de acordo com o Anexo J.

#### D-4. EXECUÇÃO DO ENSAIO

##### D.4.1. **PRESERVATIVOS** COM SUPERFÍCIE LISA

D.4.1.1. Verificar se a placa de base e o êmbolo se encontram limpos.

D.4.1.2. Ajustar o zero do relógio comparador.

D.4.1.3. Colocar o corpo de prova e acionar o comparador.

D.4.1.4. Medir com aproximação de 0,001 mm a espessura simples da amostra em, pelo menos, 4 (quatro) pontos ao longo da mesma.

D.4.1.5. Anotar o resultado determinado pela média dessas leituras.

D.4.1.6. Limpar o instrumento depois de cada leitura.

##### D.4.2. **PRESERVATIVOS** COM SUPERFÍCIE TEXTURIZADA

Seguir os mesmos procedimentos detalhados em D.4.1 tomando as medições nas áreas não texturizadas. Se os **PRESERVATIVOS** são totalmente texturizados, as medidas serão efetuadas sobre as zonas texturizadas e se anotará somente 80% dos valores lidos.

#### D-5. CONTEÚDO DO RELATÓRIO DO ENSAIO

O relatório do ensaio deve conter os seguintes itens:

- a) identificação da amostra;
- b) data do ensaio;
- c) número de **PRESERVATIVOS** ensaiados;
- d) espessura dos **PRESERVATIVOS**;
- e) número de **PRESERVATIVOS** fora da especificação.

#### ANEXO E - DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE VOLUMÉTRICA E DA PRESSÃO DE ESTOURO

##### E-1. PRINCÍPIO

Insuflação de ar no **PRESERVATIVO** a uma vazão constante, registrando o volume e a pressão no momento do estouro.

##### E-2. INSTRUMENTOS

E-2.1. Aparelhagem de insuflação de ar, conforme mostra a Figura 2, adequada para insuflar o **PRESERVATIVO** com ar isento de óleo e umidade a um fluxo especificado, fornecida em conjunto com

equipamento para medição de volume e pressão, apresentando as características determinadas em E-2.4. Se utilizada uma cabine de insuflação, que permita a visualização do **PRESERVATIVO** durante o processo, que seja de tamanho suficiente para permitir que o **PRESERVATIVO** se expanda livremente, sem tocar qualquer parte da cabine.

E-2.2. Manômetro, capaz de medir a pressão no momento do estouro do **PRESERVATIVO**, com um erro máximo admissível de  $\pm 0,05$  kPa, e projetado de maneira que não haja pressão diferencial entre o **PRESERVATIVO** e o manômetro.

E-2.3. Aparelho para registrar o volume de ar insuflado, projetado de modo a não haver um diferencial de pressão entre o instrumento de medição e o **PRESERVATIVO**, garantindo assim que o volume de ar seja medido à pressão existente dentro do **PRESERVATIVO** e não à pressão dentro do sistema. Qualquer que seja o método utilizado, deve apresentar erro máximo admissível de  $\pm 3\%$  para volumes maiores do que  $10 \text{ dm}^3$ .

E-2.4. Haste de comprimento adequado, apresentando, na parte superior, uma esfera ou hemisfério liso de 25 mm de diâmetro para suspender o **PRESERVATIVO** desenrolado, quando estiver preso ao aparelho, liberando  $(150 \pm 3)$  mm do comprimento do **PRESERVATIVO** para a insuflação.

E-2.5. Anel de fixação, que não apresente protusão ou borda afiada. O anel não deve esticar o **PRESERVATIVO** no momento em que é colocado no dispositivo. Quando utilizado com equipamento fixador inflável, o anel não deve estender-se mais do que 3 mm acima do fixador.

### E-3. EXECUÇÃO DO ENSAIO

E-3.1. Usar luvas ou dedeiras adequadas quando manusear o **PRESERVATIVO**.

E-3.2. Mover o **PRESERVATIVO** dentro da embalagem de maneira que fique fora da área a ser rasgada. Rasgar a embalagem e retirar o **PRESERVATIVO**. Em nenhuma hipótese utilizar instrumentos cortantes ou pontiagudos para abrir a embalagem.

E-3.3. Desenrolar o **PRESERVATIVO**, diretamente sobre a haste, assegurando-se que não esteja excessivamente esticado em qualquer direção, fixando-o no dispositivo.

E-3.4. Insuflar com ar a um fluxo de  $(0,4 \text{ a } 0,5) \text{ dm}^3/\text{s}$  [ $(24 \text{ a } 30) \text{ dm}^3 / \text{min}$ ]. Assegurar-se que o **PRESERVATIVO** se expande e que não há vazamentos visíveis. Se o **PRESERVATIVO** apresentar alguma perda por um furo durante a insuflação, interromper o ensaio, considerar o **PRESERVATIVO** como defeituoso e registrar o volume e a pressão de estouro como zero.

E-3.5. Se o **PRESERVATIVO** não apresentar vazamentos (orifícios), medir e anotar o volume de estouro ( $\text{dm}^3$ ), arredondando para  $0,5 \text{ dm}^3$  mais próximo, e a pressão de estouro (kPa), arredondando para  $0,05 \text{ kPa}$  mais próximo.

### E-4. CONTEÚDO DO RELATÓRIO DE ENSAIO

O relatório do ensaio deve conter os seguintes itens:

a) identificação da amostra;

b) data do ensaio;

- c) número de **PRESERVATIVOS** ensaiados;
- d) a capacidade volumétrica e pressão de estouro de cada **PRESERVATIVO** ensaiado;
- e) número de **PRESERVATIVOS** fora das especificações.

## ANEXO F - DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE APÓS O ENVELHECIMENTO

### F-1. PRINCÍPIO

Determinar a capacidade volumétrica e a pressão de estouro nos **PRESERVATIVOS** após condicioná-los, em suas embalagens primárias, a temperaturas elevadas durante o tempo especificado.

### F-2. INSTRUMENTOS

F-2.1. Estufa conforme especificado na norma ISO 188.

NOTA: As trocas de ar e a suspensão da embalagem individual indicadas na ISO 188 são desnecessárias.

F-2.2. Instrumento como especificado no Anexo E.

### F-3. CONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS

O **PRESERVATIVO** deve ser ensaiado na embalagem primária original.

### F-4. EXECUÇÃO DO ENSAIO

F-4.1. Condicionar as amostras em estufa a  $(70 \pm 2)$  °C por  $(168 \pm 2)$  h.

F-4.2. Retirar da estufa, manter as embalagens a  $(25^\circ \pm 5^\circ)$  C durante um período de, no mínimo, 12h e, no máximo, 96h.

F-4.3. Abrir as embalagens e examinar os **PRESERVATIVOS** buscando sinais de deterioração, como pegajosidade, friabilidade ou outros defeitos.

F-4.4. Realizar o ensaio para medir a capacidade volumétrica e a pressão de estouro de acordo com o Anexo E.

### F-5. CONTEÚDO DO RELATÓRIO DO ENSAIO

O relatório do ensaio deve conter os seguintes itens:

- a) identificação da amostra;
- b) data do ensaio;
- c) número de **PRESERVATIVOS** ensaiados;
- d) descrição de qualquer deterioração visível nos **PRESERVATIVOS** após o condicionamento em estufa;
- e) capacidade volumétrica e pressão de estouro de cada **PRESERVATIVO** ensaiado;

f) número de **PRESERVATIVOS** fora das especificações.

## ANEXO G - VERIFICAÇÃO DE ORIFÍCIOS

### G-1. PRINCÍPIO

Inicialmente, os **PRESERVATIVOS** são testados eletricamente para detecção de furos. Um **PRESERVATIVO** que não apresente furos age como um isolante e não permite que haja passagem de corrente no circuito elétrico. Um **PRESERVATIVO** com furo permite a passagem de corrente. Os **PRESERVATIVOS** que forem reprovados no teste elétrico devem ser rolados em papel absorvente colorido para que seja confirmada a existência de furos.

### G-2. APARELHAGEM

#### G-2.1. Equipamento de teste elétrico

Um exemplo de aparelhagem é mostrada nas Figuras 3 e 4.

As tolerâncias para os parâmetros são: Voltagem ( $10 \pm 1,0$ ) V. Resistência ( $10 \pm 0,5$ ) kOhm. Sensibilidade do voltímetro de  $\pm 3$  mV.

#### G-2.2. Solução eletrolítica

Solução eletrolítica de uma solução aquosa de cloreto de sódio [ $\text{NaCl} = (10 \pm 1,0) \text{ g / l}$ ] a  $(25 \pm 5)^\circ \text{C}$ , porém uma solução eletrolítica de condutividade equivalente pode ser utilizada como alternativa [ $\text{Na}_2\text{SO}_4 = (15,4 \pm 1,0) \text{ g/l}$ ].

### G-3. EXECUÇÃO DO ENSAIO

G.3.1. Usar luvas adequadas quando manusear o **PRESERVATIVO**.

G.3.2. Mover o **PRESERVATIVO** dentro da embalagem de maneira que fique fora da área a ser rasgada. Rasgar a embalagem e retirar o **PRESERVATIVO**.

NOTA: Em nenhuma hipótese utilizar tesoura ou outro instrumento pontiagudo para abrir a embalagem.

G.3.3. Desenrolar o **PRESERVATIVO** assegurando-se de que o mesmo não esteja excessivamente esticado em qualquer direção.

G.3.4. Encher o recipiente com solução eletrolítica (item G-2.2), trocando-a sempre que a solução ficar turva ou, pelo menos, uma vez por dia.

G.3.5. Completar o volume com a solução de modo que o nível do líquido do recipiente com a solução eletrolítica fique, no máximo, a 25 mm da extremidade aberta; e o nível da solução dentro do **PRESERVATIVO** fique à mesma altura ou acima.

G.3.6. Aplicar uma voltagem contínua em série de  $(10 \pm 1,0)$  V com uma resistência elétrica de  $(10 \pm 0,5)$  kOhm, entre o eletrodo no reservatório e o eletrodo dentro do **PRESERVATIVO**. Medir a voltagem no resistor após  $(10 \pm 2)$  s. Anotar o resultado.

Após este período, caso seja detectada uma tensão igual ou superior a 0,050 V, o **PRESERVATIVO** deve ser submetido ao rolamento em papel absorvente colorido, para que seja confirmada a existência de furo.

G.3.7 Os **PRESERVATIVOS** serão considerados conformes quando a tensão detectada for inferior a 0,050V.

G.3.8. Inspeccionar o **PRESERVATIVO** quanto a sinais visíveis de vazamento. Considerar como não conforme qualquer **PRESERVATIVO** que exiba sinais visíveis de vazamento a uma distância maior que  $(25 \pm 1)$  mm da extremidade aberta e terminar o ensaio deste **PRESERVATIVO**.

G.3.9. Marcar com caneta de ponta porosa a posição do furo, de maneira que seja possível determinar sua distância em relação à extremidade aberta, quando o **PRESERVATIVO** for esvaziado.

G.3.10. Para confirmar a existência de furos, encher ou completar o volume do **PRESERVATIVO** até  $(300 \pm 10)$  ml com solução eletrolítica ou água, pegar o **PRESERVATIVO** pela extremidade fechada e, se necessário, esticá-lo suavemente para deslocar a solução da extremidade aberta. Vedar a extremidade aberta torcendo o **PRESERVATIVO** em um ponto localizado no máximo a 25 mm da extremidade aberta e retirá-lo do equipamento.

G.3.11. Transferir o **PRESERVATIVO** para uma folha de papel absorvente colorido, seco. Com uma mão manter fechada a extremidade aberta do **PRESERVATIVO** para evitar que a água vazze e, com a outra mão, rolá-lo para frente e para trás uma vez, em uma distância igual à sua circunferência enquanto cheio de água.

G.3.12. Durante o rolamento, abrir os dedos da mão para distribuir a força o mais uniformemente possível sobre o **PRESERVATIVO**. Manter a mão a uma distância de 25 mm a 35 mm sobre o papel absorvente. Mover a mão diagonalmente em relação ao **PRESERVATIVO** para que este seja submetido à pressão da mão e permaneça em contato com o papel absorvente. É importante que a extremidade fechada do **PRESERVATIVO** seja rolada no papel absorvente durante a operação. Inspeccionar o papel quanto a sinais de água. Ignorar qualquer marca de lubrificante. Havendo qualquer sinal de água no papel absorvente, marcar com caneta de ponta porosa a posição do furo, de maneira que seja possível determinar sua distância em relação à extremidade aberta, quando o **PRESERVATIVO** for esvaziado, e considerar o **PRESERVATIVO** como não conforme.

#### G-4. CONTEÚDO DO RELATÓRIO DE ENSAIO

O relatório do ensaio deve conter os seguintes itens:

- a) identificação da amostra;
- b) data do ensaio;
- c) número de **PRESERVATIVOS** ensaiados;
- d) para **PRESERVATIVOS** que tenham apresentado voltagem igual ou superior a 0,050 V, registrar a voltagem obtida;
- e) número de **PRESERVATIVOS** com furos. Registrar a distância, em mm, em que o furo se encontra da bainha.

#### ANEXO H - VERIFICAÇÃO DA INTEGRIDADE DA EMBALAGEM

##### H-1. PRINCÍPIO



Os **PRESERVATIVOS**, acondicionados na embalagem primária, são submetidos a uma pressão menor do que a pressão atmosférica, para determinar a presença de vazamentos na embalagem.

## H-2. INSTRUMENTOS

H-2.1 Câmara de Vácuo equipada com uma bomba de vácuo e um medidor de pressão, apta para manter uma pressão absoluta de  $(20 \pm 5)$  kPa e que permita a visualização de seu interior durante o teste.

H-2.2 Fluido de Imersão, solução aquosa diluída com um tensoativo, por exemplo, um detergente de uso comum. Para facilitar a observação pode-se acrescentar à solução aquosa, gotas de uma solução corante, como por exemplo, azul de metileno.

## H-3. EXECUÇÃO DO ENSAIO

A temperatura do fluido de teste e amostra devem estar em equilíbrio com a temperatura ambiente.

H-3.1. Submergir os **PRESERVATIVOS** acondicionados em suas embalagens primárias na solução contida no recipiente de ensaio da câmara de vácuo. A superfície superior dos recipientes deve estar coberta, no mínimo, por 25 mm de água.

H-3.2. Submeter a câmara a uma pressão absoluta de  $(20 \pm 5)$  kPa. Durante o aumento do vácuo, observar as embalagens quanto ao vazamento, na forma de um aumento estável de bolhas. As bolhas isoladas causadas pelo ar preso não são consideradas vazamento. A embalagem flexível, com pouco ou nenhum espaço morto, não pode ser confiavelmente avaliada por este método.

H-3.3. Manter o vácuo por 1 minuto. Soltar o vácuo, retirar a tampa e examinar as embalagens quanto à presença de água no interior.

H-3.4. Se houver bolhas, indicando vazamento na embalagem durante o aumento de vácuo ou quando mantido a um vácuo específico, a amostra é considerada não conforme. Se o fluido estiver visível dentro de uma embalagem, a amostra é considerada não conforme.

H-3.5. Se não houver bolhas que indiquem vazamentos e se nenhum fluido estiver visível dentro da embalagem, a amostra é considerada conforme.

## H-4. CONTEÚDO DO RELATÓRIO DE ENSAIO

O relatório do ensaio deve conter os seguintes itens:

- a) identificação da amostra;
- b) data do ensaio;
- c) número de embalagens primárias ensaiadas;
- d) número de embalagens não conformes.

## ANEXO I - EMBALAGEM E ROTULAGEM

### I-1. PRINCÍPIO

Este Anexo descreve as condições a que devem satisfazer as embalagens, as instruções de uso e as máquinas automáticas.

## I-2. CONDIÇÕES GERAIS

I-2.1. A embalagem primária do **PRESERVATIVO** deve ser hermeticamente selada, proteger o produto de oxigênio, ozônio, vapor de água, luz visível e ultravioleta. Deve ser utilizado um laminado, que inclui uma camada de adequada folha impermeável, flexível, de alumínio (espessura mínima recomendada de 8 micrômetros), e camadas de materiais plásticos adequados para a proteção mecânica da folha de metal e para a impressão e selagem, ou outro material opaco cuja impermeabilidade e resistência sejam semelhantes, e isento de substâncias tóxicas ou irritantes ou que sejam prejudiciais ao organismo humano, de formato tal que o produto mantenha seu diâmetro em todas as direções. A embalagem primária deve ser feita para facilitar sua abertura e não provocar danos mecânicos aos **PRESERVATIVOS**.

I-2.2. As máquinas automáticas que contenham embalagens primárias para distribuição de **PRESERVATIVOS** de uso único, devem conter todas as informações exigidas nas embalagens de consumo e instruções de uso, exceto o item I-4.2.c.

### NOTAS:

- a) Caso a máquina automática distribua mais de uma marca ou modelo de **PRESERVATIVO**, deve estar claramente indicado na saída de distribuição as características de cada produto.
- b) As máquinas automáticas devem ser instaladas, preferencialmente, em lugares secos e à temperatura ambiente, e sem incidência direta de luz solar.
- c) Os **PRESERVATIVOS** poderão somente ser comercializados em sua embalagem de consumo, excetuando-se aqueles destinados a máquinas automáticas.

I-2.3. Os textos das embalagens e das instruções de uso das máquinas automáticas deverão ser indeléveis e estar escritos no idioma do Estado Parte receptor, podendo estar escritos simultaneamente em português e espanhol.

I-2.4. Relativo ao tamanho dos caracteres impressos em todas as embalagens, deverá ser adotada uma altura mínima de 1 mm em todas as informações pertinentes.

## I -3. EMBALAGEM PRIMÁRIA

I-3.1. Nesta embalagem devem constar o seguinte:

- a) nome e marca do produto;
- b) número de lote, data de fabricação e data de vencimento ou prazo de validade;
- c) marca de conformidade a este Regulamento, quando disponível;
- d) origem do produto, informando o nome do fabricante;
- e) largura nominal, em mm;

- f) número do registro junto à Autoridade Sanitária;
- g) os dizeres, ?produto de uso único? e ?abrir somente na hora de uso?;
- h) indicar se o **PRESERVATIVO** é lubrificado, com espermicida ou presença de outro aditivo;
- i) telefone do Serviço de Atendimento ao Consumidor.

NOTA:

A Autoridade Sanitária poderá, no marco dos programas estatais de saúde, promover o acesso ao produto em sua embalagem primária tendo em conta o resto dos requisitos do presente Regulamento e fornecendo aos destinatários a informação complementar sobre seu uso.

#### I-4. EMBALAGEM DE CONSUMO

Esta embalagem pode conter no máximo 12 (doze) embalagens primárias.

A embalagem de consumo deve conter as informações a seguir:

I-4.1. Na face principal, deverá constar no mínimo:

- a) nome e marca do produto;
- b) características do produto (liso, texturizado, anatômico, outros);
- c) quantidade de **PRESERVATIVOS** em unidades;
- d) marca de conformidade com este Regulamento, quando disponível.

I-4.2. Nas outras faces, deverá constar, no mínimo:

- a) origem do produto, informando o nome e endereço do fabricante e do importador, quando for o caso;
- b) número do lote, data de fabricação e data de vencimento ou prazo de validade;
- c) os dizeres ?não fracionar?;
- d) o número de registro junto à Autoridade Sanitária;
- e) o nome do responsável técnico;
- f) os dizeres ?proteja este produto do calor, da umidade e da luz?;
- g) o número de telefone para atendimento ao consumidor no Estado Parte onde é comercializado;
- h) a composição do produto (látex, tipo de lubrificante, espermicida, entre outros aditivos);
- i) os dizeres ?produto de uso único? e ?ler as instruções de uso?.

I-4.3. No caso de programas oficiais de governo, a Autoridade Sanitária de cada Estado Parte definirá a necessidade da embalagem de consumo.

NOTA:

No caso da primeira importação de **PRESERVATIVOS** masculinos de uso único, o número de registro junto à Autoridade Sanitária poderá ser fixado através de etiqueta auto-adesiva não reutilizável.

#### I-5. INSTRUÇÕES DE USO

As instruções de uso devem acompanhar a embalagem de consumo ou devem estar fixadas nas máquinas automáticas, como indica o item I-2.2., devendo informar o seguinte:

- a) as vantagens do uso de **PRESERVATIVOS**, como alternativa para o planejamento familiar e no auxílio à prevenção de doenças sexualmente transmissíveis;
- b) a maneira correta de manuseio e abertura da embalagem, assim como a correta utilização do produto, contendo ilustrações para melhor entendimento da descrição;
- c) informar que o produto deve ser utilizado uma única vez e ser descartado corretamente logo após seu uso, não devendo ser jogado no vaso sanitário;
- d) informar sobre os efeitos nocivos gerados por materiais incompatíveis que entrem em contato com o **PRESERVATIVO**;
- e) esclarecer que qualquer reação alérgica deve ser levada ao conhecimento médico para a devida orientação.

#### ANEXO J - LAVAGEM

J-1. Colocar as amostras a serem lavadas em um recipiente de capacidade adequada que contenha uma quantidade suficiente de álcool isopropílico ou álcool etílico 95% (v/v), conforme o número de amostras a serem lavadas.

J-2. Lavar os **PRESERVATIVOS** por dentro e por fora, por 10 min.

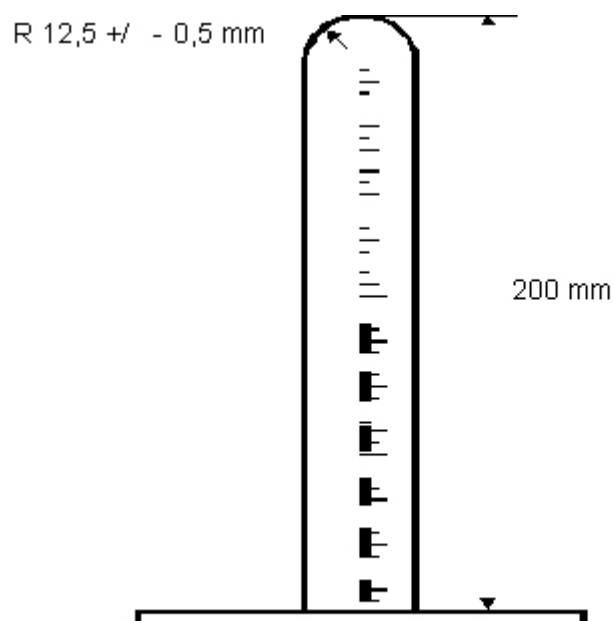
J-3. Caso perceber que a quantidade de lubrificante que recobre os **PRESERVATIVOS** é grande, repetir a lavagem com uma nova quantidade de álcool límpido.

J-4. Retirar os **PRESERVATIVOS** escorrer e secar entre dois papéis absorventes, por dentro e por fora. Colocar sobre um papel de cartolina ou cartão, sem sobrepô-los, e colocá-los em estufa a  $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  entre 60 min. e 90 min., virando-os na metade do período.

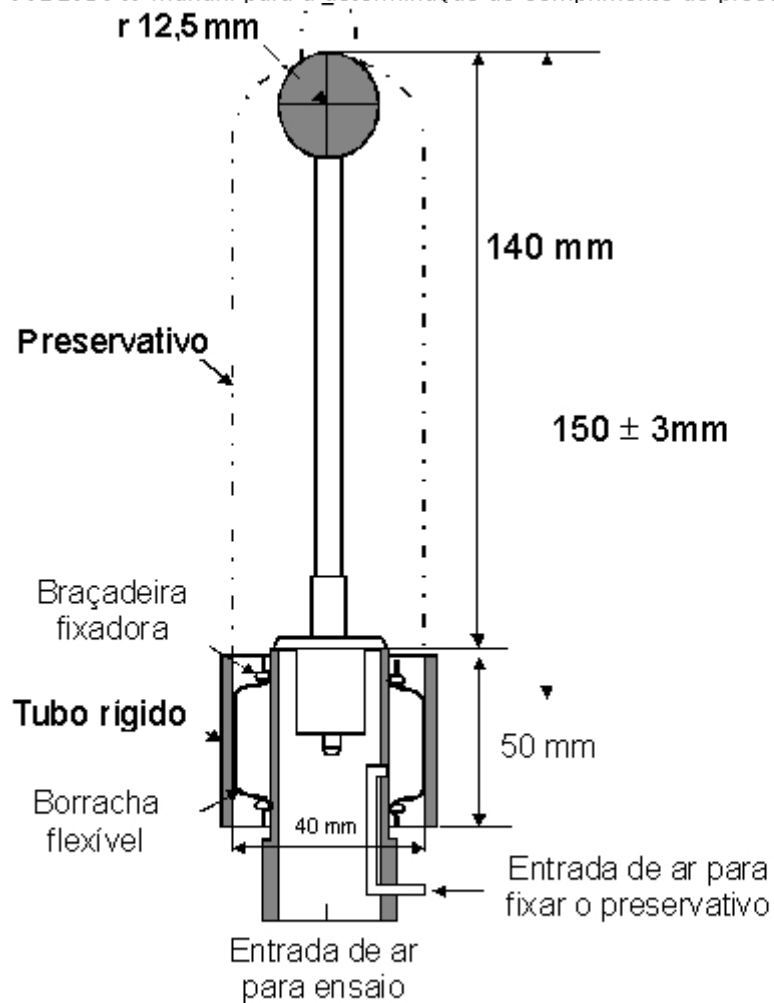
J-5. Alternativamente ao indicado no J-4, caso haja disponibilidade de equipamento secador de ar quente, regulado a  $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , colocar os **PRESERVATIVOS** nele, mantendo-os durante o tempo necessário para obter uma correta secagem, porém não mais de 90 min.

J-6. Alternativamente ao indicado no J-4, podem-se secar os **PRESERVATIVOS** ao ar, entre 16 e 24 horas, virando-os na metade do período.

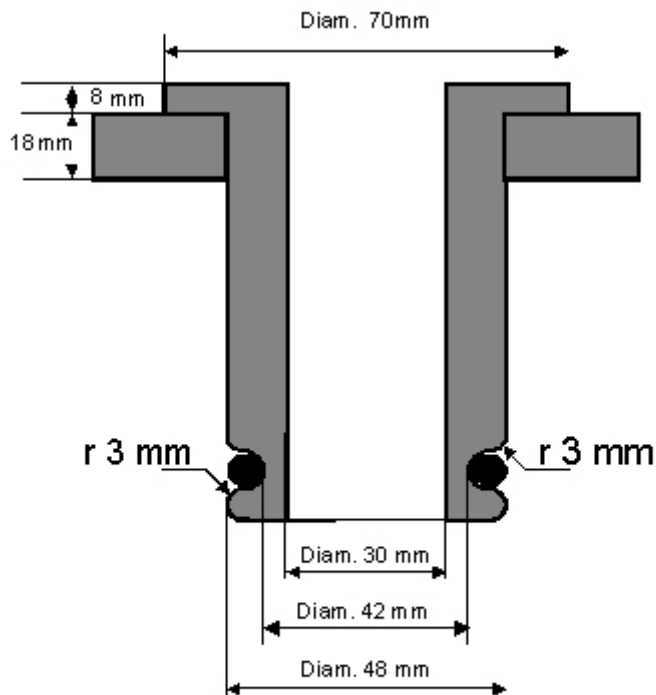
#### FIGURAS



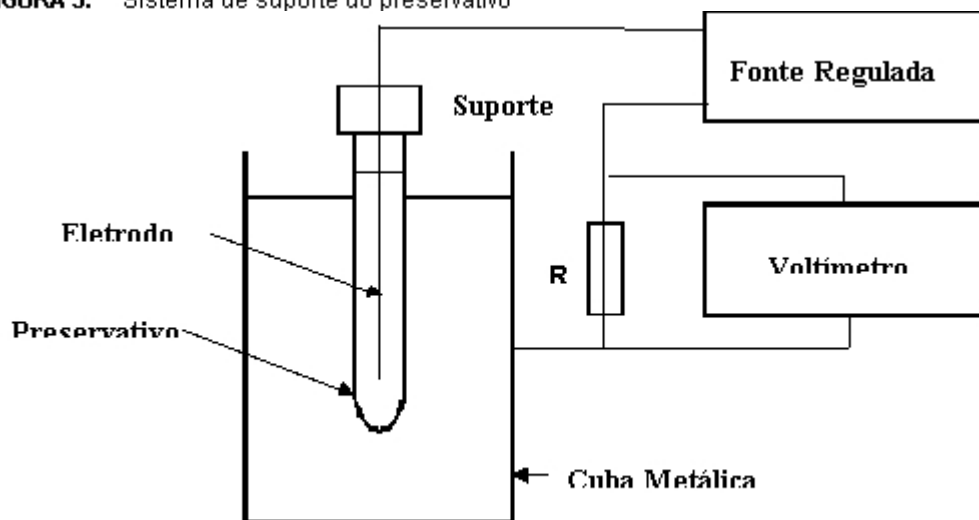
**FIGURA 1.** Mandril para a determinação do comprimento do preservativo



**FIGURA 2.** Dispositivo para ensaio de capacidade volumétrica e pressão de



**FIGURA 3.** Sistema de suporte do preservativo

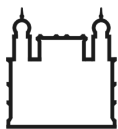


**Retificação:**

Publicado no, de 11 de setembro de 2008. Onde se lê: "Art. 4º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação." "Art. 5º Fica revogada a Resolução RDC ANVISA nº. 3, de 8 de janeiro de 2002", leia-se: "Art. 4º Esta Resolução entra em vigor 90 (noventa) dias após a data de sua publicação." "Art. 5º Fica revogada a Resolução RDC ANVISA nº. 3, de 8 de janeiro de 2002, publicada no DOU de 30 de janeiro de 2002, a partir da vigência desta Resolução."

**ANEXO B**

Procedimento Operacional Padronizado, nº 65.3210.008 rev. 15, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Pesquisa de patógenos em produtos não estéreis e matérias-primas de uso em sua fabricação e água para diálise.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**
**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**


## PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO

**TÍTULO: PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS  
 E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E  
 ÁGUA PARA DIÁLISE**
**NÚMERO  
 65.3210.008**
**PALAVRAS-CHAVE**

PATÓGENOS - NÃO ESTÉREIS - MICROBIOLOGIA

**REVISÃO**

15

**SEÇÃO DO  
 MANUAL**

4.3

**ELABORADO**

Joana Angélica B. Ferreira

**VERIFICADO**

Carmen Lucia Rocha

**APROVADO**

Suely A. P. Fracalanza

**REFERENDADO**

Eduardo C. Leal

**DATA**

08/06/2015

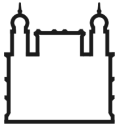
**SUMÁRIO**

1. Objetivo
2. Campo de Aplicação
3. Definição
4. Sigla
5. Condições Gerais
6. Condições Específicas
7. Bibliografia
8. Alterações com Relação à Revisão Anterior
9. Avaliação da bibliografia
10. Anexos
  - A. Meios de Cultura
  - B. Reagentes e Soluções
  - C. Esterilidade e Viabilidade dos Meios de Cultura
  - D. Pesquisa de Patógenos em Produtos Não Estéreis e Matérias Primas de Uso em sua Fabricação.
  - E. Meios de Cultura, Soluções, Micro-organismos de Referência, Vidraria e Equipamentos Utilizados nos Ensaios
  - F. Provas bioquímicas complementares

**1. OBJETIVO**

Este Procedimento Operacional Padronizado (POP) estabelece as condições e procedimentos para a pesquisa e identificação de patógenos em produtos (medicamentos não estéreis, cosméticos, artigos e insumos de saúde, água tratada para diálise, solução de diálise e concentrado polieletrólítico) e matérias-primas de uso em sua fabricação, bem como de outros microrganismos indesejáveis, segundo a via de administração, conforme determinação da Farmacopéia Brasileira 5.<sup>a</sup> edição e da legislação específica para cada tipo de produto.





<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

## 2.CAMPO DE APLICAÇÃO

Este POP aplica-se ao controle da qualidade de produtos (medicamentos não estéreis, cosméticos, artigos e insumos de saúde, água tratada para diálise e concentrado polieletrólítico para diálise) e matérias-primas de uso em sua fabricação, realizado pelo Setor de Produtos não-estéreis do Laboratório de Microbiologia de Produtos Estéreis e não Estéreis do Departamento de Microbiologia.

## 3.DEFINIÇÃO

### 3.1 – Patógenos

Organismos capazes de causar doenças. São, geralmente, bactérias, fungos ou vírus.

## 4. SIGLAS

ATCC-American Type Culture Collection

INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

## 5. CONDIÇÕES GERAIS

### 5.1 – Manipulação da Amostra

- armazenar a amostra, de acordo com a orientação do fabricante, até o início da análise, sendo que seu processamento deve ser o mais rápido possível;
- inspecionar a amostra cuidadosamente antes de processá-la, isto é, registrando no anexo A do POP N°65.3210.025 qualquer irregularidade com relação às suas embalagens, aspecto, n.º de lote etc. Caso haja alguma irregularidade, comunicar imediatamente ao Coordenador do Grupo Núcleo Técnico Programático correspondente;
- desinfetar as embalagens da amostra com solução de álcool etílico a 70% (v/v);
- a análise microbiológica requer a utilização de alíquotas representativas do conteúdo da amostra. Utilizar 10 mL ou 10 g para cada um dos ensaios, obtidos de 10 alíquotas de 1mL ou 1 g;
- para aquelas amostras cujo volume for inferior a 10 mL ou 10 g, analisar todo o seu conteúdo;
- no caso de amostras obtidas durante o processamento na indústria, os ensaios devem ser realizados em 10 mL ou 10 g da mistura das amostras obtidas no início, meio e fim do processo.

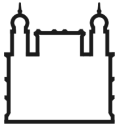
### 5.2 – Verificação da Capacidade Inibitória

Todas as amostras devem ser avaliadas quanto à sua capacidade inibitória do crescimento microbiano, conforme metodologia descrita no POP 65.3210.009 “Verificação da Capacidade Inibitória de Produtos não Estéreis do Departamento de Microbiologia”.

### 5.3 – Materiais e Equipamentos

- erlenmeyers de 250 e 500 mL;
- tubos de ensaio 13 x 100 mm, 16 x 150 mm e 18 x 170 mm;

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

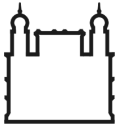
- c) provetas de 100 mL;
- d) pipetas graduadas de 1, 2, 5 e 10 mL;
- e) gral e pistilo;
- f) placas de Petri;
- g) espátulas e pinças;
- h) alça bacteriológica de platina e de níquel-cromo;
- i) agulha bacteriológica;
- j) banho termostático regulado a 45 – 50 °C;
- k) estufa bacteriológica a 32,5°C ±2,5°C;
- l) incubadora a 22,5°C ±2,5°C;
- m) balança com capacidade de 300 g e sensibilidade de 0,001g;
- n) homogeneizador mecânico;
- o) capela fluxo laminar tipo II B;
- p) equipamento luz U.V.(ultra violeta);
- q) jarra para anaerobiose.

Esterilizar toda a vidraria de acordo com o POP 65.3220.004.

#### 5.4 – Meios de Cultura ( Anexo A)

- a) ágar bismuto sulfito;
- b) ágar cetrimide;
- c) ágar citrato de Simmons;
- d) ágar desoxirribonuclease;
- e) ágar eosina azul de metileno (seg. Levine);
- f) ágar Mac Conkey;
- g) ágar para detecção de fluoresceína;
- h) ágar tríplice açúcar-ferro;
- i) ágar tripticaseína de soja;
- j) ágar uréia;
- k) ágar verde brilhante-vermelho de fenol lactose-sacarose;
- l) ágar Vogel-Johnson;
- m) ágar Sal Manitol
- n) ágar xilose-lisina desoxicolato;
- o) ágar Columbia
- p) Ágar Sabouraud-dextrose
- q) caldo lisina, arginina e ornitina;
- r) caldo Reforçado para *Clostridium* ;
- s) caldo caseína-soja;
- t) caldo infusão de cérebro e coração;
- u) caldo lactosado;
- v) caldo selenito-cistina;
- w) caldo tetrionato;
- x) caldo indol ou agar semi sólido H<sub>2</sub>S, Indol e Mobilidade (SIM)
- y) caldo para fermentação de açúcares;
- z) caldo vermelho de metila-Vogues Proskauer;

CÓPIA NÃO CONTROLADA

**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISENÚMERO  
65.3210.008

- aa) caldo nitrato.  
bb) caldo MacConkey.  
cc) caldo Rappaport Vassiliadis

Os números de lote dos meios de cultura utilizados nos ensaios são registrados no formulário meios de cultura, soluções, microorganismos de referência, vidraria e equipamentos utilizados nos ensaios, Anexo E.

**5.5 – Reagentes e soluções (Anexo B)**

- a) reagente de Kovacs ou Ehrlich;  
b) reagente para teste de oxidase;  
c) reagente para teste de vermelho de metila;  
d) reagentes para teste de Vogues-Proskauer;  
e) corante azul algodão lactofenol;  
f) reagentes para nitrato.

**5.6 – Outros reagentes e soluções**

- a) bateria para coloração de Gram;  
b) clorofórmio;  
c) óleo mineral estéril;  
d) plasma de coelho ou cavalo com EDTA;  
e) polissorbato 80 estéril;  
f) solução de ácido clorídrico 1N;  
g) solução de peróxido de hidrogênio a 30%;  
h) solução salina a 0,85%

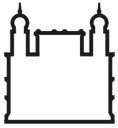
**5.7 – Micro-organismos de referência:**

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	INCQS 00230 (ATCC 9027)
<i>Escherichia coli</i>	INCQS 00219 (ATCC 8739)
<i>Staphylococcus aureus</i>	INCQS 00039 (ATCC 6538)
<i>Candida albicans</i>	INCQS 40006 (ATCC 10231)
<i>Salmonella sp</i>	INCQS 00150 (ATCC 14028)
	<small>Clostridium sporogenes INCQS 00060 (ATCC 11437)</small>
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	INCQS 40036 (ATCC 16404)
<i>Bacillus subtilis</i>	INCQS 00001 (ATCC 6633)

**6. CONDIÇÕES ESPECÍFICAS****6.1 – Preparo e Enriquecimento das Amostras**

Nas etapas a seguir é feito o controle negativo do ensaio através da utilização do meio sem a amostra (branco).

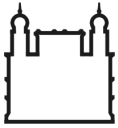
CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

- 6.1.1 – Sólidos parcialmente solúveis, drágeas, comprimidos
- triturar a amostra em gral com pistilo até a obtenção de um pó fino. Pesar 10 g da amostra triturada;
  - adicionar 90 mL de caldo de caseína-soja e homogeneizar cuidadosamente (diluição 1:10) e ajustar o pH para 6,0 a 8,0 com solução HCl 0,1 M ou NaOH 0,1 M;
  - adicionar uma porção 90 mL de caldo caseína-soja e incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 24 - 48 horas;
  - se houver evidência de crescimento proceder à pesquisa e identificação de patógenos de acordo com o descrito nas seções 6.2 a 6.6, conforme o caso.
- 6.1.2 – Produtos hidrossolúveis (sólidos solúveis, fluidos, soluções, água para hemodiálise, concentrado polieletrólítico)
- pesar ou medir 10g ou 10mL da mistura da amostra. Adicionar 90mL de caldo de caseína-soja e homogeneizar completamente por agitação (diluição 1:10), se necessário ajustar o pH para 6,0 a 8,0 com solução HCl 0,1 M ou NaOH 0,1 M;
  - Incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 24 - 48 horas;
  - se houver evidência de crescimento proceder à pesquisa e identificação de patógenos de acordo com o descrito nas seções 6.2 a 6.6, conforme o caso.
- 6.1.3 – Produtos de natureza não lipídica insolúveis em água, (pomadas, cremes, ceras, supositórios, óvulos)
- pesar ou medir 10 g ou 10 mL da mistura da amostra;
  - adicionar 2 mL da solução de tween 80 a 0,1% estéril, homogeneizar por agitação e, se necessário, sob aquecimento em banho termostático a 45-50° C por 10-15 minutos e ajustar o pH para 6,0 a 8,0 com solução HCl 0,1 M ou NaOH 0,1 M;
  - adicionar 88 mL de caldo caseína-soja e homogeneizar (diluição 1:10). Se não obtiver uma homogeneização completa, colocar em banho termostático a 45-50° C por aproximadamente 5 minutos;
  - incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 24 -48 horas;
  - se houver evidência de crescimento realizar a pesquisa e identificação de patógenos de acordo com o descrito nas seções 6.2 a 6.6, conforme o caso.
- 6.1.4 – Aerossóis
- resfriar pelo menos 10 recipientes do produto em mistura de álcool 70% e deixar em gelo seco durante uma hora,
  - abrir os recipientes e deixá-los abertos para que o propelente seja eliminado;
  - transferir uma porção de 10mL do produto para um frasco contendo 90 mL de caldo caseína soja;
  - transferir uma porção de 1 mL do produto, a partir do caldo caseína, para um frasco contendo 100 mL de caldo MacConkey;
  - incubar os frascos a 32,5°C ±2,5°C durante 24 -48 horas;
  - se houver evidência de crescimento proceder à pesquisa e identificação de patógenos de acordo com o descrito nas seções 6.2 a 6.6 , conforme o caso.
- Se não for possível obter duas porções de 10 mL da amostra, dividir o conteúdo das embalagens em duas partes e transferir uma parte para o frasco contendo caldo MacConkey



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

e a outra parte para frasco contendo caldo de caseína-soja, mantendo a proporção de 1:10;

#### 6.1.5 – Sólidos solúveis (cápsulas vazias)

- a) pesar duas porções de 10 g da amostra. Adicionar, a uma porção, 90 mL de caldo MacConkey. À outra porção, adicionar 90 mL de caldo caseína-soja. Aquecer, no máximo até 45°C, em banho termostático por 15 a 20 minutos, agitando até obtenção de uma suspensão uniforme;
- b) incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 24 - 48 horas;
- c) se houver evidência de crescimento proceder a pesquisa e identificação de patógenos de acordo com o descrito nas seções 6.2 a 6.6, conforme o caso.

#### 6.2 – Pesquisa e Identificação de *Pseudomonas aeruginosa*

- a) a partir do material enriquecido em caldo de caseína-soja (seção 6.1) transferir uma alçada para ágar cetrimide e semear por esgotamento; paralelamente, inocular um controle positivo e um negativo;
- b) incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 18 - 72 horas;
- c) transferir cada colônia com aspecto morfológico diferente em ágar cetrimide para ágar tripticaseína soja inclinado e incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 18 - 24 horas, uma vez que as colônias de *P. aeruginosa* apresentam aspecto muito variado.

##### 6.2.1 – Triagem bioquímica

Utilizar *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027), como controle positivo dos ensaios. Os controles positivos e negativos das provas bioquímicas são realizados de acordo com o indicado no formulário que consta no anexo F.

Submeter as culturas em ágar tripticaseína de soja inclinado aos seguintes ensaios:

##### 6.2.1.1 – Coloração de Gram

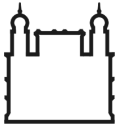
Submeter os esfregaços das culturas fixados em lâmina ao método de coloração de Gram, conforme PU 3210.102.

As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentam-se como bastonetes Gram negativos.

##### 6.2.1.2 – Citocromo oxidase

- a) transferir o crescimento com alça bacteriológica de platina ou bastão de madeira estéril para uma tira de papel de filtro impregnada com solução de N,N dimetil-p-fenilenodiamino; paralelamente um controle positivo e um negativo;
- teste positivo: desenvolvimento de coloração rosa a púrpura em 10 a 30 segundos;
  - teste negativo: ausência de coloração.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

A maioria das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* são positivas para este ensaio.

Não utilizar alça bacteriológica de níquel-cromo, pois esta pode interferir no ensaio, gerando um resultado falso-positivo.

#### 6.2.1.3 – Detecção de fluoresceína

- transferir uma alçada das culturas para tubo contendo ágar para detecção de fluoresceína; paralelamente, inocular um controle positivo e um negativo;
- incubar a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  durante 18 - 24 horas;
- examinar a fluorescência do ágar sob luz ultravioleta, no comprimento de onda de 254 nm.

A maioria das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* produz fluoresceína.

#### 6.2.1.4 – Detecção de piocianina

- transferir cerca de 1 mL de clorofórmio para a superfície de uma placa de ágar cetrimide contendo a cultura suspeita (24 horas), paralelamente, inocular um controle positivo e um negativo;
- remover o clorofórmio para um tubo de ensaio 13 x 100 mm e observar a coloração do mesmo:
  - coloração azul - presença de piocianina;
  - incolor ou outra coloração - ausência de piocianina.

A maioria das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* é positiva para esta prova.

#### 6.2.1.5 – Crescimento a $42 \pm 1^{\circ}\text{C}$

- transferir uma alçada das culturas para tubo contendo caldo infusão de cérebro e coração; inocular um controle positivo e um negativo;
- incubar os tubos a  $42 \pm 1^{\circ}\text{C}$  em banho termostático durante  $48 \pm 3$  horas.

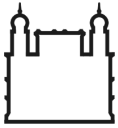
As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentam crescimento a  $42^{\circ}\text{C}$ .

Caso necessário, submeter as culturas suspeitas a provas bioquímicas complementares conforme ANEXO F deste POP.

#### 6.3 – Pesquisa e Identificação de *Staphylococcus aureus*

- a partir do material enriquecido em caldo caseína-soja (seção 6.1) transferir uma alçada para ágar Sal Manitol e semear por esgotamento; paralelamente inocular um controle positivo e um negativo;
- incubar a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  durante  $48 \pm 3$  horas;

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

- c) verificar o desenvolvimento de colônias típicas de *Staphylococcus aureus*:
- Agar Sal Manitol - colônias amarelas ou brancas rodeada por uma zona amarela
- d) repicar as colônias típicas para tubos contendo ágar tripticaseína de soja inclinado;
- e) incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 18-24 horas.

### 6.3.1 – Ensaios de confirmação

Utilizar *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538) como controle positivo dos ensaios. Os controles positivos e negativos das provas bioquímicas são realizados de acordo com o indicado no formulário que consta no anexo F deste POP.

Submeter as culturas em ágar tripticaseína de soja inclinado aos seguintes ensaios:

#### 6.3.1.1 – Coloração de Gram

Submeter os esfregaços das culturas fixados em lâmina ao método de coloração de Gram, conforme PU 3210.102.

As cepas de *Staphylococcus aureus* apresentam-se como cocos Gram positivos isolados ou em agrupamentos semelhantes a cachos de uvas.

#### 6.3.1.2 – Desoxirribonuclease

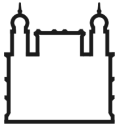
- repicar as culturas com características morfológicas de *Staphylococcus aureus* para placas de Petri contendo ágar desoxirribonuclease, paralelamente inocular um controle positivo e um negativo;
- incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 18 - 24 horas;
- adicionar solução de ácido clorídrico 1N;
- a formação de zona incolor ao redor do crescimento indica reação positiva.

A maioria das cepas de *Staphylococcus aureus* é positiva para este ensaio.

#### 6.3.1.3 – Coagulase

- repicar as culturas com as características morfológicas de *Staphylococcus aureus* para tubos contendo caldo infusão de cérebro e coração, paralelamente inocular um controle positivo e um negativo;
- incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 18 - 24 horas;
- transferir 0,3 mL da cultura em caldo infusão de cérebro e coração para tubo 13 X 100 mm contendo igual volume de plasma de coelho com EDTA;
- homogeneizar e incubar em banho termostático a 37± 0,5°C;
- observar a formação de coágulo em 2, 4 e 24 horas:
  - Resultado positivo:
    - presença de coágulo rígido que não se desloca quando da inversão do tubo;
  - Resultado negativo:
    - ausência de coágulo após 24 horas de incubação.

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

As cepas de *S. aureus* são positivas para este ensaio.

#### 6.3.2 – Ensaio auxiliares

Submeter as culturas com resultados positivos para coagulase aos seguintes ensaios:

##### 6.3.2.1 – Ensaio de catalase

Transferir uma cultura de 18 a 24 horas em ágar inclinado tripticaseína de soja para lâmina de vidro limpa e desengordurada, com o auxílio de uma alça de níquel- cromo, paralelamente inocular um controle positivo e um negativo, e adicionar uma gota de peróxido de hidrogênio a 30% sobre a cultura.

Interpretação: o produção de bolhas significa prova positiva.

As cepas de *Staphylococcus aureus* são positivas para este ensaio.

A não produção de bolhas significa prova negativa.

##### 6.3.2.2 – Utilização anaeróbica da glicose

a) inocular, em profundidade, uma alçada do crescimento em ágar inclinado tripticaseína de soja, em tubo contendo 3 mL de caldo para fermentação anaeróbica da glicose, paralelamente inocular um controle positivo e um negativo;

b) cobrir o meio com 0,3 mL de óleo mineral estéril;

c) incubar a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  por 24 - 48 horas;

A mudança da cor do meio para vermelho, significa prova positiva

- As cepas de *Staphylococcus aureus* são positivas para este ensaio.

#### 6.4 – Pesquisa e Identificação de *Salmonella sp.*

A partir do material enriquecido em caldo caseína soja (seção 6.1) transferir 0,1mL do conteúdo para tubo contendo 10mL de caldo Enriquecimento Salmonella Rappaport Vassiliadis e Incubar a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  durante 18 a 24 horas.

a) Realizar subcultura em placa contendo Agar Xilose Lisina Desoxicolato, paralelamente semear controle positivo e negativo;

b) incubar a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  durante 18 a 48 horas.;

c) verificar o desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella sp.*

- ágar xilose-lisina desoxicolato - colônias vermelhas com ou sem centro negro;

d) repicar as colônias suspeitas para tubos contendo ágar inclinado tripticaseína soja e incubar a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  durante 18 - 24 horas.

##### 6.4.1 – Triagem bioquímica

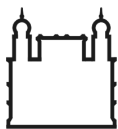
Utilizar *Salmonella sp* ATCC 14028 INCQS 00150 como controle positivo dos ensaios.

Os controles positivos e negativos das provas bioquímicas são realizados de acordo com o indicado no formulário que consta no anexo F.

Submeter as culturas em ágar inclinado tripticaseína de soja às seguintes provas:

CÓPIA NÃO CONTROLADA





<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

#### 6.4.1.1 – Coloração de Gram

Submeter os esfregaços das culturas fixados em lâmina ao método de coloração de Gram, conforme PU 3210.102.

As cepas de *Salmonella* sp apresentam-se como bastonetes Gram negativos.

#### 6.4.1.2 – Utilização de açúcares, produção de gás e produção de H<sub>2</sub>S

a) semear as culturas suspeitas no meio de ágar tríplice açúcar ferro em profundidade e estriando na superfície inclinada utilizando agulha bacteriológica; incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 18 - 24 horas, paralelamente, usar controle positivo e negativo;

- as cepas de *Salmonella* sp desenvolvem-se neste meio tornando a superfície alcalina (vermelha) e a base ácida (amarela) com ou sem produção de gás e/ou escurecimento do meio (produção de H<sub>2</sub>S).

b) inocular uma alçada das culturas suspeitas em caldo para fermentação de glicose com tubo de Durham, paralelamente, usar controle positivo e negativo e incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 18 - 24 horas.

- as cepas de *Salmonella* sp desenvolvem-se neste meio com ou sem produção de gás.

#### 6.4.1.3 – Descarboxilação da lisina, arginina e ornitina:

a) inocular uma alçada das culturas suspeitas em caldo lisina, arginina e ornitina, separadamente;

b) cobrir todos os tubos, inclusive o controle, com 0,3 mL de óleo mineral estéril;

c) incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 24-96 horas.

As cepas de *Salmonella* sp apresentam reação alcalina (cor púrpura) em todo o meio, com ou sem produção de gás ou H<sub>2</sub>S.

#### 6.4.1.4 – Produção de urease

a) semear as culturas suspeitas no meio de ágar uréia, estriando a superfície inclinada;

b) incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 24 - 96 horas.

As cepas de *Salmonella* sp não alteram a cor do meio porque são urease negativas.

#### 6.4.2 – Provas de confirmação

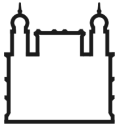
Submeter as culturas suspeitas a provas bioquímicas complementares conforme Anexo F.

#### 6.5 – Pesquisa e Identificação de *E. coli*

A partir do material enriquecido em caldo caseína-soja (seção 6.1) transferir 1 mL da amostra para 100 mL de Caldo MacConkey;

a) Incubar a 43 °C ± 1 °C durante 24 – 48 horas.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

- b) Realizar subcultura em placa de Agar MacConkey e incubar a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 18 a 72 horas;
- c) O crescimento de colônias vermelhas, geralmente não mucosas, com micromorfologia característica de bacilo Gram-negativo, indica presença provável de *E.coli*;
- d) selecionar as colônias típicas e semear em tubos contendo ágar tripticaseína de soja inclinado;
- e) incubar a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  durante 18 - 24 horas.

#### 6.5.1 – Triagem bioquímica

Utilizar *Escherichia coli* INCQS 00219 (ATCC 8739) como controle positivo dos ensaios.

Os controles positivos e negativos das provas bioquímicas são realizados de acordo com o indicado no formulário que consta no anexo F.

Submeter as culturas do ágar inclinado tripticaseína de soja às seguintes provas:

##### 6.5.1.1 – Coloração de Gram

Submeter os esfregaços das culturas fixados em lâmina ao método de coloração de Gram, conforme PU 3210.102.

As cepas de *E. coli* apresentam-se como bastonetes Gram negativos.

##### 6.5.1.2 – Morfologia colonial em ágar eosina azul de metileno

- a) semear as culturas suspeitas, por esgotamento, em placas contendo ágar eosina azul de metileno;
- b) incubar a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  durante 18 - 24 horas.

As cepas de *E.coli* desenvolvem colônias escuras com ou sem brilho metálico.

##### 6.5.1.3 – Prova do indol

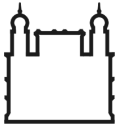
- a) semear um tubo contendo caldo indol ou agar semi sólido SIM e incubar a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  durante 18 - 24 horas;
- b) adicionar 0,5 mL de reagente de Kovacs ou Erlich
- O desenvolvimento de coloração vermelha na superfície do meio indica reação positiva.

A maioria das cepas de *E. coli* é indol positiva.

##### 6.5.1.4 – Prova de Voges-Proskauer

- a) semear um tubo contendo caldo vermelho de metila-Voges Proskauer e incubar a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas;
- b) transferir 1 mL da cultura para tubo 13 X 100 mm e reservar o restante das culturas;
- c) adicionar 0,6 mL de solução de alfa naftol e 0,2 mL de KOH a 40% e agitar;
- d) realizar a leitura após 2 horas;

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

e) o desenvolvimento de coloração rósea indica reação positiva.  
As cepas de *E. coli* são negativas para esta prova.

6.5.1.5 – Prova do vermelho de metila

- a) incubar o restante das culturas em caldo vermelho de metila-Voges Proskauer obtidas na seção 6.5.1.4. por mais 18-48 horas a 30 - 37°C;
- b) adicionar 5 gotas de solução de vermelho de metila. O desenvolvimento de cor vermelha indica reação positiva.

As cepas de *E. coli* são positivas para esta prova.

6.5.1.6 – Utilização do citrato como única fonte de carbono

- a) semear com agulha bacteriológica um leve inóculo das culturas suspeitas no meio ágar citrato de Simmons estriando levemente a superfície inclinada do meio. Incubar a 30 - 37°C por até 96 horas;
- b) o crescimento com mudança da cor do meio para azul indica reação positiva.

As cepas de *E. coli* são negativas para esta prova. Caso necessário, submeter as culturas suspeitas a provas bioquímicas complementares conforme ANEXO F.

6.5.1.7 – Prova da redução de nitrato

- a) inocular uma alçada das culturas suspeitas no meio. Incubar a 32,5°C ±2,5°C por 18-24 horas.
- b) após período de incubação adicionar 1 mL dos reagentes A e B.
  - c) resultado positivo: desenvolvimento de coloração vermelha. Caso o resultado seja negativo (ausência de coloração vermelha), adicionar aproximadamente 20 mg de pó de zinco para confirmação do mesmo. A coloração vermelha confirma o resultado negativo.

As cepas de *E. coli* são positivas para esta prova.

6.6 – Pesquisa de *Clostridium* em Pós

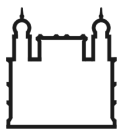
- a) preparar a amostra de acordo com a (seção 6.1) e adicionar 1mL do conteúdo em dois tubos contendo 9mL de caldo caseína cada e aquecer uma das porções a 80°C por dez minutos e esfriar imediatamente;
- b) transferir 10mL de cada fração homogeneizada para dois tubos contendo 100mL do meio caldo Reforçado para Clostrídium e incubar em condições de anaerobiose a 32,5°C ±2,5°C por 48 horas;
- c) após o período de incubação semear cada tubo em placas contendo ágar Columbia e incubar em condições de anaerobiose a 32,5°C ±2,5°C por 48 horas.

Interpretação dos resultados: a presença de crescimento anaeróbico com ou sem endósporos, e reação de catalase negativa, indica presença de clostrídeo em 1g ou 1mL da amostra.

6.7- Pesquisa de *Candida albicans*

- a) preparar a amostra de acordo com a (seção 6.1) Transferir uma alça para placa contendo Agar Sabouraud Dextrose ou Agar Nickerson;

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

b) Incubar a 32,5 °C ± 2,5 °C durante 24 – 48 horas;  
c) O crescimento de colônias brancas em Agar Sabouraud ou colônias marrom/preta em Agar Nickerson indica presença provável de *C. albicans*.

#### 6.8 – Pesquisa e Identificação de Patógenos em Medicamentos, segundo Via de Administração

De acordo com a Farmacopéia Brasileira – 4.ed., são indesejáveis, os seguintes microrganismos, em medicamentos segundo a sua via de administração:

##### VIA ORAL (sólidos e líquidos)

*Bacillus cereus*  
*Enterobacter sp*  
*Candida albicans*  
*Aspergillus flavus*  
*Aspergillus parasiticus*

##### VIA TÓPICA

*Serratia marcescens*  
*Klebsiella sp*  
*Burkholderia cepacea*  
*Stenotrophomonas maltophilia*  
*Pseudomonas stutzeri*  
*Streptococcus sp, grupo B*

##### VIA NASAL OU RESPIRATÓRIA

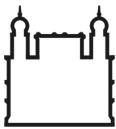
*Enterobacter sp*  
*Serratia marcescens*  
*Klebsiella sp*  
*Candida albicans*  
*Proteus sp*  
*Acinetobacter sp*  
*B. cepacia*  
*S. maltophilia*  
*P. stutzeri*

##### VIA INTRA-MAMÁRIA

*Staphylococcus sp*  
*Streptococcus sp, grupo B*  
*Bacillus cereus*  
*Serratia marcescens*  
*Corynebacterium pyogenes*

*Klebsiella sp*  
*Mycoplasma sp*  
*Enterobacter sp*  
*Pseudomonas sp*

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

*Citrobacter sp*

*Nocardia sp*

*Proteus sp*

*Cryptococcus neoformans*

*Candida sp*

6.8.1 – Pesquisa e identificação de *Enterobacter sp*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp* e *Citrobacter sp*.

Proceder conforme descrito na seção 6.5 (Pesquisa e identificação de *E. coli*) e continuar a identificação através de provas bioquímicas complementares, conforme ANEXO F.

6.8.2 – Pesquisa e identificação de *Acinetobacter sp*, *B. cepacea*, *S. maltophilia*, *P. stutzeri*

Proceder conforme descrito na seção 6.2. (Pesquisa e Identificação de *P. aeruginosa*) e continuar a identificação bioquímica através de provas complementares, conforme ANEXO F.

6.8.3 – Pesquisa e identificação de *Streptococcus* grupo B

Proceder conforme descrito na seção 6.3. (Pesquisa e Identificação de *S. aureus*) até a seção 6.3.1.1 e continuar a identificação através de provas bioquímicas complementares, conforme ANEXO F.

6.8.4 – Pesquisa e identificação de *Bacillus cereus* e *Corynebacterium pyogenes*

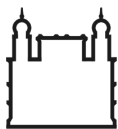
- após o preparo e enriquecimento da amostra em caldo de caseína-soja (seção 6.1), transferir uma alçada para placa contendo ágar de caseína-soja e semear por esgotamento;
- incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 24 - 48 horas;
- transferir cada tipo de colônia obtida para tubo contendo ágar inclinado tripticaseína de soja e incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 24 - 48 horas;
- verificar as características morfológicas das culturas através de coloração de Gram;
- submeter as culturas que se apresentarem como bastonetes Gram positivos a provas bioquímicas complementares, conforme ANEXO F.

6.8.5 – Pesquisa e identificação de *Nocardia sp*

- após preparo e enriquecimento da amostra em caldo caseína-soja (seção 6.1), transferir uma alçada para placa contendo agar de caseína-soja e semear por esgotamento;
- incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 24 - 48 horas;
- se houver desenvolvimento de colônias pequenas com micélio aéreo, transferi-las para tubos contendo ágar tripticaseína de soja inclinado e incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 24 - 48 horas;
- verificar as características morfológicas das culturas através de coloração de Gram;
- submeter as culturas que se apresentarem como formas cocoides e bacilares, Gram positivas, a provas bioquímicas complementares, conforme ANEXO F.

6.8.6 – Pesquisa e identificação de *Candida sp* e *Cryptococcus neoformans*

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

- após o preparo e enriquecimento da amostra em caldo de caseína-soja(seção 6.1), transferir uma alçada para placa contendo ágar caseína-soja e semear por esgotamento;
- incubar a 32,5°C ±2,5°C durante 5 - 7 dias;
- verificar as características morfológicas das culturas pela observação microscópica em corante azul de algodão lactofenol e seguir a identificação das culturas que apresentarem células redondas, ovaladas e com brotamento, através de provas bioquímicas complementares;
- verificar as características morfotintórias das culturas através de coloração de Gram;
- submeter as culturas que se apresentarem como células Gram positivas, ovaladas e com brotamento, a provas bioquímicas complementares, conforme ANEXO F.

#### 6.8.7 – Pesquisa e identificação de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*

Observar nas placas de ágar Sabouraud-dextrose ou ágar batata dextrose, utilizadas na contagem de fungos (ver POP INCQS n.º 65.3210.010: “Contagem de Viáveis Totais em Produtos Farmacêuticos e Matérias Primas de Uso em sua Fabricação”), o desenvolvimento de colônias grandes com crescimento radial, micélio aéreo de coloração inicialmente branca, tornando-se verde oliva e submetê-las a observações macro e micromorfológicas que identificam os fungos filamentosos.

#### 6.9- Garantia da Qualidade dos Resultados

A Garantia dos Resultados dos ensaios é realizada de acordo com o POP INCQS 65.3210.047

Será feito o controle do meio nas seguintes etapas de incubação: 6.1.1 c, 6.1.2.c, 6.1.3.d, 6.1.4 e, 6.1.5 b, 6.2 b, 6.2 c, 6.3 b, 6.3 e, 6.4 d, 6.4 f, 6.5 c, 6.5 f, 6.6 b, 6.6 c, 6.7.5 c, 6.7.6 b.

#### 6.10- Registro dos resultados

O registro dos resultados do ensaio é feito nos formulários constantes dos anexos D, E, F desse procedimento.

### 7. BIBLIOGRAFIA

CONTAGEM de Viáveis Totais em Produtos Farmacêuticos e Matérias-primas de Uso em sua Fabricação. In : MANUAL da Qualidade . Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. (65.3210.010).

CONTROLE de Água Purificada para Preparo de Meios de Cultura e Soluções. In: MANUAL da Qualidade.Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. Seção 10. (65.3220.013).

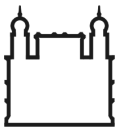
EUROPEAN Pharmacopoeia. 8.0. Strasbourg: Council of Europe, 2014. 2 v.

EUROPEAN Pharmacopoeia. Supplement 8.3. Strasbourg: Council of Europe, 2015.

JORGENSEN, J.H.; PFALLER, MA. (Ed.), Manual of clinical microbiology. 11 ed. Washington D.C., American Society of Microbiology. 2015.

LACZ, C. S., Martins. J.E.C. **Micologia Médica**. 7ed. São Paulo: Savier, 1984. 479p.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



<b>TÍTULO:</b> PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
--	-------------------------------------

MÉTODOS Biológicos. In: FARMACOPÉIA Brasileira. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2002. pt. 2. Fac. 3.

MÉTODOS Biológicos. In: FARMACOPÉIA BRASILEIRA 5 ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

MICROBIOLOGICAL examination of nonsterile products: microbial enumeration tests. United States Pharmacopeial Convention. **The United States pharmacopeia 37**. 37. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2014.

MURRAY. P. R. et al, **Manual of clinical microbiology**. 9 ed. Washington D.C., American Society of Microbiology. p. 291-1056. 2007.

PREPARAÇÃO de materiais para esterilização. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. (65.3220.004).

PROCEDIMENTOS para garantia de resultados de ensaios realizados no departamento de microbiologia. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. (65.3210.047).

SNEATH, P.H. A. et al. **BERGEY'S MANUAL OF SISTEMATIC BACTERIOLOGY**, 2 ed. Baltimore: Williams & Wilkins , 1986

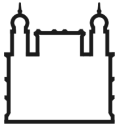
VERIFICAÇÃO da Capacidade Inibitória de Produtos Não-Estéreis do Departamento de Microbiologia. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. (65.3210.009).

WORLD HEALTH ORGANIZATION **Microbial purity of non-compulsory sterile drugs** Genebra: 2011

CÓPIA NÃO CONTROLADA

## 8. ALTERAÇÕES COM RELAÇÃO À REVISÃO ANTERIOR

Nº DO CAPÍTULO	SÍNTESE DA MUDANÇA
-	Exclusão de Hilda Nóbrega como verificadora
5	Item 5.6- Inclusão de solução salina 0,85%
6	Item 6.1.1-alínea b: exclusão de: "Deixar em repouso por cerca de 30 minutos" Item 6.1.4- inclusão da alínea d
Anexos	E- fl 2-inclusão da solução de salina a 0,85%, exclusão de solução para esfregaço F- fl2- alteração de <i>A.baumannii</i> , de <i>S.aureus</i> e <i>P.aeruginosa</i> para <i>B.circulans</i> F-fl3- Alteração de <i>A.baumannii</i> , <i>E.coli</i> e <i>E.cloacae</i> para <i>B.circulans</i> e de <i>P. vulgares</i> por <i>P. Hauseri</i> . F-fl4- exclusão de: Oxidação/Fermentação F-fl5- Alteração de <i>A. xylosoxidans</i> para <i>A. denitrificans</i> F-fl6- Alteração de <i>E. agglomerans</i> para <i>P. agglomerans</i> e de <i>S.aureus</i> e <i>B.subtilis</i> para <i>S.maltophilia</i> e de <i>E.coli</i> para <i>P. aeruginosa</i>



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

F-fl8- Alteração de *E. Sakasakii* para *C. Sakasakii*  
F-fl9- Alteração de *S.epidermidis* para *S. mutans*.

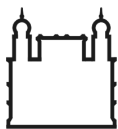
### 9. AVALIAÇÃO DA BIBLIOGRAFIA

A bibliografia foi avaliada e atualizada

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

-----  
/ANEXO A





Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO A

MEIOS DE CULTURA

A.1. Ágar Bismuto Sulfito

Extrato de carne .....	5,0 g
Peptona de caseína por digestão pancreática .....	5,0 g
Peptona de carne por digestão péptica .....	5,0 g
Dextrose .....	5,0 g
Fosfato de sódio .....	4,0 g
Sulfato ferroso .....	300 mg
Indicador bismuto sulfito .....	8,0 g
Verde brilhante .....	25 mg
Ágar .....	20,0 g
Água purificada.....	1000 mL

Aquecer a mistura, com agitação, até a fervura. Transferir para banho termostático a 45-50°C até o meio atingir tal temperatura. Distribuir o volume de 15 – 20 mL por placa de Petri.

pH final: 7,6 ± 0,2 a 25°C

Notas:

- a) não sobreaquecer ou esterilizar o meio;
- b) para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

A.2. Ágar Cetrimide

Peptona de gelatina por digestão pancreática .....	20,0 g
Cloreto de magnésio .....	1,4 g
Sulfato de potássio .....	10,0 g
Brometo de cetil trimetilamônio (cetrimide) .....	0,3 g
Glicerol .....	10,0 mL
Ágar .....	13,6 g
Água purificada.....	1000 mL

Dissolver os componentes sólidos em água purificada, adicionar o glicerol. Aquecer sob agitação até a fervura, mantendo por 1 minuto, para completa dissolução dos ingredientes. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado. Distribuir o volume de 15 – 20 mL por placa de Petri.

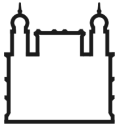
pH final: 7,2 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

-----  
ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA

**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE**NÚMERO**  
**65.3210.008**

## ANEXO A – Cont.

## A.3. Ágar Citrato de Simmons

Fosfato de amônio monobásico .....	1,0 g
Fosfato de potássio dibásico .....	1,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Citrato de sódio .....	2,0 g
Sulfato de magnésio .....	0,2 g
Azul de bromotimol .....	0,08 g
Ágar .....	13,0 g
Água purificada.....	1000mL

Suspender a mistura em água purificada. Distribuir o volume de 3 mL em tubos de ensaio 13 X 100 mm. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Retirar os tubos da autoclave e deixar o meio solidificar em posição inclinada.

pH final: 6,8 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

## A.4. Ágar Desoxirribonuclease

Triptose .....	20,0 g
Ácido desoxirribonucleico .....	2,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Ágar .....	15,0 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Distribuir o volume de 15 – 20 mL por placa de Petri.

pH final: 7,3 ± 0,2 a 25°C

Nota:

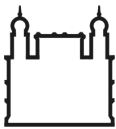
Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

## A.5. Ágar Eosina Azul de Metileno (segundo Levine)

Peptona bacteriológica .....	10,0 g
Fosfato de potássio dibásico.....	2,0 g

-----  
ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO A – Cont.

Lactose .....	10,0 g
Eosina amarela .....	0,4 g
Azul de metileno .....	0,065 g
Ágar .....	13,5 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Distribuir o volume de 15 – 20 mL por placa de Petri.

pH final: 7,0 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

A.6. Caldo Lisina, arginina e ornitina

Peptona bacteriológica .....	5,0g
Extrato de carne.....	5,0g
Púrpura de bromocresol .....	0,1g
Vermelho de cresol.....	0,005
Piridoxal.....	0,005g
D (+) Glicose .....	0,5 g
Água purificada.....	1000 mL

Distribuir o meio pronto em quatro porções iguais.

Adicionar a três delas os aminoácidos (L-lisina , L-arginina e L-ornitina), na concentração final de 1%, deixando uma porção como controle.

Homogeneizar as soluções e distribuir em porções de 3,0 mL em tubos 13 x 100 mm.

Autoclavar a 121° C / 10 minutos.

Estocar em refrigerador (4-10° C)

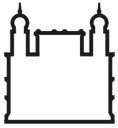
pH final: 6,0± 0,2 a 25°C.

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

-----  
ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA

**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE**NÚMERO**  
**65.3210.008**

## ANEXO A – Cont.

## A.7. Ágar Mac Conkey

Peptona de caseína por digestão pancreática .....	17,0 g
Peptona de carne por digestão péptica .....	3,0 g
Lactose .....	10,0 g
Mistura de sais biliares .....	1,5 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Vermelho neutro .....	0,03 g
Cristal violeta .....	0,001 g
Agar .....	13,5 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada estilada. Esterilizarem autoclave usando ciclo validado. Distribuir o volume de 15 – 20 mL por placa de Petri.

pH final: 7,1 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

## A.8. Ágar para detecção de fluoresceína

Peptona de caseína por digestão pancreática .....	10,0 g
Peptona de carne por digestão péptica.....	10,0 g
Fosfato de potássio dibásico .....	1,5 g
Sulfato de magnésio heptahidratado .....	1,5 g
Glicerina .....	10,0 mL
Ágar .....	15,0 g
Água purificada.....	1000 mL

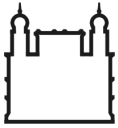
Dissolver todos os componentes sólidos em água antes da adição da glicerina. Aquecer com agitação e ferver por 01 minuto para completa dissolução. Distribuir o volume de 10 mL em tubos de ensaio 18 X 170 mm. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Retirar os tubos da autoclave e deixar o meio solidificar em posição inclinada.

pH final: 7,2 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

-----  
/ANEXO A – Cont.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



<b>TÍTULO:</b> PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE	<b>NÚMERO</b> 65.3210.008
--	------------------------------

ANEXO A – Cont.

A.9. Ágar Tríplice Açúcar-Ferro

Peptona de caseína por digestão pancreática .....	15,0 g
Peptona de carne por digestão péptica .....	5,0 g
Extrato de carne .....	3,0 g
Extrato de levedura .....	3,0 g
Lactose .....	10,0 g
Sacarose .....	10,0 g
D (+) Glicose .....	1,0 g
Citrato férrico de amônio .....	0,5 g
Tiosulfato de sódio .....	0,5 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Vermelho de fenol .....	0,024 g
Ágar .....	12,0 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada, aquecer até completa dissolução. Distribuir o volume de 3 mL em tubos de ensaio 13 X 100 mm. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Retirar os tubos da autoclave e deixar o meio solidificar em posição inclinada.

pH final: 7,4 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

A.10. Ágar Trypticaseína de soja

Peptona de caseína por digestão pancreática .....	15,0 g
Peptona de soja por digestão papaínica .....	5,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Ágar .....	15,0 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada, aquecer até completa dissolução. Distribuir o volume de 3 mL em tubos de ensaio 13 X 100 mm. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.  
. Retirar os tubos da autoclave e deixar o meio solidificar em posição inclinada.

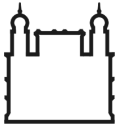
pH final: 7,3 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer a recomendação do fabricante.

ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO A – Cont.

A.11. Ágar Uréia

Peptona bacteriológica .....	1,0 g
D (+) Glicose .....	1,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Fosfato de potássio monobásico .....	2,0 g
Vermelho de fenol .....	0,012 g
Ágar .....	15,0 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Resfriar o meio até 48 ± 2°C e adicionar 50 mL de solução de uréia a 40%, esterilizada por filtração. Homogeneizar. Distribuir o volume de 3 mL em tubos de ensaio 13 X 100 mm e deixar o meio solidificar em posição inclinada.

pH final: 6,8 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

A.12. Ágar Verde Brilhante-Vermelho de Fenol Lactose-Sacarose

Peptona de carne por digestão péptica .....	5,0 g
Peptona de caseína por digestão pancreática .....	5,0 g
Extrato de levedura .....	3,0 g
Lactose .....	10,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Sacarose .....	10,0 g
Vermelho de fenol .....	0,080 g
Verde brilhante .....	0,0125 g
Ágar .....	20,0 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Distribuir o volume de 15 – 20 mL por placa de Petri.

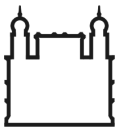
pH final: 6,9 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

-----  
ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

## ANEXO A – Cont.

## A.13. Ágar Vogel - Johnson

Peptona de caseína por digestão pancreática .....	10,0 g
Extrato de levedura .....	5,0 g
Manitol .....	10,0 g
Fosfato dibásico de potássico .....	5,0 g
Cloreto de lítio .....	5,0 g
Glicina.....	10,0 g
Ágar.....	16,0 g
Vermelho de fenol .....	0,025 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada. Esteriliza em autoclave usando ciclo validado. Resfriar a 45 – 50°C. Adicionar 20 mL de solução de telurito de potássio a 1%, esterilizada por filtração, para cada 100 mL de meio. Distribuir o volume de 15 – 20 mL por placa de Petri.

pH final: 7,2 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

## A.14. Ágar Xilose-Lisina Desoxicolato

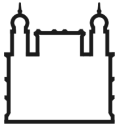
D (+) Xilose .....	3,5 g
L (+) Lisina .....	5,0 g
Lactose .....	7,5 g
Sacarose .....	7,5 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Extrato de levedura.....	3,0 g
Vermelho de fenol .....	0,08 g
Desoxicolato de sódio .....	2,5 g
Tiosulfato de sódio .....	6,8 g
Citrato férrico amoniacal .....	0,8 g
Ágar .....	13,5 g
Água purificada estéril .....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada estéril, aquecer até completa dissolução. Resfriar imediatamente em banho termostático a temperatura de 47 – 50°C. Distribuir o volume de 15 – 20 mL por placa de Petri.

pH final: 7,4 ± 0,2 a 25°C

-----  
/ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

## ANEXO A – Cont.

## Notas:

- a) não esterilizar o meio;  
c) para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer a recomendação do fabricante.

## A.15. caldo para Clostridium

## Meio Reforçado para Clostridium

estrato de carne .....	10.0g
peptona.....	10.0g
extrato de levedura.....	3.0g
amido solúvel.....	1.0g
glicose monohidratada.....	5.0g
hidrocloridrato de cisteína.....	0.5g
cloreto de sódio.....	5.0g
acetato de sódio.....	3.0g
agar.....	0.5g
água purificada.....	1000mL

Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

pH final: 6,8 ± 0,2 a 25°C

## A.16. Ágar Columbia

digestão pancreática de caseína.....	10.0g
peptona de carne por digestão pancreática.....	5.0g
peptona de coração por digestão peptídica.....	3.0g
extrato de levedura.....	5.0g
amido de milho.....	1.0g
cloreto de sódio .....	5.0g
Agar.....	10.0-15.0g

pH final: 7,3± 0,2 a 25°C

Dissolver o ágar aquecendo até ebulição, agitando constantemente. Esterilizar em autoclave usando ciclo Validado. Esfriar a 45 - 50°C e adicionar se necessário, sulfato de gentamicina, correspondente a 20mg de gentamicina base, verter em placas de Petri.

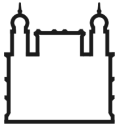
A.17- Agar Semi Sólido H<sub>2</sub>S, Indol e Mobilidade (SIM)

digestão pancreática de caseína.....	20.0g
Digéptico Péptico de tecido animal(extrato de carne).....	6,1 g
Sulfato ferroso de amônio.....	0,2 g
Tiosulfato de sódio.....	0,2g
Agar .....	3,5g

/ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA





Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



<b>TÍTULO:</b> PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
--	-------------------------------------

ANEXO A – Cont.

Reidratar e adicionar 6 ml de meio por tubo de 16 x 125 mm com tampa de rosca. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.  
pH final, 7,3 ± 0,2.

A. 18 Agar Sal Manitol

Hidrolisado pancreático de caseína.....	5,0 g
Peptona péptica de tecido animal.....	5,0 g
Extrato de carne.....	1,0 g
D-manitol .....	10,0 g
Cloreto de sódio.....	75,0 g
Agar .....	15,0 g
Vermelho fenol .....	0,025 g
Água purificada.....	1000 mL

Ferver 1 minuto com constante agitação. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

pH final, 7,4 ± 0,2.

A. 19. Caldo Caseína-Soja

Peptona de caseína por digestão pancreática.....	17,0 g
Peptona de soja por digestão papaínica .....	3,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Fosfato de potássio dibásico .....	2,5 g
D (+) Glicose .....	2,5 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada, homogeneizar até completa dissolução. Distribuir o volume de 90 mL em erlenmeyers de 250 mL. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

pH final: 7,3 ± 0,2 a 25°C

Nota:

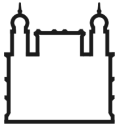
Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

A. 20. Caldo Infusão de Cérebro e Coração

Infusão de cérebro de novilho .....	200 g
Infusão de coração de boi .....	250 g
Peptona de caseína por digestão pancreática .....	5,0 g
Peptona de carne por digestão péptica .....	5,0 g
D (+) Glicose.....	2,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Fosfato de sódio dibásico .....	2,5 g
Água purificada.....	1000 mL

-----  
/ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO A – Cont.

Suspender a mistura em água purificada, homogeneizar até completa dissolução. Distribuir o volume de 3 mL em tubos de ensaio 13 X 100 mm. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

pH final: 7,4 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

A. 21. Caldo Lactosado

Peptona bacteriológica .....	5,0 g
Extrato de carne .....	3,0 g
Lactose .....	5,0 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada, homogeneizar até completa dissolução. Distribuir o volume de 90 mL em erlenmeyers de 250 mL. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

pH final: 6,9 ± 0,2 a 25°C

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

A.22.Caldo Nitrato

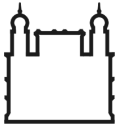
Extrato de carne.....	3,0g
Peptona.....	5,0g
Nitrato de potássio.....	1,0g
Água purificada.....	1000mL

Ajustar o pH a 7,0 ± 0,2 a 25°C.

Distribuir em porções de 5,0 mL em tubo de 16 x 150 mm.

-----  
/ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b> PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
--	-------------------------------------

## ANEXO A – Cont.

Introduzir o tubo de Durhan estéril em posição invertida.  
 Autoclavar a 121° C por 15 minutos.  
 Estocar em refrigerador(4-10° C).

## A.23. Caldo Selenito-Cistina

Peptona de caseína por digestão pancreática .....	5,0 g
L-Cistina .....	0,01 g
Lactose .....	4,0 g
Fosfato de sódio dibásico .....	10,0 g
Selenito ácido de sódio.....	4,0 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender a mistura em água purificada. Para dissolução completa aquecer rapidamente a temperatura máxima de 60°C. Distribuir o volume de 10 mL em tubos de ensaio 16 X 150 mm. Usar imediatamente.

pH final: 7,0 ± 0,2 a 25°C

- a) não esterilizar o meio;
- b) o meio preparado é claro e amarelado;
- c) para estocar o meio, esterilizar por filtração;
- d) para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

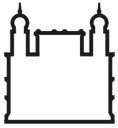
## A.24. Caldo Tetrionato

Peptona de caseína por digestão pancreática .....	2,5 g
Peptona de carne por digestão péptica .....	2,5 g
Sais biliares .....	1,0 g
Carbonato de cálcio .....	10,0 g
Tiosulfato de sódio .....	30,0 g
Água purificada.....	1000 mL

Suspender os ingredientes em água purificada. Aquecer rapidamente para dissolução dos ingredientes e resfriar rapidamente. Distribuir o volume de 10 mL em tubos de ensaio 16 X 150 mm. Usar imediatamente.

- a) não esterilizar o meio;
- b) o meio preparado é turvo com sedimento branco de carbonato de cálcio;
- c) para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer a recomendação do fabricante;
- d) no momento do uso, adicionar para cada 10 mL de meio, 0,2 mL de solução de iodo-iodeto de potássio e 0,1 mL de solução de verde brilhante. Não aquecer o meio após a adição das soluções.
  - Solução de iodo-iodeto de potássio

-----  
 /ANEXO A – Cont.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO A – Cont.

Iodeto de potássio .....5,0 g  
 Iodo ressublimado .....6,0 g  
 Água purificada estéril .....20 mL

Dissolver o iodeto de potássio em 5 mL de água purificada estéril. Adicionar o iodo e homogeneizar. Diluir para 20 mL.

- Solução de verde brilhante

Corante verde brilhante .....0,1 g  
 Água purificada estéril .....100 mL

A.25. Caldo Indol

Triptona (peptona de caseína por digestão triptica) .....10,0 g  
 Água purificada.....1000 mL

Suspender a mistura em água purificada, homogeneizar até completa dissolução. Distribuir o volume de 3 mL em tubos de ensaio 13 X 100 mm. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

pH final: 7,2 ± 0,2 a 25°C

Nota:

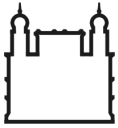
Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

A.26. Caldo para Fermentação de Açúcares

Peptona.....10g  
 Extrato de carne.....3,0g  
 Cloreto de sódio.....5,0g  
 Indicador de Andrade.....10mL  
 Água purificada.....1000mL

-----  
/ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO A – Cont.

Ajustar o pH para  $7,1 \pm 0,1$ .  
Distribuir em erlenmeyer ou balão o volume desejado.  
Autoclavar a  $121^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos.

Indicador de Andrade

Fucsina ácida.....0,5g  
Hidróxido de sódio 1N.....16mL  
Água purificada.....100mL

Dissolver a fucsina em água purificada.  
Adicionar o hidróxido de sódio.  
Deixar a temperatura ambiente por 24 horas em agitação freqüente.

Solução de Açúcar

Preparar solução a 10% de do açúcar.  
Esterilizar por filtração.  
Incorporar a solução de açúcar ao meio básico, de modo a se obter uma concentração final de 1% (para salicina 0,5%).  
Distribuir assepticamente em porções de 3 mL em tubos 13 x 100 mm e 10 mL em tubos 18 x 170 mm e, neste caso, introduzir um tubo de Durham na posição invertida para visualização da formação de gás.  
pH final:  $7,1 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

A.27. Caldo Vermelho de Metila - Voges Proskauer

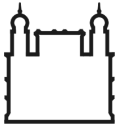
Peptona bacteriológica .....7,0 g  
D (+) Glicose .....5,0 g  
Fosfato de potássio dibásico .....5,0 g  
Água purificada .....1000 mL

Suspender a mistura em água purificada, homogeneizar até completa dissolução. Distribuir o volume de 3 mL em tubos de ensaio 13 X 100 mm. Esterilizar a  $121^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos.

pH final:  $6,9 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$

-----  
/ANEXO A – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO A – Cont.

Nota:

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

A.28. Caldo Mac Conkey

Hidrolisado Pancreático de gelatina.....	20,0 g
Lactose monoidratada.....	10,0 g
Bile de boi desidratada .....	5,0 g
Púrpura de bromocresol.....	10,0mg
Água purificada.....	1000 mL

Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

pH final: 7,3 ± 0,2 a 25°C

O resultado da esterilidade e da viabilidade dos meios de cultura deve ser registrado no Anexo C- Esterilidade e Viabilidade dos Meios de Cultura deste POP.

A.29 - Caldo Enriquecimento *Salmonella* Rappaport Vassiliadis

Peptona de soja.....	4,5g
Cloreto de magnésio hexaidratado.....	29,0g
Cloreto de sódio.....	8,0g
Fosfato de Potássio dibásico.....	0,4g
Fosfato de Potássio monobásico.....	0,6g
Verde Malaquita.....	36,0mg
Água purificada.....	1000mL

pH final 5,2 ± 0,2 a 25 °C. Esterilizar por 15 minutos a 115°C

A.30- Ágar Sabouraud-dextrose – 4%

Dextrose .....	40 g
Mistura de partes iguais de caseína tratada por suco pancreático e digesto péptico de tecido animal .....	10 g
Ágar .....	15 g
Água purificada.....	1000 mL

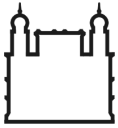
Suspender a mistura em 1 litro de água purificada. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

pH final: 5,6 ± 0,2 a 25°C

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer à recomendação do fabricante.

-----  
/ANEXO B

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE

**NÚMERO**  
**65.3210.008**

ANEXO B

REAGENTES E SOLUÇÕES

B. 1. Reagente de Kovacs ou Ehrlich:

Kovacs

p - Dimetilaminobenzaldeído .....5 g  
Álcool amílico (normal) .....75 mL  
Ácido clorídrico (concentrado) .....25 mL

Dissolver o p-dimetilaminobenzaldeído em álcool amílico normal.  
Adicionar o ácido clorídrico vagarosamente. Estocar a 4°C.

Ehrlich

p - Dimetilaminobenzaldeído .....5 g  
Etanol,95% .....95 mL  
Ácido clorídrico (concentrado) .....25 mL

B.2. Reagente para o teste de oxidase

N,N - Dimetil - p - fenilenodiamina 2HCL.....1 g  
Água purificada .....100 mL

Este reagente pode ser usado no período de até 7 dias se for estocado em frasco escuro sob refrigeração.

B. 3. Reagente para o teste de vermelho de metila

Vermelho de metila .....0,10 g  
Etanol 95% .....300 mL  
Água purificada.....500 mL

Dissolver o vermelho de metila em 300 mL de etanol. Completar o volume para 500 mL com água purificada.

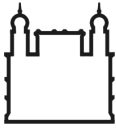
B.4. Reagentes para o teste de Voges-Proskauer

• Solução 1

Alfa-naftol .....5 g  
Álcool (absoluto) .....100 mL

-----  
/ANEXO B – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b> PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
--	-------------------------------------

## ANEXO B – Cont.

## • Solução 2

Hidróxido de potássio ..... 40 g  
 Água purificada..... 100 mL

## B.5. Corante Azul Algodão Lactofenol

Fenol ..... 20,00 mL  
 Ácido láctico ..... 20,0 mL  
 Glicerol ..... 40,0 mL  
 Água purificada ..... 20,0 mL  
 Azul algodão ..... 0,05 g

## B.6. Reagentes para Nitrato (GREISS-ILOSVOY)

Reagente A : $\alpha$ -Naftilamina 0,5% ou Dimetil-L-Naftilamina a 0,6%

$\alpha$ -Naftilamina.....5,0g  
 ( ou N,N-Dimetil-L-Naftilamina).....6,0g  
 Ácido acético (5N) 30%.....1000mL

Dissolver o reagente em um volume menor que 1000 mL de ácido acético 5N, aquecendo levemente.  
 Transferir a solução para frasco volumétrico de 1000 mL e acrescentar solução de ácido acético 5N até completar 1000 mL.

Filtrar a solução através de algodão absorvente lavado.  
 Estocar em frasco fechado e escuro.

Reagente B : Ácido Sulfanílico a 0,8%

Ácido sulfanílico.....8g  
 Ácido acético (5N) 30%.....1000mL

Dissolver o ácido sulfanílico em um volume menor que 1000 mL de ácido acético 5N.  
 Transferir a solução para frasco volumétrico de 1000 mL e acrescentar solução de ácido acético 5N até completar 1000 mL.

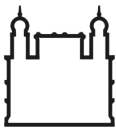
Estocar em frasco fechado e escuro.

Solução salina 0,85% - pH 7.2

-----  
ANEXO C

CÓPIA NÃO CONTROLADA





Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

**ANEXO C**  
**ESTERILIDADE E VIABILIDADE DOS MEIOS DE CULTURA**



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



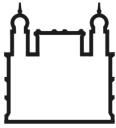
**ESTERILIDADE E VIABILIDADE DOS MEIOS DE CULTURA**  
**SETOR DE PRODUTOS NÃO-ESTÉREIS**

<b>MEIO DE CULTURA:</b>		
<b>CADASTRO/LOTE:</b>		
<b>ESTERILIDADE</b>		
<b>INCUBAÇÃO</b>		
<b>ESTUFA:</b>		<b>TERMÔMETRO DEDICADO À ESTUFA:</b>
<b>DATA:</b> / /		<b>ANALISTA:</b>
<b>RESULTADO:</b>		
<b>OBSERVAÇÃO:</b>		
<b>VIABILIDADE</b>		
<b>CEPA:</b>	<b>ATCC:</b>	<b>INCQS:</b>
<b>CRIO TUBO:</b>	<b>LOTE:</b>	
<b>INOCULAÇÃO:</b>		
<b>FLUXO LAMINAR:</b>		
<b>ESTUFA:</b>		<b>TERMÔMETRO DEDICADO À ESTUFA:</b>
<b>DATA:</b> / /		<b>ANALISTA:</b>
<b>RESULTADO:</b>		<b>DATA DO TÉRMINO:</b>
<b>OBSERVAÇÃO:</b>		

POP 65.3210.008- Anexo C - Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: 542

-----  
/ANEXO D

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

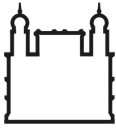
ANEXO D

PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO

 Ministério da Saúde <b>FIOCRUZ</b> Fundação Oswaldo Cruz Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	 <b>INCQS</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO</b>
<p>N° amostra: _____</p>		
Pesquisa de <i>S. aureus</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
Pesquisa de <i>P. aeruginosa</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
Pesquisa de <i>Coliforme total</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
Pesquisa de <i>anaeróbios</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
Pesquisa de <i>E. coli</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
Pesquisa de <i>Salmonella sp</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 10mL <input type="checkbox"/> presença em 10g	<input type="checkbox"/> ausência em 10mL <input type="checkbox"/> ausência em 10g
Pesquisa de <i>Clostridium</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<b>Pesquisa de microrganismos. (segundo via de administração)</b> <b>VIA NASAL OU RESPIRATORIA</b>		
<i>Enterobacter sp</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Serratia marcescens</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Klebsiella sp</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Candida albicans</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Proteus sp</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Acinetobacter sp</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Burkholderia cepacea</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Pseudomonas stutzeri</i> Resultado:	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<small>POP 65.3510.008 – Anexo D – I.I.1 - Rev. 15          CLASSIFICAÇÃO: 542</small>		

CÓPIA NÃO CONTROLADA

-----  
 /ANEXO D – Cont.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE

**NÚMERO**  
**65.3210.008**

ANEXO D – Cont.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



**PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO**

N° amostra:

**VIA TÓPICA**

*Serratia marcescens*

presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

*Klebsiella sp*

presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

*Burkholderia cepacea*

presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

*Stenotrophomonas maltophilia*

presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

*Pseudomonas stutzeri*

presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

*Streptococcus sp, grupo B*

presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

**VIA ORAL (Sólidos ou líquidos)**

*Bacillus cereus*

presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

*Enterobacter sp*

presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

*Aspergillus flavus*

presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

*Candida albicans*

presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

*Aspergillus parasiticus*

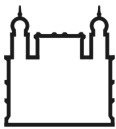
presença em 1mL  
 presença em 1g

ausência em 1mL  
 ausência em 1g

POP 65.3210.008 – Anexo D – II,2 – Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: 542

-----  
/ANEXO D – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde


**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**




<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO D – Cont.



Ministério da Saúde  
**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO**

Nº amostra:

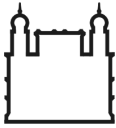
**VIA INTRA-MAMÁRIA**

<i>Staphylococcus sp</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Streptococcus sp, grupo B</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Bacillus cereus</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Serratia marcescens</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Klebsiella sp</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Mycoplasma sp</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Enterobacter sp</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Pseudomonas sp</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Citrobacter sp</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Nocardia sp</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Proteus sp</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g
<i>Cândida sp</i>	<input type="checkbox"/> presença em 1mL <input type="checkbox"/> presença em 1g	<input type="checkbox"/> ausência em 1mL <input type="checkbox"/> ausência em 1g

POP 65.3210.008 – Anexo D-Fl.3 – Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: 542

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

-----  
/ANEXO E



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE

**NÚMERO**  
**65.3210.008**

**ANEXO E**

**MEIOS DE CULTURA, SOLUÇÕES, MICROORGANISMOS DE REFERENCIA, VIDRARIA E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NOS ENSAIOS DO POP 65.3210.008**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



**MEIOS DE CULTURA, SOLUÇÕES, MICROORGANISMOS DE REFERENCIA, VIDRARIA E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NOS ENSAIOS DO POP 65.3210.008**

**PRODUTO:** \_\_\_\_\_  
**AMOSTRA:** \_\_\_\_\_ **LOTE:** \_\_\_\_\_

MICROORGANISMOS DE REFERÊNCIA	X	LOTE
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538		
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228		
<i>Salmonella</i> sp. ATCC 14028		
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437		
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404		
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		

MEIOS DE CULTURA	X	LOTE
Agar caseína-soja		
Agar MacConkey		
Agar Cetrimide		
Agar Columbia		
Agar Vogel-Johnson		
Agar Sal Manitol		
Agar Xilose-Lisina Desoxicolato (XLD)		
Agar Bismuto Sulfito		
Agar Verde Brilhante-Vermelho de Fenol-Lactose-Sacarose(BPLS)		
Agar Eosina Azul de Metileno/Levine		
Agar Citrato de Simmons		
Agar Desoxirribonuclease		
Agar para detecção de Fluoresceína		
Agar Tríplice Açúcar Ferro		
Agar Sabouraud		
Agar Ureia		
Caldo Caseína Soja 0,5% Lecitina de Soja e 0,4% de Tween 80		
Caldo Caseína-Soja		
Caldo Lactosado		
Caldo Selenito-Cistina		
Caldo Tetrationato		
Caldo Lisina, Arginina e Ornitina		
Caldo Infusão de Cérebro e Coração		
Caldo Triptona		
Caldo para Fermentação de Açúcares		
Caldo Vermelho de Metila Vogues Proskauer		
Caldo Nitrato		
Caldo Reforço para Clostridium		
Caldo MacConkey		
Caldo Rappaport Vassiliadis		
Outros:		

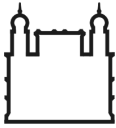
**OBS:**

\_\_\_\_\_

POP 65.3210.008- Anexo E - I.I.1- Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: 542

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

-----  
/ANEXO E – Cont.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE

**NÚMERO**  
**65.3210.008**

ANEXO E – Cont.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



MEIOS DE CULTURA, SOLUÇÕES, MICROORGANISMOS DE REFERENCIA, VIDRARIA E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NOS ENSAIOS DO POP 65.3210.008

PRODUTO: \_\_\_\_\_  
AMOSTRA: \_\_\_\_\_, LOTE: \_\_\_\_\_

SOLUÇÕES	X	LOTE
Reagente de Kovaks		
Reagente para Teste de Oxidase		
Reagente para Teste de Vermelho de Metila		
Reagente para o Teste de Vogues Proskauer – solução 1		
Reagente para o Teste de Vogues Proskauer – solução 2		
Corante Azul Algodão Lactofenol		
Reagente para Nitrato A		
Reagente para Nitrato B		
Solução salina a 0,85%		
Solução de Cristal Violeta		
Solução de Lugol		
Solução de Álcool Acetona		
Solução de Safranina		
Solução de Fuccina		
Clorofórmio		
Óleo Mineral Estéril		
Plasma de Coelho ou Cavalo com EDTA		
Polissorbato 80 estéril		
Solução de Ácido Clorídrico 1N		
Solução de Peróxido de Hidrogênio a 30%		
Solução de cloreto de magnésio		
Solução verde malaquita oxalato		

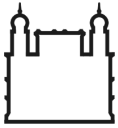
ITENS DE ENSAIO	X	CICLO DE ESTERILIZAÇÃO / LOTE
Pipeta de 1mL		
Pipeta de 2mL		
Pipeta de 10mL		
Erlenmeyer de 250mL		
Erlenmeyer de 500mL		
Tubo de ensaio 18x180		
Placa de petri		
Proveta de 100 mL		
Gaze		
Luvas		
Outros		
Outros		

EQUIPAMENTOS	X	IDENTIFICAÇÃO
Banho termostático/Termômetro		
Incubadora/Termômetro		
Estufa Bacteriológica/Termômetro		
Balança		
Microscópio		
Fluxo Laminar		

POP 65..3210.008-- Anexo E -II.2- Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: 542

-----  
/ANEXO F

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



**TÍTULO:**

**PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE**

**NÚMERO**  
**65.3210.008**

**ANEXO F**

**PROVAS BIOQUÍMICAS COMPLEMENTARES**



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**BIOQUÍMICA COMPLEMENTAR**  
**Bastonetes Gram Positivos**

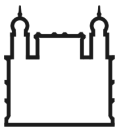
PROVAS	AMOSTRA	BRANCO	CONT.POSITIVO	CONT.NEGATIVO
Mobilidade			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo:	<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo:
Corpo paraesporal			<i>B. thuringiensis</i> Lote: Criotubo:	<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo:
Catalase			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>Streptococcus sp.</i> Lote: Criotubo:
VP			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:
VP pH <6			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
VP pH >7			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. brevis</i> Lote: Criotubo:

Cont=controle

POP 65.3210.008 – Anexo F – II.1 – Rev.15  
CLASSIFICAÇÃO: 542

-----  
/ANEXO F – Cont.

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**TÍTULO:**

**PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE**

**NÚMERO**  
**65.3210.008**

ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**PROVAS BIOQUÍMICAS COMPLEMENTARES**

**Bastonetes Gram Positivos**

PROVAS	AMOSTRA	BRANCO	CONT.POSITIVO	CONT.NEGATIVO
<b>Acidificação</b>				
<b>Carboidratos:</b>				
D-glicose			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo:	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
L-arabinose			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. cereus</i> Lote: Criotubo:
D-xilose			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. cereus</i> Lote: Criotubo:
D-manitol			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. cereus</i> Lote: Criotubo:
Caseína (milk)			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
Gelatina			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
Amido			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
Tirosina			<i>B. cereus</i> Lote: Criotubo:	<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo:

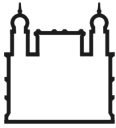
Cont=controle

POP 65.3210.008 – Anexo F – IL2 – Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: S42

CÓPIA NÃO CONTROLADA

-----  
/ANEXO F – Cont.





Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



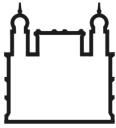
<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO F – Cont.

	Ministério da Saúde <b>FIOCRUZ</b> Fundação Oswaldo Cruz Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde			
<b>PROVAS BIOQUÍMICAS COMPLEMENTARES</b> Bastonetes Gram Positivos				
PROVAS	AMOSTRA	BRANCO	CONT.POSITIVO	CONT.NEGATIVO
<b>Utilização:</b>				
Citrato de Koser			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo:	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
Fenilalanina			<i>P. hauseri</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo
Nitrato			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo:	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
Indol			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo:
Egg-yolk (lecitinase)			<i>B. cereus</i> Lote: Criotubo:	<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo:
Cresc. caldo nutriente pH 6.8			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo:	<i>C. albicans</i> Lote: Criotubo
<b>Cresc. NaCl</b>				
2%			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
5%			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
7%			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
10%			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
Caldo lysozima			<i>B. cereus</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
Cresc. 50°C			<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>B. circulans</i> Lote: Criotubo:
Cresc. 55°C			<i>B. stearothermophilus</i> Lote: Criotubo	<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo:
<small>Cont=controle</small>				
<small>POP 65.3210.008 – Anexo F – II.3 – Rev. 15 CLASSIFICAÇÃO: 542</small>				

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

-----  
/ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde

**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE

**NÚMERO**  
**65.3210.008**

ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde

**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**PROVAS BIOQUÍMICAS COMPLEMENTARES**

Não Fermentador da Glicose

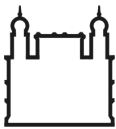
PROVAS	AMOSTRA	BRANCO	CONT.POSITIVO	CONT.NEGATIVO
Mac Conkey			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo	<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo:
Catalase			<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo	<i>S. epidermidis</i> Lote: Criotubo:
Oxidase			<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:
H <sub>2</sub> S			<i>Salmonella</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:
Indol			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo	<i>Salmonella</i> Lote: Criotubo
Mobilidade			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo	<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo
Pigmento			<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:
Piocianina			<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:
Glicose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>A. baumannii</i> Lote: Criotubo:
Xilose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>A. baumannii</i> Lote: Criotubo:

Cont=controle

POP 65.3210.008 – Anexo F – II.4 – Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: 542

-----  
/ANEXO F – Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE

**NÚMERO**  
**65.3210.008**

ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**PROVAS BIOQUÍMICAS COMPLEMENTARES**

Não Fermentador da Glicose

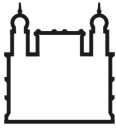
PROVAS	AMOSTRA	BRANCO	CONT.POSITIVO	CONT.NEGATIVO
Manitol			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>B.cereus</i> Lote: Criotubo:
Lactose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>M.morganii</i> Lote: Criotubo:
Sacarose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>M.morganii</i> Lote: Criotubo:
Maltose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>B.diminuta</i> Lote: Criotubo:
Trealose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>S.epidermidis</i> Lote: Criotubo:
Frutose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>B.diminuta</i> Lote: Criotubo:
Galactose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>B.diminuta</i> Lote: Criotubo:
Manose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>B.diminuta</i> Lote: Criotubo:
Ramminose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>B.diminuta</i> Lote: Criotubo:
Esculina			<i>S. maltophilia</i> Lote: Criotubo	<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo
Cresc. 6% nacl			<i>A. denitrificans</i> Lote: Criotubo	<i>B.diminuta</i> Lote: Criotubo
Cresc. 6.5% nacl			<i>P. stutzeri</i> Lote: Criotubo	<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo

Cont=controle

POP 65.3210.008 – Anexo F – II.5 – Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: 542

CÓPIA NÃO CONTROLADA

-----  
/ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE

**NÚMERO**  
**65.3210.008**

ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



PROVAS BIOQUÍMICAS COMPLEMENTARES (CONTINUAÇÃO)

Não Fermentador da Glicose

PROVAS	AMOSTRA	BRANCO	CONT.POSITIVO	CONT.NEGATIVO
Cetrimide			<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo	<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo
Ureia			<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo
Nitrato			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>S.epidermidis</i> Lote: Criotubo:
Cresc. 42±1°C			<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo	<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo
Lisina			<i>S. maltophilia</i> Lote: Criotubo	<i>P. agglomerans</i> Lote: Criotubo
Arginina			<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo	<i>S. epidermidis</i> Lote: Criotubo
Ornitina			<i>P. mirabilis</i> Lote: Criotubo	<i>P. agglomerans</i> Lote: Criotubo
DNase			<i>S. maltophilia</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:
Amido			<i>S. maltophilia</i> Lote: Criotubo	<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo:
Gelatina			<i>S. maltophilia</i> Lote: Criotubo	<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo:
VM			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo	<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo:
VP			<i>E. cloacae</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:
Citrato de Simmons			<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:
Agar Tween 80			<i>S. maltophilia</i> Lote: Criotubo	<i>Pseudomonas sp.</i> Lote: Criotubo:
Esculina			<i>S. maltophilia</i> Lote: Criotubo	<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo:

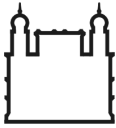
Controle

Resultado:

POP 65.3210.008 – Anexo F – IL6 – Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: S42

CÓPIA NÃO CONTROLADA

-----  
/ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde


**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde




<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde  
**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**INCQS**

**PROVAS BIOQUÍMICAS COMPLEMENTARES**  
Fermentador da Glicose

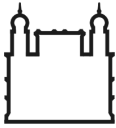
PROVAS	AMOSTRA	BRANCO	CONT.POSITIVO	CONT.NEGATIVO
<b>Oxidação/Fermentação</b>				
Glicose			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>B. diminuta</i> Lote: Criotubo:
Oxidase			<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo
VM			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo	<i>S. maltophilia</i> Lote: Criotubo:
VP			<i>E. cloacae</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:
MAC CONKEY			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo
EMB			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>Salmonella</i> Lote: Criotubo
H2S			<i>Salmonella</i> Lote: Criotubo:	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo
Índol			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo	<i>Salmonella</i> Lote: Criotubo
Mobilidade			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo	<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo
Citrato de Simmons			<i>E. cloacae</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo
Nitrato			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo	<i>Salmonella</i> Lote: Criotubo

Cont=controle

POP 65.3210.008 – Anexo F – IL7 – Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: 542

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

-----  
/ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde

**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



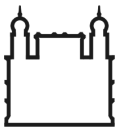
<b>TÍTULO:</b>	<b>PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3210.008</b>
----------------	--	-------------------------------------

ANEXO F – Cont.

	Ministério da Saúde <b>FIUCRUZ</b> Fundação Oswaldo Cruz Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde			
<b>PROVAS BIOQUÍMICAS COMPLEMENTARES (CONTINUAÇÃO)</b>				
<b>Fermentador da Glicose</b>				
PROVAS	AMOSTRA	BRANCO	CONT.POSITIVO	CONT.NEGATIVO
D-Adonitol			<i>E. aerogenes</i> Lote: Criotubo	<i>C. Sakasakii</i> Lote: Criotubo
D-Sacarose			<i>E. cloacae</i> Lote: Criotubo	<i>M. morganii</i> Lote: Criotubo
Gás/Glicose			<i>E. aerogenes</i> Lote: Criotubo	<i>B. subtilis</i> Lote: Criotubo
Lisina			<i>S. maltophilia</i> Lote: Criotubo	<i>E. cloacae</i> Lote: Criotubo
Ornitina			<i>P. mirabilis</i> Lote: Criotubo	<i>E. Agglomerans</i> Lote: Criotubo
Arginina			<i>C. Sakasakii</i> Lote: Criotubo	<i>M. morganii</i> Lote: Criotubo
DNase			<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo
Fenilalanina			<i>P. mirabilis</i> Lote: Criotubo	<i>E. cloacae</i> Lote: Criotubo
Ureia			<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo
Sorologia			<i>Salmonella</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo
Cont=controle				
POP 65.3210.008 – Anexo F – II.8 – Rev. 15 CLASSIFICAÇÃO: 542				

CÓPIA NÃO CONTROLADA

-----  
/ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde

**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**TÍTULO:** PESQUISA DE PATÓGENOS EM PRODUTOS NÃO ESTÉREIS E MATÉRIAS-PRIMAS DE USO EM SUA FABRICAÇÃO E ÁGUA PARA DIÁLISE

**NÚMERO**  
**65.3210.008**

ANEXO F – Cont.



Ministério da Saúde

**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**PROVAS BIOQUÍMICAS COMPLEMENTARES**

**Cocos Gram Positivos**

PROVAS	AMOSTRA	BRANCO	CONT.POSITIVO	CONT.NEGATIVO
Coagulase			<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo:	<i>S. epidermidis</i> Lote: Criotubo:
Catalase			<i>B subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>S. mutans</i> Lote: Criotubo:
Mobilidade			<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:	<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo:
VP			<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo:
Pigmento			<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo:	<i>S. epidermidis</i> Lote: Criotubo:
Hemólise Alfa Beta Nenhuma			<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo:	<i>S. epidermidis</i> Lote: Criotubo:
Nitrato			<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo:	<i>B. diminuta</i> Lote: Criotubo:
Ureia			<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo	<i>E. coli</i> Lote: Criotubo
Arginina			<i>S. aureus</i> Lote: Criotubo	<i>M. morgani</i> Lote: Criotubo
Bile esculina			<i>E. faecalis</i> Lote: Criotubo	<i>S. mutans</i> Lote: Criotubo
Esculina			<i>S. maltophilia</i> Lote: Criotubo	<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo:
Amido			<i>B subtilis</i> Lote: Criotubo	<i>P. aeruginosa</i> Lote: Criotubo:

Cont=controle

POP 65.3210.008 – Anexo F – II. 9 – Rev. 15  
CLASSIFICAÇÃO: 542

CÓPIA NÃO CONTROLADA

## ANEXO C

Procedimento Operacional Padronizado, nº 65.3330.010 rev. 13, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Ensaio de citotoxicidade *in vitro*- método de difusão em agar





## PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO

**TÍTULO:** ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR

**NÚMERO**  
65.3330.010

**PALAVRAS-CHAVE**

TOXICIDADE IN VITRO - CÉLULAS L929 - PLÁSTICO

**REVISÃO**

13

**SEÇÃO DO MANUAL**

4.3

**ELABORADO**

Helena Zamith

**VERIFICADO**

Mirian Vidal

**APROVADO**

Karen Friedrich

**REFERENDADO**

Eduardo C. Leal

**DATA**

28/11/2014

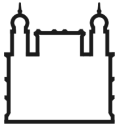
### SUMÁRIO

1. Objetivo
2. Campo de aplicação
3. Histórico
4. Definições
5. Siglas
6. Condições gerais
7. Condições específicas
8. Garantia da Qualidade dos Resultados
9. Bibliografia
10. Alterações com relação à revisão anterior
11. Avaliação da bibliografia
12. Anexos
  - A. Ensaio de Citotoxicidade "In Vitro" – Método de Difusão em Agar
  - B. Resultados do Ensaio de Citotoxicidade "In Vitro" - Método de Difusão em Agar
  - C. Planilha de cálculos do Ensaio de Citotoxicidade "In Vitro" – Método de Difusão em Agar
  - D. Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares

### 1. OBJETIVO

Este Procedimento Operacional Padronizado (POP) tem por finalidade a descrição dos procedimentos experimentais a serem adotados na execução do ensaio de toxicidade "in vitro" em células de mamífero, empregando o método de difusão em agar.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

## 2. CAMPO DE APLICAÇÃO

2.1 – Este POP aplica-se à avaliação de segurança de materiais plásticos, elastômeros e de outros polímeros empregados na fabricação de dispositivos e acessórios de uso médico e hospitalar em contato direto ou indireto com o tecido humano, tais como:

- a) bolsas para sangue;
- b) frascos para soluções parenterais;
- c) equipos para administração de soluções;
- d) cateteres intravenosos;
- e) implantes;
- f) tubos e acessórios para oxigenador corporal;
- g) tubos e acessórios para dialisador;
- h) válvulas cardíacas;
- i) enxertos vasculares;
- j) equipos para transfusão e infusão;
- k) fraldas descartáveis.

2.2 – Aplica-se também na etapa de “screening” biológico de novos polímeros e elastômeros durante o desenvolvimento industrial de produtos. Nesse contexto, é importante a detecção de efeitos sobre a biocompatibilidade decorrentes de mudanças em componentes da formulação em processos de fabricação e de esterilização.

## 3. HISTÓRICO

O emprego de ensaios em cultura de células de mamífero para avaliação biológica de dispositivos médicos foi inicialmente descrito em 1965 por Rosenbluth et al. Métodos adicionais foram publicados por Guess *et al.* no mesmo ano. Northup em 1986 revendo essas e outras subseqüentes publicações enfatizou a sensibilidade e a correlação dos ensaios em culturas de células em relação aos ensaios de reatividade biológica “in vivo” para a avaliação biológica de plásticos.

A partir da 22ª Revisão da Farmacopéia Americana, o ensaio de difusão em agar foi introduzido como teste de reatividade biológica “in vitro” para a avaliação de segurança de materiais plásticos de uso médico.

## 4. DEFINIÇÕES

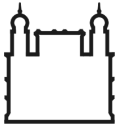
Para efeito deste POP, são adotadas as seguintes definições:

### 4.1 – Amostra

Espécime do produto a ser testado ou um extrato preparado do mesmo.

### 4.2 – Controle Branco

CÓPIA NÃO CONTROLADA



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

Volume idêntico do mesmo meio extrator, porém sem a Amostra, tratado da mesma forma como o meio de extração contendo o espécime a ser testado. Somente utilizado quando for realizado ensaio com extratos de amostras de acordo com o item 7.3.

4.3 – Biocompatibilidade

Aceitação pelo organismo de material implantado ou em contato com o tecido vivo.

4.4 – Controle Celular

Cultura celular sem tratamento

4.5 – Controle Negativo

4.5.1 – Material Padrão de Referência USP biologicamente não reativo de acordo com as condições do ensaio.

4.5.2 – Papel de filtro Whatman n.º 1.

4.6 – Controle Positivo

Látex para garrote biologicamente reativo de acordo com as condições do ensaio.

4.7 – Elastômero

Polímero com propriedades físicas parecidas com as da borracha.

4.8 – Plástico

Material polimérico de alto peso molecular que pode ser moldado por efeito de uma ação exterior.

4.9 – Polímero

Composto orgânico de alto peso molecular, natural ou sintético constituído pela união de moléculas simples chamadas de monômeros. Alguns polímeros são elastômeros e outros são plásticos.

**5. SIGLAS**

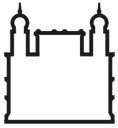
São usadas no texto deste POP as seguintes siglas:

USP - Farmacopéia dos Estados Unidos da América (“United States Pharmacopeia”)

MEM - Meio de Cultura Essencial Mínimo (“Minimum Essential Medium”)

PBS - Solução salina tamponada de fosfato (“Phosphate Buffered Saline”)

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



**TÍTULO:** ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

## 6. CONDIÇÕES GERAIS

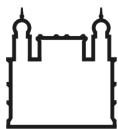
### 6.1 – Equipamentos e outros Itens

- a) agitador magnético;
- b) autoclave;
- c) balança analítica;
- d) banho-maria;
- e) centrífuga;
- f) bico de Bunsen;
- g) câmara de Neubauer;
- h) caixa de isopor;
- i) estufa de CO<sub>2</sub> ;
- j) estufa de secagem;
- k) fluxo laminar vertical;
- l) forno;
- m) frascos plásticos para cultura de células (25 cm<sup>2</sup> e 75 cm<sup>2</sup>) ou garrafas de vidro para cultura;
- n) frascos criogênicos plásticos (1 mL e 2 mL);
- o) microscópio invertido;
- p) micropipetas de volume variável (faixas 20 µL a 200 µL; 100 µL a 1000 µL; 0,5mL a 5 mL; 1mL a 10mL) com as respectivas ponteiras;
- q) papel de alumínio;
- r) papel de filtro Whatman n.º 1;
- s) paquímetro ou régua milimetrada;
- t) pinças cirúrgicas;
- u) pipetador automático;
- v) pipetas Pasteur;
- w) pipetas sorológicas (1mL, 5mL e 10 mL);
- x) placas plásticas para cultura de células (3,5cm de diâmetro);
- y) potenciômetro;
- z) termômetro;
- aa) tesoura;
- bb) unidade de filtração (1000 mL);
- cc) vidraria em geral (erlenmeyer, béquer e proveta).

### 6.2 – Insumos e soluções

- a) células L929 (fibroblastos de camundongo);
- b) solução tampão de fosfato PBS (ver 6.3.1);
- c) solução de L-glutamina 200 mM (ver 6.3.2);
- d) soro fetal bovino;
- e) solução antibiótica de Penicilina 10<sup>4</sup> UI/mL e Estreptomicina 10<sup>4</sup> µg/mL (ver 6.3.3);
- f) solução de tripsina 0,125% com EDTA 0,025% (ver 6.3.4);
- g) MEM 1 x concentrado (ver 6.3.5);
- h) MEM 2 x concentrado (ver 6.3.6);
- i) MEM completo 1 x concentrado (ver 6.3.7);

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR****NÚMERO**  
**65.3330.010**

- j) agar 1,8 % com 0,01% de vermelho neutro (ver 6.3.8);  
k) meio de cobertura (ver 6.3.9);  
l) solução de cloreto de sódio 0,9 % (ver 6.3.10);  
m) meio de congelamento com dimetilsulfóxido (ver 6.3.11);  
n) meio de congelamento com glicerol (ver 6.3.12);  
o) Controle Negativo: Padrão de Referência USP e papel de filtro Whatman n.º 1;  
p) Controle Positivo: látex para garrote.

**6.3 – Preparação de soluções**

Registrar a preparação das soluções no formulário do Anexo A do PU 3330.019 – Preparo de Soluções/ Reagentes do Laboratório de Toxicologia-DFT, e armazenar na pasta de preparo de soluções.

**6.3.1 – Solução PBS:**

Cloreto de sódio (PM 58,44)	32,0 g
Cloreto de potássio (PM 74,55)	0,8 g
Fosfato de sódio dibásico (PM 141,96)	4,6 g
Fosfato de potássio monobásico (PM 136,09)	0,8 g
Água deionizada	4,0 L

- a) dissolver com agitação magnética;  
b) ajustar o pH a  $7,3 \pm 0,1$  com ácido clorídrico 1N ou hidróxido de sódio 1 N;  
c) esterilizar por autoclavação a 121°C por 15 a 20 minutos no Setor de Esterilização do Departamento de Microbiologia.

**6.3.2 – Solução de L-glutamina (200 mM):**

L - glutamina (PM146,15)	- 2,92 g
Água deionizada	- 100 mL

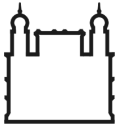
- a) dissolver com agitação magnética;  
b) esterilizar por filtração (membrana de 0,22  $\mu\text{m}$ ).

Adição 1% v/v ao meio MEM 1 X concentrado.

**6.3.3 – Solução antibiótica de Penicilina e Estreptomicina:****6.3.3.1 – Solução A - Penicilina G Potássica  $2 \times 10^4$  UI/mL.**

Penicilina	$5 \times 10^6$ UI
Água deionizada estéril	250 mL

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

6.3.3.2 – Solução B - Sulfato de Estreptomicina  $2 \times 10^4 \mu\text{g}/\text{mL}$ .

Sulfato de estreptomicina	5g
Água deionizada estéril	250 mL

6.3.3.3 – Solução de Penicilina ( $10^4$  UI/mL) e estreptomicina ( $10^4 \mu\text{g}/\text{mL}$ ).

Solução A	250mL
Solução B	250mL

Adição 1% v/v ao meio MEM 1 X concentrado.

6.3.4 – Solução de tripsina 0,125% com EDTA 0,025%

6.3.4.1 – Solução A - Tripsina 0,25%

Tripsina (Difco 1:250)	1,25g
Solução PBS	500 mL

- a) dissolver com agitação magnética durante cerca de 1 hora à temperatura ambiente ( $20^\circ\text{C}$  a  $30^\circ\text{C}$ );
- b) filtrar com papel de filtro (Whatman n.º 1);
- c) esterilizar por filtração (membrana de  $0,22 \mu\text{m}$ ).

6.3.4.2 – Solução B - EDTA 0,05%

EDTA (Verseno)	0,25g
Solução PBS	500mL

- a) dissolver com agitação magnética;
- b) esterilizar por autoclavação a  $121^\circ\text{C}$  por 15 a 20 min no Setor de Esterilização do Departamento de Microbiologia.

6.3.4.3 – Solução de tripsina 0,125% com EDTA 0,025%

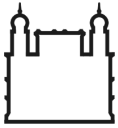
Solução A	500 mL
Solução B	500 mL

6.3.5 – MEM 1 X concentrado com sais de Earle - Sigma M 0268

De acordo com as instruções do fabricante, para cada 9,6g de pó equivalente a 1 litro de meio :

- a) adicionar 900 mL de água deionizada;
- b) dissolver empregando agitação magnética;
- c) adicionar 2,2 g de bicarbonato de sódio para cada litro de volume final do meio a ser obtido;
- d) agitar até completa dissolução da mistura;

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

- e) ajustar o pH do meio na faixa de  $7,4 \pm 0,1$  usando ácido clorídrico 1N ou hidróxido de sódio 1N;
- f) adicionar água deionizada restante para completar o volume de 1 litro;
- g) esterilizar por filtração a vácuo (membrana de  $0,22 \mu\text{m}$ ).
- h) após a filtração, retirar duas alíquotas do meio e transferir para frascos estéreis, para controle;
- i) manter uma alíquota em estufa a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , e a outra à temperatura ambiente, durante 5 a 7 dias;
- j) após esse período verificar se as alíquotas permanecem satisfatórias (límpidas, sem contaminação) e anotar esse dado junto ao registro de preparo do meio.

**6.3.6 – MEM 2 X concentrado.**

Para cada 19,2 g de pó:

- a) adicionar 1000 mL de água deionizada;
- b) dissolver empregando agitação magnética;
- c) adicionar solução de bicarbonato de sódio 2,8 % para ajustar o pH a  $7,4 \pm 0,1$ ;
- d) esterilizar por filtração a vácuo (membrana de  $0,22 \mu\text{m}$ );
- e) adicionar soro fetal bovino 10% v/v ao meio MEM 2x concentrado.

Empregado na composição do meio de cobertura das células.

**6.3.7 – MEM completo 1 X concentrado.**

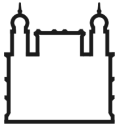
MEM 1 X concentrado suplementado com:

- |                              |                             |
|------------------------------|-----------------------------|
| a) Soro fetal bovino         | 5% v/v                      |
| b) Sulfato de estreptomicina | 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ |
| c) Penicilina G potássica    | 100 UI/mL                   |
| d) L - glutamina             | 2 mM                        |

Empregado como meio de manutenção das células.

Notas:

- a) como meio de manutenção das células, o soro fetal bovino, no volume de cerca de 0,5 mL, deverá ser adicionado à garrafa de cultura a cerca de 9,5 mL de MEM 1X concentrado já suplementado com os antibióticos e glutamina para a suspensão das células, após o desprendimento das mesmas da superfície da garrafa pela tripsina;
- b) o mesmo procedimento descrito em a) deverá ser realizado, quando houver troca de meio entre duas passagens em garrafas de vidro e de plástico de  $75 \text{ cm}^2$ , e no caso de garrafa plástica de  $25 \text{ cm}^2$ , também na troca de meio após o descongelamento, o volume de cerca de 0,25 mL deverá ser adicionado a cerca de 4,75 mL de MEM 1X concentrado já suplementado com os antibióticos e glutamina;
- c) na manutenção das culturas celulares, antes da realização do ensaio de citotoxicidade, para um volume final de suspensão de 10 mL (ver 6.5.4.3), para o subcultivo das culturas nas diluições 1:10 ou 1:2, antes da transferência de 1mL (diluição 1:10) ou 5mL (diluição 1:2) da suspensão celular obtida às novas garrafas adicionar 0,45 mL ou 0,25 mL de soro fetal bovino a cerca de 8,55 mL ou 4,75 mL, respectivamente, de MEM 1X concentrado já suplementado com os antibióticos e glutamina;



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

d) o MEM completo 1X concentrado, porém, sem soro fetal bovino poderá ser utilizado na lavagem da monocamada celular (ver 6.5.4.3).

6.3.8 – Agar 1,8% com 0,01% de vermelho neutro:

Agar Bacto Difco            3,6 g  
Vermelho neutro            0,02 g  
Água deionizada            200 mL

- a) aquecer em fogo brando para fundir o ágar;
- b) adicionar o vermelho neutro;
- c) homogeneizar com bastão de vidro;
- d) distribuir 50 mL por frasco de vidro âmbar;
- e) esterilizar por autoclavagem a 121 °C por 15 a 20 min. no Setor de Esterilização do Departamento de Microbiologia;
- f) conservar em geladeira até o momento do uso.

Empregado na composição do meio de cobertura das células.

6.3.9 – Meio de cobertura.

Para cada 100 mL:

Agar 1,8 % com 0,01% de vermelho neutro    50 mL  
MEM 2 X concentrado                                50 mL

- a) aquecer em fogo para fundir o agar;
- b) manter o agar e o meio em banho-maria a  $44 \pm 1$  °C;
- c) adicionar volumes iguais de agar e de meio em quantidade suficiente para o número de placas preparadas e manter a  $44 \pm 1$  °C;
- d) usar 1 mL de meio de cobertura para cada placa de 3,5 cm de diâmetro;

6.3.10 – Solução de cloreto de sódio 0,9%:

Cloreto de sódio (PM 58,44)    0,9 g  
Água deionizada                    100 mL

Esterilizar por autoclavagem a 121 °C por 15 a 20 min no Setor de Esterilização do Departamento de Microbiologia.

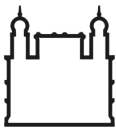
6.3.11 – Meio de congelamento com dimetilsufóxido (DMSO)

- a) soro fetal bovino - 95% v/v;
- b) DMSO - 5% v/v.

6.3.12 – Meio de congelamento com glicerol.

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**





**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

MEM 1 X concentrado (ver 6.3.6 ) suplementado com:

- a) soro fetal bovino - 20% v/v;
- b) glicerol - 10% v/v;
- c) sulfato de estreptomicina - 100 µg / mL;
- d) penicilina G potássica - 100 UI / mL;
- e) L - glutamina - 2 mM.

6.4 – Lavagem do Material.

6.4.1 - Lavar toda a vidraria e material cirúrgico (tesouras e pinças) empregados na execução do ensaio.

6.4.2. No caso de vidraria, como erlenmeyers de borosilicato, a ser utilizada na preparação dos extratos, quando for necessário, tratar com ácido nítrico quente, em torno de 37°C, seguido por prolongado enxágue com água deionizada estéril. Em seguida, secar todo o material em estufa a aproximadamente 50°C de um dia para o outro. Esterilizar a vidraria como indicado em 6.5.3.h

6.5 – Preparação e esterilização do material

6.5.1 – Todos os materiais, soluções, vidraria, pinças, tesouras e plásticos utilizados nos ensaios de toxicidade *in vitro* devem ser estéreis.

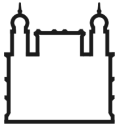
6.5.2 – Material necessário para a esterilização

- a) papel pardo (Kraft);
- b) barbante de algodão, sem cera;
- c) papel de alumínio comum;
- d) termômetro (200 °C);
- e) gaze;
- f) algodão;
- g) álcool comercial;
- h) cilindros de vidro para pipetas.

6.5.3 – Preparação do material para a esterilização

- a) selecionar a vidraria adequada (descartar a vidraria com dano);
- b) colocar papel de alumínio no gargalo das garrafas, béquers, erlenmeyers, etc;
- c) embrulhar as pinças e tesouras com papel de alumínio;
- d) colocar o papel Kraft sobre a folha dupla de alumínio;
- e) amarrar firmemente com o barbante;
- f) tamponar as pipetas com algodão e colocá-las em cilindros de vidro com estopa de gaze;
- g) cobrir a estopa com papel de alumínio, colocar por cima o papel Kraft e amarrar firmemente com o barbante;

CÓPIA NÃO CONTROLADA



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

- h) esterilizar o material em autoclave por 121 °C por cerca de 30 minutos ou em forno Pasteur a 180 °C por cerca de 2 horas, quando for o caso no Setor de Esterilização do Departamento de Microbiologia;
- i) esterilizar o material cirúrgico com álcool a 70% e lâmpada U.V. por aproximadamente 30 minutos.

6.5.4 – Procedimentos com células L 929

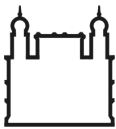
6.5.4.1 – Considerações gerais

- a) efetuar todas as operações com células, preparação e transferência de meios e soluções em fluxo laminar vertical empregando-se material estéril;
- b) as condições gerais de uso da cabine de segurança biológica e de trabalho do operador deverão ser realizadas de acordo com o estabelecido nos itens 5.1 e 5.2 constantes no POP 65.3300.008.
- c) pipetar todas as soluções e suspensões contendo células com pipetador automático;
- d) aquecer os meios e soluções em banho-maria a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  antes do uso com as células;
- e) descartar as soluções em recipientes estéreis no interior de fluxo laminar.

6.5.4.2 – Manutenção das células

- a) manter as células L929 em MEM completo 1 X concentrado (ver 6.3.7) em estufa umidificada, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  com  $5 \pm 1\%$  de  $\text{CO}_2$  em ar, em garrafas de cultura de vidro ou de plástico com áreas superficiais de 25  $\text{cm}^2$  ou de 75  $\text{cm}^2$  deixando as tampas ligeiramente desenroscadas para permitir a entrada de  $\text{CO}_2$ ;
- b) subcultivar as culturas através da técnica de tripsinização (ver 6.5.4.3), geralmente a cada 3 ou 7 dias de acordo com o grau de confluência celular;
- c) preparar para cada subcultivo (passagem celular) pelo menos duas garrafas com a suspensão celular;
- d) observar as culturas celulares ao microscópio invertido pelo menos a cada dois dias durante a semana;
- e) entre uma passagem e outra, de acordo com a necessidade pode-se trocar todo o meio de cultura na garrafa pelo novo MEM completo 1X concentrado (ver 6.3.7);
- f) preparar garrafas com culturas celulares na razão 1:2 ou 1:10 a partir de culturas previamente estabelecidas (ver 6.5.4.3), 1 a 3 ou 4 a 7 dias, respectivamente, antes da realização do ensaio;
- g) realizar o registro de manutenção de culturas assim como de todo o material utilizado na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares (Anexo D) deste POP;
- h) os dados a serem preenchidos na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares são os seguintes: data, número de passagem, nº de garrafas, densidade celular: (%) de confluência, aspectos morfológicos celulares: Fibroblasto, Epitelial, Linfoblástica, Meio de Cultura/Lote, Soro/Lote, Antibiótico/Lote, Antibiótico/Lote, Glutamina/Lote, Tripsina com EDTA/Lote, PBS/Lote, Nº Garrafa/área, Diluição, Volume de Suspensão: (mL), Passagem atual, Materiais Utilizados (como lotes de esterilização de vidraria, pipetas, ponteiras, lotes de placas ou garrafas plásticas) e observações adicionais em OBS.

CÓPIA NÃO CONTROLADA

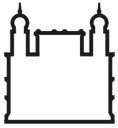
**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR****NÚMERO**  
**65.3330.010****6.5.4.3 – Tripsinização das culturas celulares**

- a) após retirar a garrafa com a cultura celular da estufa, em fluxo laminar, retirar o meio de cultura da garrafa (desprezando o líquido em um frasco estéril);
- b) lavar a monocamada celular, de acordo com a necessidade, uma, duas ou três vezes, com 5 mL ou 10 mL de MEM completo 1X concentrado, porém sem soro fetal bovino (ver 6.3.7.d) ou de PBS (ver 6.3.1) sendo os volumes dependentes da área superficial da garrafa de cultura (plástica de 25 cm<sup>2</sup> ou garrafa de vidro e de plástico de 75 cm<sup>2</sup>, respectivamente);
- c) retirar o meio da garrafa ou o PBS (desprezando o líquido em um frasco estéril);
- d) tratar as células com 1 mL ou 2 mL de solução de tripsina com EDTA (ver 6.3.4) em garrafas plásticas com 25 cm<sup>2</sup> e garrafa de vidro e de plástico com 75 cm<sup>2</sup> de área superficial, respectivamente;
- e) observar a monocamada celular ao microscópio invertido;
- f) aguardar o arredondamento total das células. Para facilitar o efeito da tripsina, as células poderão ser colocadas em estufa a aproximadamente 37°C;
- g) retirar a solução de tripsina (desprezando o líquido em um frasco estéril);
- h) desprender as células da superfície após leve batida na garrafa (visualização no microscópio ou pela turvação da solução);
- i) após o desprendimento das células adicionar à cada garrafa, com pipeta ou micropipeta, cerca de 0,5 mL de soro fetal a cerca de 9,5 mL de MEM 1X concentrado já suplementado com antibióticos e glutamina (ver 6.3.7);
- j) suspender as células da garrafa em cerca de 10mL de MEM completo (ver 6.3.7), lavando suavemente com pipeta a superfície da monocamada celular cinco a dez vezes até se obter uma suspensão de células bem homogênea sem a presença de grumos
- k) para a manutenção de células antes da realização do ensaio de citotoxicidade, com a pipeta transferir para outra garrafa, 1 mL ou 5 mL da suspensão celular obtida a 9 mL ou 5mL de MEM completo (ver 6.3.7.c), correspondendo, respectivamente às passagens 1:10 e 1:2;
- l) para o ensaio de citotoxicidade, medir a concentração celular da suspensão obtida em 6.5.4.3.j, empregando câmara de Neubauer (ver 6.5.4.4) ajustando-a a aproximadamente 1X 10<sup>5</sup> células/mL em MEM completo (ver 6.3.7).

**6.5.4.4 – Contagem de células**

- a) fixar uma lamínula na câmara de Neubauer, que apresenta oito quadrados laterais, um quadrado central, todos de 1 mm, e profundidade de 0,1 mm;
- b) transferir uma gota da suspensão celular para um dos lados da câmara, evitando-se o transbordamento e certificando-se de que todo o líquido se difundiu por capilaridade sob a lamínula;
- c) observar as células ao microscópio a um aumento de 20X ou 40X ;
- d) contar todas as células dos quatro quadrados laterais;
- e) excluir da contagem as células que se encontram nas linhas de baixo e da direita do perímetro de cada quadrado, incluir, porém, as que se acham nas linhas de cima e da esquerda;
- f) repetir todo o procedimento de homogeneização para a dispersão das células quando grumos ocorrerem;
- g) determinar a concentração celular por mL multiplicando-se pelo fator 10<sup>4</sup> o número médio de células por quadrado;

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



<b>TÍTULO:</b> ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR	<b>NÚMERO</b> <b>65.3330.010</b>
--	-------------------------------------

- h) caso as células tenham sido diluídas ou concentradas antes da contagem, usar esses fatores para calcular a concentração de células na suspensão original;
- i) cada quadrado da câmara, com sua lamínula ajustada, representa um volume de 0,1 mm<sup>3</sup> ou seja 10<sup>-4</sup> cm<sup>3</sup>, e 1 cm<sup>3</sup> equivalente a 1 mL.

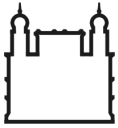
#### 6.5.4.5 – Congelamento das células

- a) preparar meio de congelamento com o agente crioprotetor dimetilsulfóxido - DMSO (ver 6.3.11) ou com glicerol (ver 6.3.12);
- b) tripsinizar a cultura celular (ver 6.5.4.3);
- c) medir a concentração da suspensão celular obtida, empregando câmara de Neubauer (ver 6.5.4.4);
- d) centrifugar a suspensão a 1000 rpm durante cerca de 10 min;
- e) retirar o sobrenadante (invertendo o frasco);
- f) soltar o “pellet” do fundo do tubo de centrifugação através de leve batida na parede do tubo;
- g) ressuspender as células no meio de congelamento (ver 6.3.11 ou 6.3.12) a uma concentração de cerca de 1 x 10<sup>6</sup> de células/1 mL;
- h) adicionar alíquotas de 1 mL ou de 1,8 mL em frascos criogênicos plásticos;
- i) colocar os frascos em orifícios no interior de caixa plástica contendo algodão hidrófobo;
- j) colocar a caixa em freezer à temperatura de cerca de - 70 °C durante no mínimo 72 horas;
- k) transferir os frascos para o reservatório de nitrogênio líquido para estocagem, no mínimo 72 horas após o congelamento.

#### 6.5.4.6 – Descongelamento das células

- a) localizar o criotubo a ser descongelado no caderno “Botijão Criobiológico”;
- b) em fluxo laminar adicionar 5 mL de MEM completo (ver 6.3.7), porém com 10% de soro fetal bovino à garrafa plástica de 25 cm<sup>2</sup> e mantê-la em estufa a 37 ± 1°C e com 5 ± 1 % de CO<sub>2</sub>;
- c) pelo menos 1h após a colocação da garrafa em estufa, retirá-la da estufa colocando-a em fluxo laminar, antes da remoção do criotubo do reservatório de nitrogênio líquido utilizando EPIs adequados (protetor facial e luva);
- d) para descongelar as células, colocar o frasco em banho-maria a 37 ± 1 °C com constante agitação até o descongelamento da suspensão celular;
- e) após o descongelamento, fazer a assepsia do criotubo com gaze embebida em álcool 70% antes da sua introdução no fluxo laminar;
- f) transferir o conteúdo do frasco com pipeta Pasteur para garrafa de cultura plástica de 25 cm<sup>2</sup> com 5 mL de MEM completo (ver 6.5.4.6.b)
- g) homogeneizar suavemente com pipeta Pasteur;
- h) incubar em estufa umidificada, a 37 ± 1 °C com 5 ± 1% de CO<sub>2</sub>;
- i) aproximadamente vinte e quatro horas após o descongelamento, observar a cultura celular ao microscópio invertido para verificar a adesão celular;
- j) retirar o meio de cultura com DMSO e substituí-lo por 5 mL de MEM completo (ver 6.3.7.b); no caso de glicerol como agente crioprotetor, retirar o meio de cultura aproximadamente quarenta e oito horas após o descongelamento substituindo-o por 5 mL de MEM completo (ver 6.3.7.b);
- k) realizar pelo menos dois subcultivos após o descongelamento antes do emprego em ensaios de citotoxicidade;

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

l) realizar o registro do descongelamento das células na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares (Anexo D) deste POP;

m) os dados relativos ao descongelamento a serem preenchidos na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares são os seguintes: número de passagem, nº de ampolas descongeladas, Linhagem, Origem, data do descongelamento, N° de garrafas subcultivadas, Meio de Cultura, Soro, Antibiótico, Glutamina, Tripsina com EDTA, PBS, Materiais utilizados (como lotes de esterilização de vidraria, pipetas, ponteyras, lotes de placas ou garrafas plásticas) e observações adicionais em OBS.

#### 6.5.4.7 – Controle de CO<sub>2</sub> através da verificação do pH do meio de cultura

Para se manter o valor do pH do meio de cultura constante a um valor pré-estabelecido é necessário ajustar a concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera interna da estufa. A concentração de CO<sub>2</sub> requerida depende do valor de pH desejado e o conteúdo de tampão bicarbonato de sódio no meio de cultura como mostrado na curva constante no Manual Técnico da estufa Heraeus EC – CO<sub>2</sub>.

No caso do meio MEM com 2,2 g de bicarbonato de sódio adicionado por litro de meio, para a manutenção do pH ideal de  $7,4 \pm 0,1$  é necessário uma atmosfera de  $5 \pm 1\%$  de CO<sub>2</sub>. O valor do pH medido através de um potenciômetro será registrado no formulário no Anexo A.

Desta forma, a partir do conhecimento do tipo de meio de cultura, da quantidade de bicarbonato de sódio adicionado por litro de meio e da medida do pH do meio de cultura poderemos obter o valor do percentual de CO<sub>2</sub> no interior da estufa.

## 7. CONDIÇÕES ESPECÍFICAS

### 7.1 – Princípio do ensaio

A camada de ágar protege as células do dano mecânico durante a colocação da amostra e permite difusão de substâncias químicas que migram das amostras de polímeros.

### 7.2 – Preparação da Amostra

7.2.1 – Empregar amostra com área de aproximadamente 0,25 cm<sup>2</sup> (0,5 cm x 0,5 cm) em placa com 3,5 cm de diâmetro.

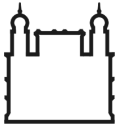
7.2.2 – Usar discos de papel de filtro Whatman obtidos pela perfuração através de furadeira de papel, embebidos com extratos obtidos da Amostra (ver 7.3).

### 7.3 – Preparação de extratos.

#### 7.3.1 – Subdivisão e lavagem do material.

7.3.1.1 - De acordo com a forma de apresentação do material plástico e sua espessura, utilizar a quantidade de amostra, expressa em valores de área superficial total como indicada na Tabela 1.

CÓPIA NÃO CONTROLADA

**TÍTULO:** ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**NÚMERO**  
65.3330.010**Tabela 1 - Área Superficial Total**

Forma de Apresentação em	Espessura	Quantidade de Amostra/20mL de Solvente	Subdividir Área Superficial Total
Filme ou Lâmina	< 0,5 mm	120 cm <sup>2</sup>	Tiras de 5 x 0,3 cm
	0,5mm a 1mm	60 cm <sup>2</sup>	Tiras de 5 x 0,3 cm
Tubo	< 0,5 mm (parede)	Comprimento ( cm ) = $120\text{cm}^2 / DI^1 + DE^2$	Seções de 5 x 0,3 cm
	0,5mm a 1mm (parede)	Comprimento ( cm ) = $60\text{cm}^2 / DI^1 + DE^2$	Seções de 5 x 0,3 cm
Placa, Tubo e Itens Moldados	>1mm	60 cm <sup>2</sup>	Seções de 5 x 0,3 cm
Elastômero	>1mm	25 cm <sup>2</sup>	Não subdividir

<sup>1</sup> DI Diâmetro Interno do Tubo (cm).<sup>2</sup> DE Diâmetro Externo do Tubo (cm).

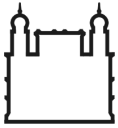
CÓPIA NÃO CONTROLADA

7.3.1.2 – Uma vez selecionada a área adequada, cortá-la em tiras ou em seções de 5 cm x 0,3 cm, com exceção dos elastômeros que são testados intactos.

- no caso de tubos, o comprimento total da seção a ser cortado é calculado levando-se em consideração além da área total das seções, os valores de diâmetro interno e externo do tubo;
- usar 0,1g de elastômero ou 0,2 g de plástico ou de outros polímeros para cada 1 mL de solvente extrator quando não for possível a determinação da área superficial da amostra.

7.3.1.3 – Lavar material plástico subdividido referente à Amostra ou Controle Negativo da seguinte forma:

- colocar o material em erlenmeyers de borossilicato de 125 mL com tampa esmerilhada;
- adicionar 70 mL de água deionizada estéril;
- agitar por cerca de trinta segundos;
- desprezar a água;
- repetir uma vez a mesma operação de lavagem.



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

7.3.2 – Procedimento de extração

- a) transferir o material previamente lavado para erlenmeyer de 125 mL rigorosamente limpo;
- b) adicionar em seguida 20 mL de solução de cloreto de sódio 0,9 % estéril ou 20 mL de meio de cultura (MEM) estéril sem ou com soro fetal bovino. O meio de cultura suplementado com o soro é empregado quando a extração for realizada a 37°C por cerca de 24h;
- c) fechar o frasco adequadamente com a tampa de vidro esmerilhada espaçada por pequena tira de papel de filtro. Cobrir com folha de alumínio;
- d) empregar uma das seguintes condições para extração, de acordo com a resistência térmica do material:
- em autoclave à temperatura de  $121 \pm 2$  °C durante cerca de 1 hora;
  - em forno a  $70 \pm 2$  °C por aproximadamente 24 horas ou a  $50 \pm 2$  °C por cerca de 72 horas;
- e) a condição escolhida para o processo de extração não deve ocasionar derretimento ou fusão dos pedaços de plástico da Amostra-teste o que reduz a área superficial disponível;
- f) é tolerável no entanto, a ocorrência de uma pequena adesão entre os pedaços de plástico;
- g) testar da mesma forma 20 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% ou de meio de cultura estéreis sem a Amostra e usar como Branco;
- h) resfriar os extratos obtidos a uma temperatura próxima à do meio ambiente (20 °C a 30 °C);
- i) agitar vigorosamente por aproximadamente 10 minutos e transferir o extrato assepticamente para recipientes secos e estéreis;
- j) manter os extratos à temperatura ambiente até o momento do uso;
- k) testar os extratos no máximo 24 horas após a sua obtenção.

7.4 – Execução do ensaio

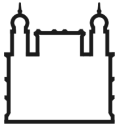
7.4.1 – Preparação das culturas celulares

- a) preparar uma suspensão de células L-929 contendo cerca de  $1 \times 10^5$  células por mL em meio MEM completo (ver 6.5.4.3 e 6.5.4.4);
- b) colocar 4 mL da suspensão celular obtida em cada orifício da placa plástica de cultura (3,5 cm de diâmetro);
- c) preparar culturas em duplicata para a Amostra, Controle Celular, Controle Negativo, Controles Positivo e Branco, quando for o caso;
- d) incubar as culturas em estufa a  $37 \pm 1$  °C com  $5 \pm 1\%$  de CO<sub>2</sub> por pelo menos 24 horas.

7.4.2 – Aplicação da amostra

- a) aproximadamente quarenta e oito horas após o estabelecimento das culturas, utilizar para o ensaio aquelas que apresentarem uma monocamada celular uniforme e próxima a confluência (confluência superior a 80%);
- b) aspirar com pipeta o meio de cultura das placas;
- c) lavar com pipeta a monocamada de cada orifício da placa com 2 mL de solução PBS (ver 6.3.2);
- d) aspirar com pipeta a solução PBS das placas;
- e) adicionar por placa, 1 mL de meio de cobertura (ver 6.3.10), tendo-se o cuidado de não esgotar a pipeta para não formar bolhas;

CÓPIA NÃO CONTROLADA



<b>TÍTULO:</b> <b>ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3330.010</b>
---	-------------------------------------

- f) deixar o agar solidificar à temperatura ambiente (no máximo de 30°C) por aproximadamente 10 minutos. A temperatura deverá ser registrada no formulário de Registro de Temperatura Ambiental, Anexo A do POP 65.3320.006 (Utilização, Manutenção e Limpeza de Equipamentos no Departamento de Farmacologia e Toxicologia do INCQS);
- g) colocar em contato com a superfície solidificada do agar, no centro de cada placa, com o auxílio de uma pinça: a Amostra a ser testada ou os papéis de filtro embebidos nos extratos obtidos do respectivo material e do Branco (ver 4.2); o Controle Negativo (ver 4.5) e o Controle Positivo (ver 4.6);
- h) efetuar o procedimento acima (ver itens a ao g) em culturas em duplicata;
- i) aguardar o total endurecimento do meio, tendo-se o cuidado de proteger as placas da luz com papel de alumínio;
- j) incubar as placas na posição invertida, embrulhadas em folha de papel de alumínio, por pelo menos 24 horas em estufa a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidificada e com  $5 \pm 1\%$  de  $\text{CO}_2$ ;
- k) o ensaio tem que ser realizado no escuro, ou seja, protegido da luz;
- l) preencher o Formulário do Anexo A com os dados metodológicos, de equipamentos e instrumentos utilizados no ensaio.

#### 7.4.3 – Avaliação da citotoxicidade

Vinte e quatro horas após a aplicação da Amostra avaliar o grau de citotoxicidade:

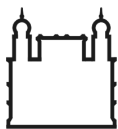
- a) observar microscopicamente a morfologia e a coloração das células sob e ao redor da Amostra-teste dos Controles;
- b) medir macroscopicamente a extensão da área descorada (células mortas) a partir das extremidades da amostra nos 4 diferentes quadrantes (ver Anexo B) com o auxílio do paquímetro ou régua milimetrada registrando os valores nos formulários do Anexo B;
- c) calcular o valor médio dos valores dos 4 diferentes quadrantes de acordo com planilha Excel no Anexo C nomeada Planilha de Cálculos do Ensaio de Citotoxicidade\_In Vitro – Método de Difusão em Agar no endereço G:\LTOX\EnsaioToxicológico\Citotoxicidade\_in vitro\_Anexo C.xlsx;
- d) relacionar nos Formulários de Resultados (Anexo B), os valores médios obtidos para cada Amostra e Controles com os limites especificados para os diferentes graus de citotoxicidade indicados na Tabela 2;
- e) o grau de citotoxicidade é quantificado numa escala de 0 a 4 (ver Tabela 2);
- f) o corante vital vermelho neutro adicionado ao meio de cobertura, é captado rapidamente pelas células vivas, armazenado em lisossomos (ver Grasso *et al.*, 1973) corando as células em vermelho;
- g) durante o processo de necrose, as células coradas liberam o corante produzindo regiões com células mortas descoradas.

#### 7.4.4 – Determinação da validade do ensaio

Testar a validade do ensaio a partir das respostas das células ao tratamento pelo Controle Negativo (ver 4.5) e pelo Controle Positivo (ver 4.6).

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR****NÚMERO**  
**65.3330.010**

- a) O Controle Negativo deve mostrar ausência de reação citotóxica (grau 0);  
b) O Controle Positivo deve mostrar uma nítida reação citotóxica (igual ou superior ao grau 3);  
c) O Controle Branco (ver 4.2) deve mostrar ausência de reação citotóxica (grau 0).

Preenchidas as condições acima, medir a resposta para a Amostra-teste e caso não seja confirmada a validade do ensaio: repetir o teste.

#### 7.4.5 – Interpretação dos Resultados

A amostra é considerada satisfatória se nenhuma cultura exposta à Amostra-teste mostrar citotoxicidade superior ao grau 2 (citotoxicidade branda).

Tabela 2 – Graus de Citotoxicidade

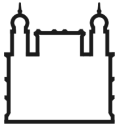
GRAU	CITOTOXICIDADE	DESCRIÇÃO DA ZONA DE CITOTOXICIDADE
0	Ausência	Ausência de descoramento ao redor ou sob a amostra.
1	Leve	Zona de descoramento limitada a área sob a amostra.
2	Branda	Tamanho da zona de descoramento a partir da amostra menor que 0,45 cm.
3	Moderada	Tamanho da zona de descoramento a partir da amostra compreendido entre 0,45 cm a 1,0 cm.
4	Severa	Tamanho da zona de descoramento a partir da amostra maior que 1,0 cm porém não envolvendo a placa inteira.

## 8. GARANTIA DA QUALIDADE DOS RESULTADOS

8.1 - Todos os ensaios incluirão um Controle Celular, Controle Negativo, Controle Positivo e Branco, conforme o item 7.4.

8.2 – Para maximizar a viabilidade celular e reprodutibilidade, deverá ser empregado o meio de cultura suplementado conforme item 6.3.7, que corresponde ao meio de cultura final utilizado para o cultivo das células sob as condições de temperatura e de atmosfera gasosa estabelecidas em 6.5.4.2.

8.3 – Para garantir a qualidade e consistência nos ensaios com culturas celulares e obtenção de resultados reprodutíveis é essencial o emprego de soro fetal bovino inativado pelo calor, estéril, livre de

**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR****NÚMERO**  
**65.3330.010**

micoplasmas testado em cultura de células de mamífero com grau de qualidade ou de pureza certificado.

8.4 – Todos os registros referentes à manutenção das culturas e de preparo de todas as soluções deverão ser realizados em formulários apropriados como indicado nos itens 6.5.4.2 e 6.3.

8.5 - As culturas de células L-929 deverão ser observadas ao microscópio invertido pelo menos a cada dois dias durante a semana, quanto à morfologia típica fibroblástica e à densidade celular. O registro deverá ser realizado na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares (Anexo D) deste POP.

8.6 – Antes da realização do ensaio de citotoxicidade, as culturas deverão ser subcultivadas através da técnica de tripsinização nas proporções de 1:2 ou 1:10 conforme item 6.5.4.3, para reduzir a densidade celular a um nível adequado para o crescimento e divisão celular.

8.7 - No caso de descongelamento de células (item 6.5.4.6) deverão ser realizados pelo menos dois subcultivos antes do seu emprego no ensaio de citotoxicidade. O registro do descongelamento das células deverá ser realizado na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares (Anexo D) deste POP.

8.8 – Deverão ser empregadas no ensaio de citotoxicidade culturas com monocamada celular uniforme próxima à confluência (confluência superior a 80%) de acordo com o item 7.4.2. A reprodutibilidade do ensaio depende da obtenção de densidade de cultura celular uniforme.

8.9 - A análise estatística realizada com os resultados dos controles positivos utilizados desde 1987 até os dias atuais estão na planilha gráfica Excel nomeada como citotoxicidade controle no endereço rede G:\LTOX\EnsaioToxicológico\Citotoxicidade-controle.xls.

**9. BIBLIOGRAFIA**

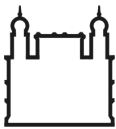
AMERICAN Society for Testing and Materials 2006. Standard test method for agar diffusion cell culture screening for cytotoxicity. ASTM Designation F 895-84. Philadelphia PA 19103.

ENSAIO Cometa. In: MANUAL da Qualidade, Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. Seção 4.3 (65.3330.011).

GRASSO, P., GAYDON, J., HENDY, R.J. The safety testing of medical plastics. II. An assessment of lysosomal changes as an index of toxicity in cell cultures. **Fd. Cosmet. Toxicol.**, v.11, p.255-263, 1973.

GUESS, W. L. et al. Agar diffusion method for toxicity screening of plastics on cultured cells monolayers. **J. Pharm. Sci.**, v.54, p.1545-1547, 1965.

NORTHUP, S.J. Mammalian cell culture models. In: VON RECUM, A.F., ed. **Handbook of Biomaterials Evaluation**. New York: Macmillan. 1986.

**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR****NÚMERO**  
**65.3330.010**

PREPARO de Soluções/Reagentes do Laboratório de Toxicologia-DFT. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. seção 4.3 (65.3310.019).

ROSENBLUTH, S.A. et al. Tissue culture method for screening toxicity of plastic materials to be used in medical practice. **J. Pharm. Sci.**, v.54, p.156-159, 1965.

THE UNITED States Pharmacopeia. 37 ed. National Formulary 32. Rockville: U.S. Pharmacopeial, 2014. [87] Biological Reactivity Tests, In Vitro: Agar Diffusion Test. United States Pharmacopeial Convention.

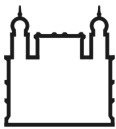
USP Subcommittee on In-vitro Toxicity. Application of the Concept of Biological Reactivity to Compendial Tests. **Pharmacopeial Forum**, v.15 (1), p.4804-4811, 1989.

UTILIZAÇÃO, Controle e Manutenção das Cabines de Segurança Biológica do DFT. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. (65.3300.008).

**10. ALTERAÇÕES COM RELAÇÃO À REVISÃO ANTERIOR**

<b>Nº DO CAPÍTULO</b>	<b>SÍNTESE DA MUDANÇA</b>
SUMÁRIO	INCLUSÃO DE NOVO ANEXO D: "FICHA DE ACOMPANHAMENTO DE CULTURAS CELULARES
5	Inclusões em USP após Farmacopéia dos Estados Unidos da América: ("United States Pharmacopeia"); em MEM após Meio de Cultura Essencial Mínimo: ("Minimum Essential Medium") e em PBS após Solução salina tamponada de fosfato: ("Phosphate Buffered Saline")
6.1.m	Alteração de: frasco de cultura de plástico para: frascos plásticos para cultura de células (25 cm <sup>2</sup> e 75 cm <sup>2</sup> ) ou garrafas de vidro para cultura.
6.1	Inclusão de novo item p: micropipetas de volume variável (faixas 20 µL a 200 µL; 100 µL a 1000 µL; 0,5mL a 5 mL; 1mL a 10mL) com as respectivas ponteiros;
6.1.x	Alteração de: placas plásticas (3,5 cm de diâmetro) para: placas plásticas para cultura de células (3,5 cm de diâmetro).
6.2.b	Exclusão de item b): solução de ácido crômico (ver 6.3.1). Com esta exclusão, houve renumeração dos itens subsequentes
6.3	Exclusão do item 6.3.1: solução de ácido crômico. Com esta exclusão, houve a reordenação dos itens subsequentes. Ao final do item 6.3 exclusão de: "O registro de preparo das soluções / reagentes deverá ser realizada no formulário do Anexo A do PU 3330.019 do Laboratório de Toxicologia/DFT".

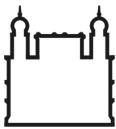
**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



<b>TÍTULO:</b> ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR	<b>NÚMERO</b> 65.3330.010
--	------------------------------

CÓPIA NÃO CONTROLADA

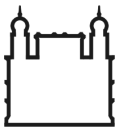
6.3.6.h	Após controle, exclusão de: de acordo com o descrito nos sub itens i, j, k de 5.6.1 do POP nº65.3330.016 referente ao ensaio "in vitro" de efeito "clustering" em células CHO.;
6.3.6.i e 6.3.6.j	Inclusão de dois novos itens: i) manter uma alíquota em estufa a 37 ±1°C, e a outra à temperatura ambiente, durante 5 a 7 dias; j) após esse período verificar se as alíquotas permanecem satisfatórias (límpidas, sem contaminação) e anotar esse dado junto ao registro de preparo do meio.
6.3.8	Ao final do item Inclusão de Notas.com itens a),b),c), d). Notas: a)como meio de manutenção das células, o soro fetal bovino, no volume de cerca de 0,5 mL, deverá ser adicionado à garrafa de cultura a cerca de 9,5 mL de MEM 1X concentrado já suplementado com os antibióticos e glutamina para a suspensão das células, após o desprendimento das mesmas da superfície da garrafa pela tripsina; b) o mesmo procedimento descrito em a) deverá ser realizado, quando houver troca de meio entre duas passagens em garrafas de vidro e de plástico de 75 cm <sup>2</sup> , e no caso de garrafa plástica de 25 cm <sup>2</sup> , também na troca de meio após o descongelamento, o volume de cerca de 0,25 mL deverá ser adicionado a cerca de 4,75 mL de MEM 1X concentrado já suplementado com os antibióticos e glutamina; c) na manutenção das culturas celulares, antes da realização do ensaio de citotoxicidade, para um volume final de suspensão de 10 mL (ver 6.5.4.3), para o subcultivo das culturas nas diluições 1:10 ou 1:2, antes da transferência de 1mL (diluição 1:10) ou 5mL (diluição 1:2) da suspensão celular obtida às novas garrafas adicionar 0,45 mL ou 0,25 mL de soro fetal bovino a cerca de 8,55 mL ou 4,75 mL, respectivamente, de MEM 1X concentrado já suplementado com os antibióticos e glutamina; d) o MEM completo 1X concentrado, porém, sem soro fetal bovino poderá ser utilizado na lavagem da monocamada celular (ver 6.5.4.3).
6.3	Ao final do item 6.3 – Preparação de soluções, após Anexo A, alteração de: do PU 3330.019 do Laboratório de Toxicologia/DFT para: (Preparo de Soluções/Reagentes-DFT) do PU 3330.019 (Preparo de Soluções/Reagentes do Laboratório de Toxicologia-DFT).
6.4.2	Alteração de: "Quando for necessário, tratar a vidraria com solução de limpeza de ácido crômico (ver 6.3.1) seguido por prolongado enxágue com água corrente e água destilada. Em seguida, secar todo o material em estufa a aproximadamente 50°C de um dia para o outro" para: "No caso de vidraria, como erlenmeyers de borossilicato, a ser utilizada na preparação dos extratos, quando for necessário, tratar com ácido nítrico quente, em torno de 37°C, seguido por prolongado enxágue com água deionizada estéril. Em seguida, secar todo o material em estufa a aproximadamente 50°C de um dia para o outro. Esterilizar a vidraria como indicado em 6.5.3.h."



<b>TÍTULO:</b> ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR	<b>NÚMERO</b> 65.3330.010
--	------------------------------

CÓPIA NÃO CONTROLADA

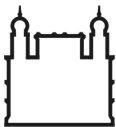
6.5.4.1	Após item a) incluir como item b): “as condições gerais de uso da cabine de segurança biológica e de trabalho do operador deverão ser realizadas de acordo com o estabelecido nos itens 5.1 e 5.2 constantes no POP 65.3300.008”; Consequentemente, os atuais itens b,c,d passarão a ser c,d,e.
6.5.4.2	<p>Organização do item em sub-itens a) a g). A primeira frase passará a ser item a) com a seguinte inclusão de texto após “75 cm<sup>2</sup>”: “deixando as tampas ligeiramente desenroscadas para permitir a entrada de CO<sub>2</sub>,” e alteração de: “(ver 6.3.8) para: (ver 6.3.7);</p> <p>Na 3ª linha, após a primeira frase, exclusão de: “A frequência de subcultivos das culturas, os procedimentos para o estabelecimento das diluições da suspensão celular após tripsinização, de trocas de meio e o número de garrafas por subcultivo deverão ser realizados de acordo com o descrito, respectivamente nos itens 6.2.4.1.a, 6.2.4.1.h e nos itens a, b, c em Notas do POP nº65.3330.016 referente ao ensaio “in vitro” de efeito “clustering” em células CHO”</p> <p>Inclusão dos novos itens b a f: b) subcultivar as culturas através da técnica de tripsinização (ver 6.5.4.3), a cada 3 ou 7 dias de acordo com o grau de confluência celular;</p> <p>c) preparar para cada subcultivo (passagem celular) pelo menos duas garrafas com a suspensão celular;</p> <p>d) observar as culturas celulares ao microscópio invertido pelo menos a cada dois dias durante a semana;</p> <p>e) entre uma passagem e outra, de acordo com a necessidade pode-se trocar todo o meio de cultura na garrafa pelo novo MEM completo 1X concentrado (ver 6.3.7);</p> <p>f) preparar garrafas com culturas celulares na razão 1:2 ou 1:10 a partir de culturas previamente estabelecidas (ver 6.5.4.3), 1 a 3 ou 4 a 7 dias, respectivamente, antes da realização do ensaio;</p> <p>Todo o conteúdo da 3ª frase do item 6.5.4.2, na 7ª linha, passará a compor os sub-itens g) e h) com a seguinte redação: g) realizar o registro de manutenção de culturas assim como de todo o material utilizado na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares (Anexo D) deste POP;</p> <p>h)os dados a serem preenchidos na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares são os seguintes: data, número de passagem, nº de garrafas, densidade celular: (%) de confluência, aspectos morfológicos celulares: Fibroblasto, Epitelial, Linfoblástica, Meio de Cultura/Lote, Soro/Lote, Antibiótico/Lote, Antibiótico/Lote, Glutamina/Lote, Tripsina com EDTA/Lote, PBS/Lote, Nº Garrafa/área, Diluição, Volume de Suspensão: (mL), Passagem atual, Materiais Utilizados (como lotes de esterilização de vidraria, pipetas, ponteiras, lotes de placas ou garrafas plásticas) e observações adicionais em OBS.</p>
6.5.4.3.a	Alteração de: “retirar o meio de cultura da garrafa (desprezando o líquido



<b>TÍTULO:</b> ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR	<b>NÚMERO</b> 65.3330.010
--	------------------------------

CÓPIA NÃO CONTROLADA

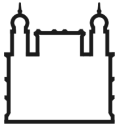
	em um frasco estéril) para: “após retirar a garrafa com a cultura celular da estufa, em fluxo laminar, retirar o meio de cultura da garrafa (desprezando o líquido em um frasco estéril);”.
6.5.4.3.b	Alteração de: “lavar a monocamada celular uma vez com 5 mL ou 10 mL de meio MEM 1X concentrado sem soro fetal bovino dependendo da área superficial da garrafa de cultura (25 cm <sup>2</sup> ou 75 cm <sup>2</sup> )” para: “lavar a monocamada celular, de acordo com a necessidade, uma, duas ou três vezes, com 5 mL ou 10 mL de MEM completo 1X concentrado, porém sem soro fetal bovino (ver 6.3.7) ou de PBS (ver 6.3.1) sendo os volumes dependentes da área superficial da garrafa de cultura (plástica de 25 cm <sup>2</sup> ou garrafa de vidro e de plástico de 75 cm <sup>2</sup> , respectivamente);
6.5.4.3.c	Após “garrafa” Inclusão de: “ou o PBS”
6.5.4.3.d	Alteração de: “tratar as células com 2 mL ou 4 mL de solução de tripsina com EDTA (ver 6.3.5) em garrafas com 25 cm <sup>2</sup> e com 75 cm <sup>2</sup> de área superficial, respectivamente; ” para: “tratar as células com 1 mL ou 2 mL de solução de tripsina com EDTA (ver 6.3.4) em garrafas plásticas com 25 cm <sup>2</sup> e garrafa de vidro ou de plástico com 75 cm <sup>2</sup> de área superficial, respectivamente;”
6.5.4.3.f	Após a primeira frase, inclusão de: “Para facilitar o efeito da tripsina, as células poderão ser colocadas em estufa a aproximadamente 37°C.
6.5.4.3.i	Alteração de: “após o desprendimento adicionar com pipeta, cerca de 10 mL de MEM completo (ver 6.3.8) às garrafas” para: após o desprendimento das células adicionar à cada garrafa, com pipeta ou micropipeta, cerca de 0,5 mL de soro fetal bovino a cerca de 9,5 mL de MEM 1X concentrado já suplementado com antibióticos e glutamina (ver 6.3.7);
6.5.4.3.j	Após “garrafa” inclusão de: “cerca de 10mL de MEM completo (ver 6.3.7) ”,
6.5.4.3.k	Substituição do item atual k): “medir a concentração celular da suspensão obtida, empregando câmara de Neubauer (ver 6.5.4.4) ” por: “para a manutenção de células antes da realização do ensaio de citotoxicidade, com a pipeta transferir para outra garrafa, 1 mL ou 5 mL da suspensão celular obtida a 9 mL ou 5mL de MEM completo (ver 6.3.7.c), correspondendo, respectivamente às passagens 1:10 e 1:2; ”
6.5.4.3	Alteração de: “para o ensaio de citotoxicidade, ajustar a concentração da suspensão celular para 1 X 10 <sup>5</sup> células/1 mL empregando MEM completo (ver 6.3.8) ” para item novo l): “ para o ensaio de citotoxicidade, medir a concentração celular da suspensão obtida em 6.5.4.3.j, empregando câmara de Neubauer (ver 6.5.4.4) ajustando-a a aproximadamente 1X 10 <sup>5</sup> células/mL em MEM completo (ver 6.3.7)”.
6.5.4.4.g	Exclusão do item: considerar como número ideal para a contagem, um mínimo de 40 e um máximo de 200 células observadas nos 4 quadrados (10 a 50 células por quadrado);



<b>TÍTULO:</b> ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR	<b>NÚMERO</b> 65.3330.010
--	------------------------------

CÓPIA NÃO CONTROLADA

6.5.4.4.j	Exclusão do item: células em concentrações na faixa de $5 \times 10^4/1 \text{ mL}$ a $1 \times 10^6/1 \text{ mL}$ podem ser contadas diretamente sem diluição ou concentração. Se a concentração celular, porém for maior do que $1 \times 10^6/1 \text{ mL}$ , diluir a suspensão na proporção de 1 para 5 ou de 1 para 10 com MEM ou com PBS (ver 6.3.8 e 6.3.2) para facilitar a contagem e produzir resultados mais precisos; Com a exclusão dos itens g e j, ocorreu a reordenação dos itens, ficando como ultimo item, o item i correspondendo ao item k da 12ª revisão.
6.5.4.5.a	Alteração de "(ver 6.3.12) ou com glicerol (ver 6.3.13)" para: "(ver 6.3.11) ou com glicerol (ver 6.3.12)".
6.5.4.5.g	Alteração de: "(ver 6.3.12 ou 6.3.13)" para: "(ver 6.3.11 ou 6.3.12)".
6.5.4.5.j	Alteração de: "colocar a caixa em freezer a $-20^\circ\text{C}$ ;" para: "colocar a caixa em freezer à temperatura de cerca de $-70^\circ\text{C}$ durante no mínimo 72 horas;"
6.5.4.5.k	Exclusão de: cerca de vinte e quatro horas após o congelamento, transferir a caixa para o freezer a $-70^\circ\text{C}$ e manter por mais 24 horas de acordo com o descrito nos itens 6.2.4.2. a-c do POP nº 65.3430.032 referente à Criopreservação de Linhagens de Células Animais; transferir os frascos para o reservatório de nitrogênio líquido para estocagem.
6.5.4.5.l	Após "estocagem" inclusão de: no mínimo 72 horas após o congelamento." Com a exclusão do item k, o item l passou a ser item k.
6.5.4.6	Exclusão de: "O descongelamento das células a partir dos reservatórios de nitrogênio líquido, deverá ser realizado de acordo com o descrito nos itens 6.1.1 e 6.1.2 do POP nº 65.3330.016 referente ao ensaio "in vitro" de efeito "clustering" em células CHO".
6.5.4.6.a	Substituição do item "a) remover o frasco do reservatório de nitrogênio líquido" por: "localizar o criotubo a ser descongelado no caderno "Botijão Criobiológico";
6.5.4.6.b	l) Alteração de: "para descongelar as células, colocar o frasco em banho-maria a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ com constante agitação até o descongelamento da suspensão celular;" para: "em fluxo laminar adicionar 5 mL de MEM completo (ver 6.3.7), porém com 10% de soro fetal bovino à garrafa plástica de $25 \text{ cm}^2$ e mantê-la em estufa a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ e com $5 \pm 1\%$ de $\text{CO}_2$ ;
6.5.4.6.c	Alteração de:" transferir o conteúdo do frasco com pipeta Pasteur para garrafa de cultura plástica de $25 \text{ cm}^2$ com 5 mL de MEM completo (ver 6.3.8);" para: "pelo menos 1h após a colocação da garrafa em estufa, retirá-la da estufa colocando-a em fluxo laminar, antes da remoção do criotubo do reservatório de nitrogênio líquido utilizando EPIs adequados (protetor facial e luva);"
6.5.4.6.d	Alteração de: "homogeneizar suavemente com pipeta Pasteur" para: "para descongelar as células, colocar o frasco em banho-maria a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ com constante agitação até o descongelamento da suspensão celular;"

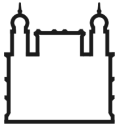


<b>TÍTULO:</b> <b>ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3330.010</b>
---	-------------------------------------

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

6.5.4.6.e	Alteração de: “incubar em estufa umidificada, a $37 \pm 1$ °C com $5 \pm 1\%$ de CO <sub>2</sub> ,” para: “após o descongelamento, fazer a assepsia do criotubo com gaze embebida em álcool 70% antes da sua introdução no fluxo laminar;”
6.5.4.6.f	Alteração de: “aproximadamente vinte e quatro horas após o descongelamento, retirar o meio de cultura com DMSO e substituí-lo por 5 mL de MEM completo; no caso de glicerol como agente crioprotetor, retirar o meio de cultura aproximadamente quarenta e oito horas após o descongelamento substituindo-o por 5 mL de MEM completo (ver 6.3.8); “ para: “transferir o conteúdo do frasco com pipeta Pasteur para garrafa de cultura plástica de 25 cm <sup>2</sup> com 5 mL de MEM completo (ver 6.5.4.6.b)
6.5.4.6.g	Alteração de: “realizar pelo menos dois subcultivos após o descongelamento antes do emprego em ensaios de citotoxicidade” para:”homogeneizar suavemente com pipeta Pasteur;”
6.5.4.6.e	O atual item e):”incubar em estufa umidificada, a $37 \pm 1$ °C com $5 \pm 1\%$ de CO <sub>2</sub> ,” passa a ser o novo item h.
6.5.4.6.i	Inclusão de novo item i:”aproximadamente vinte e quatro horas após o descongelamento, observar a cultura celular ao microscópio invertido para verificar a adesão celular;
6.5.4.6	Inclusão de novo item j): “retirar o meio de cultura com DMSO e substituí-lo por 5 mL de MEM completo (ver 6.3.7.b); no caso de glicerol como agente crioprotetor, retirar o meio de cultura aproximadamente quarenta e oito horas após o descongelamento substituindo-o por 5 mL de MEM completo (ver 6.3.7.b)”
6.5.4.6.g	Inclusão de novo item k):”realizar pelo menos dois subcultivos após o descongelamento antes do emprego em ensaios de citotoxicidade.” (atual item g na revisão 12)
6.5.4.6	Inclusão de novo item l): “realizar o registro do descongelamento das células na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares (Anexo D) deste POP; “ Inclusão de novo item m): “os dados relativos ao descongelamento a serem preenchidos na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares são os seguintes: número de passagem, n° de ampolas descongeladas, Linhagem, Origem, data do descongelamento, N° de garrafas subcultivadas, Meio de Cultura, Soro, Antibiótico, Glutamina, Tripsina com EDTA, PBS, Materiais utilizados (como lotes de esterilização de vidraria, pipetas, ponteiras, lotes de placas ou garrafas plásticas) e observações adicionais em OBS.”

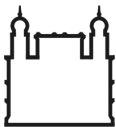




<b>TÍTULO:</b> <b>ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3330.010</b>
---	-------------------------------------

7.4.1.a	d) Alteração de: “preparar uma suspensão celular (fazendo uma contagem na câmara de Neubauer) contendo $1 \times 10^5$ a $1,5 \times 10^5$ células por mL em meio MEM completo (ver 6.3.8);” para: “preparar uma suspensão de células L-929 contendo cerca de $1 \times 10^5$ células por mL em meio MEM completo (ver 6.5.4.3 e 6.5.4.4);”
7.4.1.b	Após “placa” inclusão de: “plástica de cultura (3,5 cm de diâmetro);”
7.4.2.f	Colocação da palavra “aproximadamente” no mesmo padrão de cor do texto.
7.4.3.c	Após “Excel” alteração de: “nomeada Citotoxicidade_in vitro_Anexo C no endereço G:\LTOX\EnsaioToxicológico\Citotoxicidade;” para: “no Anexo C nomeada Planilha de Cálculos do Ensaio de Citotoxicidade_In Vitro – Método de Difusão em Agar no endereço G:\LTOX\EnsaioToxicológico\Citotoxicidade_in vitro_Anexo C.xlsx.
Tabela 2	Na descrição da zona de citotoxicidade para o grau 2, alteração de “0,5 cm” para: “0,45 cm”; para o grau 3, alteração de “0,5 cm a 1,0 cm” para: “0,45 cm a 1,0 cm”.

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR****NÚMERO**  
**65.3330.010****CÓPIA NÃO CONTROLADA**

Inclusão de 7 novos itens numerados de 8.2 a 8.8

O item 8.2 (12º revisão) passa a ser 8.9. Desta forma o item 8.2 na 13ª revisão ficou com a seguinte redação: “8.2-Para maximizar a viabilidade celular e reprodutibilidade, deverá ser empregado o meio de cultura suplementado conforme item 6.3.7, que corresponde ao meio de cultura final utilizado para o cultivo das células sob as condições de temperatura e de atmosfera gasosa estabelecidas em 6.5.4.2.”

8.3 – Para garantir a qualidade e consistência nos ensaios com culturas celulares e obtenção de resultados reprodutíveis é essencial o emprego de soro fetal bovino inativado pelo calor, estéril, livre de micoplasmas testado em cultura de células de mamífero com grau de qualidade ou de pureza certificado.

8.4 – Todos os registros referentes à manutenção das culturas e de preparo de todas as soluções deverão ser realizados em formulários apropriados como indicado nos itens 6.5.4.2 e 6.3.

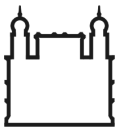
8.5 - As culturas de células L-929 deverão ser observadas ao microscópio invertido pelo menos a cada dois dias durante a semana, quanto à morfologia típica fibroblástica e à densidade celular. O registro deverá ser realizado na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares (Anexo D) deste POP.

8.6 – Antes da realização do ensaio de citotoxicidade, as culturas deverão ser subcultivadas através da técnica de tripsinização nas proporções de 1:2 ou 1:10 conforme item 6.5.4.3, para reduzir a densidade celular a um nível adequado para o crescimento e divisão celular.

8.7 - No caso de descongelamento de células (item 6.5.4.6) deverão ser realizados pelo menos dois subcultivos antes do seu emprego no ensaio de citotoxicidade. O registro do descongelamento das células deverá ser realizado na Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares (Anexo D) deste POP.

8.8 – Deverão ser empregadas no ensaio de citotoxicidade culturas com monocamada celular uniforme próxima à confluência (confluência superior a 80%) de acordo com o item 7.4.2. A reprodutibilidade do ensaio depende da obtenção de densidade de cultura celular uniforme.

- O item 8.2 (12º revisão) passa a ser: “8.9- A análise estatística realizada com os resultados dos controles positivos utilizados desde 1987 até os dias atuais estão na planilha gráfica Excel nomeada como citotoxicidade controle no endereço rede \LTOX\EnsaioToxicológico\Citotoxicidade-controle.xls”



<b>TÍTULO:</b> <b>ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR</b>	<b>NÚMERO</b> <b>65.3330.010</b>
---	-------------------------------------

Anexos	<p>Anexo A: Alteração no rodapé de: “POP 65.3330.010-Anexo A - f.01 – Rev.12 Classificação:542” para: “POP 65.3330.010 - Anexo A – Rev.13 Classificação:542”.</p> <p>Anexo B fl.1: Alteração no rodapé de: “POP 65.3330.010-Anexo B - Rev.12 Classificação:542” para: “POP 65.3330.010 - Anexo B – fl.1-Rev.13 Classificação:542”.</p> <p>Anexo B fl.2: Alteração do título de: “ENSAIO DE CITOTOXICIDADE “IN VITRO” MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR” para: “RESULTADOS DO ENSAIO DE CITOTOXICIDADE “IN VITRO” MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR”. No rodapé alteração de: “POP 65.3330.010-Anexo A - fl.2 – Rev.12 Classificação:542” para: “POP 65.3330.010-Anexo B - fl.2 – Rev.13 Classificação:542”.</p> <p>ANEXO C: Inclusão de título: “PLANILHA DE CÁLCULOS DO ENSAIO DE CITOTOXICIDADE “IN VITRO” MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR”. No rodapé, alteração de: “POP 65.3330.010-Anexo A Classificação:542” para: “POP 65.3330.010-Anexo C-Rev.13 Classificação:542”.</p> <p>Inclusão de novo Anexo D: “Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares”</p>
--------	--

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

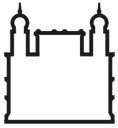
## 11.AVALIAÇÃO DA BIBLIOGRAFIA

Bibliografia avaliada e atualizada.

Atualização de: “AMERICAN Society for Testing and Materials 1916. Standard test method for agar diffusion cell culture screening for cytotoxicity. ASTM Designation F 895-84. Philadelphia PA 19103.” para: “AMERICAN Society for Testing and Materials 2006. Standard test method for agar diffusion cell culture screening for cytotoxicity. ASTM Designation F 895-84. Philadelphia PA 19103.

Exclusão das seguintes publicações: ENSAIO In Vitro de Efeito “Clustering” em Células CHO. In: MANUAL da Qualidade, Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. Seção 4.3 (65.3330.016); CRIOPRESERVAÇÃO de Linhagens de Células Animais. In: MANUAL da Qualidade, Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. Seção 4.3 (65.3430.032); DESCARTE de Resíduos Químico – Tóxico e/ou perigoso. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. (65.1120.079).

Atualização de “THE UNITED States Pharmacopeia. 35 ed. National Formulary 30. Rockville: U.S. Pharmacopeial, 2012. [87] Biological Reactivity Tests, In Vitro: Agar Diffusion Test. United States Pharmacopeial Convention. PENDRIVE. Integrated through First Supplement” para: “THE UNITED



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



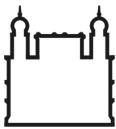
**TÍTULO:**      **ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

States Pharmacopeia. 37 ed. National Formulary 32. Rockville: U.S. Pharmacopeial, 2014. [87] Biological Reactivity Tests, In Vitro: Agar Diffusion Test. United States Pharmacopeial Convention. Inclusão de: UTILIZAÇÃO, Controle e Manutenção das Cabines de Segurança Biológica do DFT. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. (65.3300.008).

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**

-----  
/ANEXO A



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde





**TÍTULO:** ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

ANEXO A

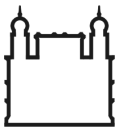
ENSAIO DE CITOTOXICIDADE "IN VITRO" – MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR

		Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde			
<b>ENSAIO DE CITOTOXICIDADE "IN VITRO"</b> <b>METODO DE DIFUSAO EM AGAR</b>					
Analista:					
Início:			Término:		
Células: LS29			pH/célis:		
Corante: Vermelho Neutro			mL/Orifício do Corante: 1mL		
Controle Negativo: Plástico Aléxico (USP)					
Controle Positivo: Látex Tóxico (Lemp. T200)					
<b>DADOS DOS EQUIPAMENTOS E INSTRUMENTOS UTILIZADOS</b>					
Estufa de CO <sub>2</sub> :			Fluxo laminar:		
Banho-maria (37°C ± 1 °C):			Banho-maria (44°C ± 1 °C):		
Microscópio Invertido:			pHmetro:		
Lote das placas de cultura:					
Lotes de esterilização das vidrarias:					
<b>METODOLOGIA</b>					
<b>Cálculo da Concentração Celular nas Placas</b>					
100.000cels/mL - 400.000cels/ 4mL-					
Nº de Placas:					
Nº de Orifícios:			mL/Placas: 4ml		
Preparo do Meio 1X Concentrado (1XC):					
Meio 1XC:					
3%SPB:					
Suspensão Celular:					
Contagem das Células na Câmara de Neubauer:					
Total:					
÷ 4:					
x 10 <sup>4</sup> :					
Nº de Placas:			mL/Placas: 1ml		
Nº de Orifícios:					
Preparo do Meio 2X Concentrado (2XC):					
Meio 2XC:					
3%SPB: -					
Agar /Vermelho Neutro:					

POP 65.3330.010 - Anexo A - Rev. 13  
CLASSIFICAÇÃO: S42

-----  
/ANEXO B

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

**ANEXO B**

**RESULTADOS DO ENSAIO DE CITOTOXICIDADE "IN VITRO" – MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**



Ministério da Saúde

**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**RESULTADOS DO ENSAIO DE CITOTOXICIDADE "IN VITRO"**  
**MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR**

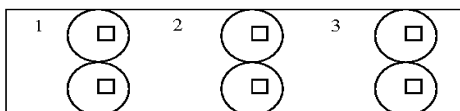
Analista:	
Início:	Término:
Amostras:	

**LEITURA DAS PLACAS**

Amostra:				
Orifício: 1	1ºQ*(mm):	Orifício: 4	1ºQ*(mm):	MG***(cm):
	2ºQ*(mm):		2ºQ*(mm):	
	3ºQ*(mm):		3ºQ*(mm):	
	4ºQ*(mm):		4ºQ*(mm):	
	M**(cm):		M**(cm):	
Resultado: Satisfatório ( ) Insatisfatório ( ) Repetir ( )				
Amostra:				
Orifício: 2	1ºQ*(mm):	Orifício: 5	1ºQ*(mm):	MG***(cm):
	2ºQ*(mm):		2ºQ*(mm):	
	3ºQ*(mm):		3ºQ*(mm):	
	4ºQ*(mm):		4ºQ*(mm):	
	M**(cm):		M**(cm):	
Resultado: Satisfatório ( ) Insatisfatório ( ) Repetir ( )				
Amostra:				
Orifício: 3	1ºQ*(mm):	Orifício: 6	1ºQ*(mm):	MG***(cm):
	2ºQ*(mm):		2ºQ*(mm):	
	3ºQ*(mm):		3ºQ*(mm):	
	4ºQ*(mm):		4ºQ*(mm):	
	M**(cm):		M**(cm):	
Resultado: Satisfatório ( ) Insatisfatório ( ) Repetir ( )				

\*Quadrante    \*\*Média    \*\*\*Média Geral

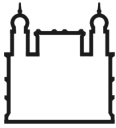
**DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS NA PLACA**



POP 65.3330.010 – Anexo B-III.1 - Rev. 13  
CLASSIFICAÇÃO: 542

-----  
/ANEXO B - Cont.

**CÓPIA NÃO CONTROLADA**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



<b>TÍTULO:</b> ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR	<b>NÚMERO</b> <b>65.3330.010</b>
--	-------------------------------------

ANEXO B – Cont.

RESULTADOS DO ENSAIO DE CITOTOXICIDADE “IN VITRO” - MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**RESULTADOS DO ENSAIO DE CITOTOXICIDADE “IN VITRO”**  
**MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

Controle: - Controle das Células (Cels):						
Orifício: 1	1ºQ* (mm):		Orifício: 4	1ºQ* (mm):		MG***(cm):  Resultado: Satisfatório ( ) Insatisfatório ( ) Repetir ( )
	2ºQ* (mm):			2ºQ* (mm):		
	3ºQ* (mm):			3ºQ* (mm):		
	4ºQ* (mm):			4ºQ* (mm):		
	M** (cm):			M** (cm):		
Controle: - Controle Negativo (C):						
Orifício: 2	1ºQ* (mm):		Orifício: 5	1ºQ* (mm):		MG***( cm):  Resultado: Satisfatório ( ) Insatisfatório ( ) Repetir ( )
	2ºQ* (mm):			2ºQ* (mm):		
	3ºQ* (mm):			3ºQ* (mm):		
	4ºQ* (mm):			4ºQ* (mm):		
	M (cm):			M** (cm):		
Controle: - Controle Positivo (C+):						
Orifício: 3	1ºQ* (mm):		Orifício: 6	1ºQ* (mm):		MG***(cm):  Resultado: Satisfatório ( ) Insatisfatório ( ) Repetir ( )
	2ºQ* (mm):			2ºQ* (mm):		
	3ºQ* (mm):			3ºQ* (mm):		
	4ºQ* (mm):			4ºQ* (mm):		
	M** (cm):			M** (cm):		
Controle: - Controle Branco (C):						
Orifício:	1ºQ* (mm):		Orifício:	1ºQ* (mm):		MG***(cm):  Resultado: Satisfatório ( ) Insatisfatório ( ) Repetir ( )
	2ºQ* (mm):			2ºQ* (mm):		
	3ºQ* (mm):			3ºQ* (mm):		
	4ºQ* (mm):			4ºQ* (mm):		
	M** (cm):			M** (cm):		

\*Quadrante

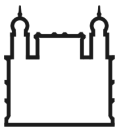
\*\*Média

\*\*\*Média Geral

POP 65.3330.010 – Anexo B – II.2 – Rev. 13  
CLASSIFICAÇÃO: 542

CÓPIA NÃO CONTROLADA

-----  
/ANEXO C



**TÍTULO:** ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR

**NÚMERO**  
**65.3330.010**

ANEXO C

PLANILHA DE CÁLCULOS DO ENSAIO DE CITOTOXICIDADE "IN VITRO" – MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR

CÓPIA NÃO CONTROLADA

PLANILHA DE CÁLCULOS DO ENSAIO DE CITOTOXICIDADE "IN VITRO" - MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR

Ministério da Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

INCQS

Analista: \_\_\_\_\_  
Início: \_\_\_\_\_ Término: \_\_\_\_\_

Amostra: _____					
Orifício 1	1ª Q (mm):		Orifício 4	1ª Q (mm):	
	2ª Q (mm):			2ª Q (mm):	
	3ª Q (mm):			3ª Q (mm):	
	4ª Q (mm):			4ª Q (mm):	
	M <sub>1</sub> ª Q (cm):	#DIV/0!		M <sub>4</sub> ª Q (cm):	#DIV/0!
MG <sub>1,4</sub> (cm): #DIV/0!					
Amostra: _____					
Orifício 2	1ª Q (mm):		Orifício 5	1ª Q (mm):	
	2ª Q (mm):			2ª Q (mm):	
	3ª Q (mm):			3ª Q (mm):	
	4ª Q (mm):			4ª Q (mm):	
	M <sub>2</sub> ª Q (cm):	#DIV/0!		M <sub>5</sub> ª Q (cm):	#DIV/0!
MG <sub>2,5</sub> (cm): #DIV/0!					
Amostra: _____					
Orifício 3	1ª Q (mm):		Orifício 6	1ª Q (mm):	
	2ª Q (mm):			2ª Q (mm):	
	3ª Q (mm):			3ª Q (mm):	
	4ª Q (mm):			4ª Q (mm):	
	M <sub>3</sub> ª Q (cm):	#DIV/0!		M <sub>6</sub> ª Q (cm):	#DIV/0!
MG <sub>3,6</sub> (cm): #DIV/0!					

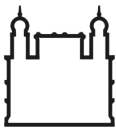
MG<sub>1,4</sub> Média Geral dos Orifícios 1 e 4

Média das quadrantes

POP 65.3330.010 - Anexo C Rev.13  
CLASSIFICAÇÃO: 142

/ANEXO D





Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO 65.3330.010**

ANEXO D

FICHA DE ACOMPANHAMENTO DE CULTURAS CELULARES



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares.

Folha Nº: \_\_\_\_\_

**Descongelamento:**

Passagem: # \_\_\_\_\_ Nº de Ampolas: \_\_\_\_\_ Linhagem: \_\_\_\_\_ Origem: \_\_\_\_\_  
Data do Descongelamento: \_\_\_\_\_ Nº de garrafas subcultivadas: \_\_\_\_\_  
Meio de cultura: \_\_\_\_\_ Soro: \_\_\_\_\_  
Antibiótico: \_\_\_\_\_ Glutamina: \_\_\_\_\_  
Tripsina com EDTA: \_\_\_\_\_ PBS: \_\_\_\_\_  
Materiais Utilizados: \_\_\_\_\_

**OBS:**

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Passagem: \_\_\_\_\_ Nº de garrafas: \_\_\_\_\_ Densidade Celular: \_\_\_\_\_ % de confluência  
Aspectos Morfológicos Celulares: Fibroblasto (\_\_\_) Epitelial (\_\_\_) Linfoblástica (\_\_\_)  
Meio de cultura/Lote: \_\_\_\_\_ Soro/Lote: \_\_\_\_\_ Antibiótico/Lote: \_\_\_\_\_  
Glutamina/Lote: \_\_\_\_\_ Tripsina com EDTA/Lote: \_\_\_\_\_ PBS/Lote: \_\_\_\_\_  
Nº Garrafa/área: \_\_\_\_\_ Diluição: \_\_\_\_\_ Volume de suspensão: \_\_\_\_\_ mL Passagem atual: \_\_\_\_\_  
Materiais Utilizados: \_\_\_\_\_

**OBS:**

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Passagem: \_\_\_\_\_ Nº de garrafas: \_\_\_\_\_ Densidade Celular: \_\_\_\_\_ % de confluência  
Aspectos Morfológicos Celulares: Fibroblasto (\_\_\_) Epitelial (\_\_\_) Linfoblástica (\_\_\_)  
Meio de cultura/Lote: \_\_\_\_\_ Soro/Lote: \_\_\_\_\_ Antibiótico/Lote: \_\_\_\_\_  
Glutamina/Lote: \_\_\_\_\_ Tripsina com EDTA/Lote: \_\_\_\_\_ PBS/Lote: \_\_\_\_\_  
Nº Garrafa/área: \_\_\_\_\_ Diluição: \_\_\_\_\_ Volume de suspensão: \_\_\_\_\_ mL Passagem atual: \_\_\_\_\_  
Materiais Utilizados: \_\_\_\_\_

**OBS:**

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Passagem: \_\_\_\_\_ Nº de garrafas: \_\_\_\_\_ Densidade Celular: \_\_\_\_\_ % de confluência  
Aspectos Morfológicos Celulares: Fibroblasto (\_\_\_) Epitelial (\_\_\_) Linfoblástica (\_\_\_)  
Meio de cultura/Lote: \_\_\_\_\_ Soro/Lote: \_\_\_\_\_ Antibiótico/Lote: \_\_\_\_\_  
Glutamina/Lote: \_\_\_\_\_ Tripsina com EDTA/Lote: \_\_\_\_\_ PBS/Lote: \_\_\_\_\_  
Nº Garrafa/área: \_\_\_\_\_ Diluição: \_\_\_\_\_ Volume de suspensão: \_\_\_\_\_ mL Passagem atual: \_\_\_\_\_  
Materiais Utilizados: \_\_\_\_\_

**OBS:**

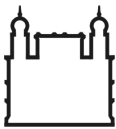
Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Passagem: \_\_\_\_\_ Nº de garrafas: \_\_\_\_\_ Densidade Celular: \_\_\_\_\_ % de confluência  
Aspectos Morfológicos Celulares: Fibroblasto (\_\_\_) Epitelial (\_\_\_) Linfoblástica (\_\_\_)  
Meio de cultura/Lote: \_\_\_\_\_ Soro/Lote: \_\_\_\_\_ Antibiótico/Lote: \_\_\_\_\_  
Glutamina/Lote: \_\_\_\_\_ Tripsina com EDTA/Lote: \_\_\_\_\_ PBS/Lote: \_\_\_\_\_  
Nº Garrafa/área: \_\_\_\_\_ Diluição: \_\_\_\_\_ Volume de suspensão: \_\_\_\_\_ mL Passagem atual: \_\_\_\_\_  
Materiais Utilizados: \_\_\_\_\_

**OBS:**

POP - 65.3330.010 - Anexo D - II, 1 - Rev.13  
CLASSIFICAÇÃO: 542

-----  
/ANEXO D- Cont.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



Ministério da Saúde

**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



**TÍTULO: ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO-MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR**

**NÚMERO 65.3330.010**

ANEXO D – Cont.

FICHA DE ACOMPANHAMENTO DE CULTURAS CELULARES



Ministério da Saúde

**FIUCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



Ficha de Acompanhamento de Culturas Celulares.

Folha Nº: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Passagem: \_\_\_\_\_ Nº de garrafas: \_\_\_\_\_ Densidade Celular: \_\_\_\_\_ % de confluência  
 Aspectos Morfológicos Celulares: Fibroblasto (\_\_\_) Epitelial (\_\_\_) Linfoblástica (\_\_\_)  
 Meio de cultura/Lote: \_\_\_\_\_ Soro/Lote: \_\_\_\_\_ Antibiótico/Lote: \_\_\_\_\_  
 Glutamina/Lote: \_\_\_\_\_ Tripsina com EDTA/Lote: \_\_\_\_\_ PBS/Lote: \_\_\_\_\_  
 Nº Garrafa/área: \_\_\_\_\_ Diluição: \_\_\_\_\_ Volume de suspensão: \_\_\_\_\_ mL Passagem atual: \_\_\_\_\_  
 Materiais Utilizados: \_\_\_\_\_  
 OBS: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Passagem: \_\_\_\_\_ Nº de garrafas: \_\_\_\_\_ Densidade Celular: \_\_\_\_\_ % de confluência  
 Aspectos Morfológicos Celulares: Fibroblasto (\_\_\_) Epitelial (\_\_\_) Linfoblástica (\_\_\_)  
 Meio de cultura/Lote: \_\_\_\_\_ Soro/Lote: \_\_\_\_\_ Antibiótico/Lote: \_\_\_\_\_  
 Glutamina/Lote: \_\_\_\_\_ Tripsina com EDTA/Lote: \_\_\_\_\_ PBS/Lote: \_\_\_\_\_  
 Nº Garrafa/área: \_\_\_\_\_ Diluição: \_\_\_\_\_ Volume de suspensão: \_\_\_\_\_ mL Passagem atual: \_\_\_\_\_  
 Materiais Utilizados: \_\_\_\_\_  
 OBS: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Passagem: \_\_\_\_\_ Nº de garrafas: \_\_\_\_\_ Densidade Celular: \_\_\_\_\_ % de confluência  
 Aspectos Morfológicos Celulares: Fibroblasto (\_\_\_) Epitelial (\_\_\_) Linfoblástica (\_\_\_)  
 Meio de cultura/Lote: \_\_\_\_\_ Soro/Lote: \_\_\_\_\_ Antibiótico/Lote: \_\_\_\_\_  
 Glutamina/Lote: \_\_\_\_\_ Tripsina com EDTA/Lote: \_\_\_\_\_ PBS/Lote: \_\_\_\_\_  
 Nº Garrafa/área: \_\_\_\_\_ Diluição: \_\_\_\_\_ Volume de suspensão: \_\_\_\_\_ mL Passagem atual: \_\_\_\_\_  
 Materiais Utilizados: \_\_\_\_\_  
 OBS: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Passagem: \_\_\_\_\_ Nº de garrafas: \_\_\_\_\_ Densidade Celular: \_\_\_\_\_ % de confluência  
 Aspectos Morfológicos Celulares: Fibroblasto (\_\_\_) Epitelial (\_\_\_) Linfoblástica (\_\_\_)  
 Meio de cultura/Lote: \_\_\_\_\_ Soro/Lote: \_\_\_\_\_ Antibiótico/Lote: \_\_\_\_\_  
 Glutamina/Lote: \_\_\_\_\_ Tripsina com EDTA/Lote: \_\_\_\_\_ PBS/Lote: \_\_\_\_\_  
 Nº Garrafa/área: \_\_\_\_\_ Diluição: \_\_\_\_\_ Volume de suspensão: \_\_\_\_\_ mL Passagem atual: \_\_\_\_\_  
 Materiais Utilizados: \_\_\_\_\_  
 OBS: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Passagem: \_\_\_\_\_ Nº de garrafas: \_\_\_\_\_ Densidade Celular: \_\_\_\_\_ % de confluência  
 Aspectos Morfológicos Celulares: Fibroblasto (\_\_\_) Epitelial (\_\_\_) Linfoblástica (\_\_\_)  
 Meio de cultura/Lote: \_\_\_\_\_ Soro/Lote: \_\_\_\_\_ Antibiótico/Lote: \_\_\_\_\_  
 Glutamina/Lote: \_\_\_\_\_ Tripsina com EDTA/Lote: \_\_\_\_\_ PBS/Lote: \_\_\_\_\_  
 Nº Garrafa/área: \_\_\_\_\_ Diluição: \_\_\_\_\_ Volume de suspensão: \_\_\_\_\_ mL Passagem atual: \_\_\_\_\_  
 Materiais Utilizados: \_\_\_\_\_  
 OBS: \_\_\_\_\_

POP – 65.3330.010 – Anexo D – II.2 – Rev.13  
CLASSIFICAÇÃO: 542

CÓPIA NÃO CONTROLADA

## APÊNDICE A

## HISTÓRICO DO PRESERVATIVO MASCULINO

Texto histórico traduzido do livro “The Humble Little Condom: A History. Amherst” de Aine Collier.

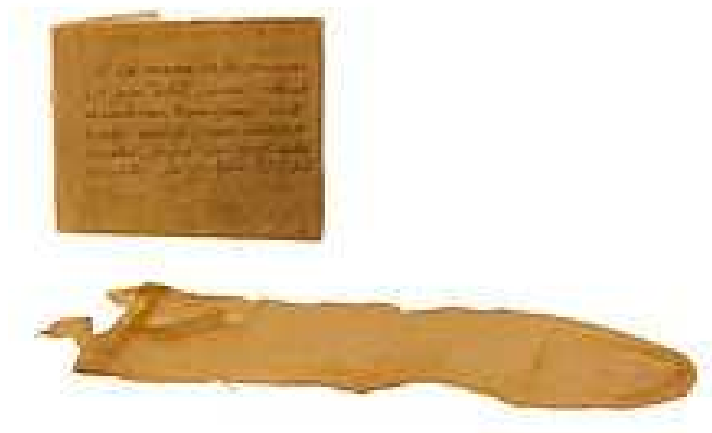
## Da Antiguidade ao século XIX

A utilização de preservativos na Antiguidade é objeto de debate entre arqueólogos e historiadores. Nas civilizações egípcia, grega e romana, a prevenção da gravidez era geralmente vista como responsabilidade da mulher, e os únicos métodos contraceptivos amplamente documentados são métodos controlados pela mulher. Na Ásia anterior ao século XV há registo do uso de preservativos que apenas cobriam a glândula do pênis, embora tal fosse restrito às classes superiores e apenas com o intuito contraceptivo. Na China, é provável que os preservativos para a glândula tenham sido fabricados em papel de seda oleado ou a partir de intestino de cordeiro.

Na Itália do século XVI, Gabrielle Fallopio, mais conhecido sob o nome de Gabriel Fallope, nascido em Modena, em 1523, escreveu um tratado sobre a sífilis, no qual inclui a mais antiga descrição incontestada do uso de preservativos. Refere o uso panos de linho mergulhados numa solução química, posteriormente seca antes de serem usados. O tecido era usado para cobrir a glândula do pênis e seguro no local através de um laço (COLLIER, 2007). Fallopio alegava que um ensaio experimental da folha de linho tinha demonstrado ser eficaz na proteção contra a sífilis (YOUSSEF, 1993).

A primeira indicação dos preservativos usados para controle de natalidade, e não apenas para doenças, é uma obra teológica de 1605 (*De iustitia et iure* - Da Justiça e da Lei), de autoria do teólogo católico Leonardus Lessius, que condenava os preservativos como imorais. Durante o Renascimento os preservativos eram feitos de intestinos e tecido da bexiga. Em finais do século XV, os comerciantes holandeses introduziram no Japão preservativos feitos de pele que cobriam o pênis por completo. A figura 1 mostra o preservativo em 1813 e o manual que o acompanhava em latim.

Figura 1 - Preservativo e o manual de uso em [latim](#), 1813



Fonte: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Condom\\_with\\_manual\\_from\\_1813.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Condom_with_manual_from_1813.jpg)

A partir do século XVIII, o uso do preservativo encontrou oposição em alguns círculos religiosos, médicos e legislativos, devidos essencialmente às mesmas razões apontadas ainda hoje: os preservativos reduzem a probabilidade de gravidez, o que alguns defendem ser imoral ou indesejável; não oferecem proteção total em relação a infecções sexualmente transmissíveis – (alega-se que acreditando nesta imunidade pode levar a promiscuidade sexual); e não são usados de forma consistente devido à pouca conveniência, custo ou diminuição da sensação física. Apesar de algumas oposições, o mercado do preservativo cresceu rapidamente. Em meados do século XVIII os preservativos já estavam amplamente disponíveis, fabricados a partir de linho tratado com químicos ou pele (da bexiga ou intestino), amaciada através de um tratamento à base de enxofre e lixívia (português europeu) ou água sanitária (português brasileiro). Eram vendidos em tabernas, barbearias, drogarias, mercados ao ar livre e em teatros por toda a Europa e Rússia. Mais tarde começaram a ser comercializados na América, embora geralmente fossem apenas usados pelas classes média e alta, devido ao elevado custo e ausência de educação sexual.

De 1800 até à década de 1920

Durante início do século XIX assistiu-se pela primeira vez à promoção de contraceptivos entre as classes mais desfavorecidas. No entanto, os especialistas em contracepção continuavam a preferir outros métodos de controle de natalidade.

As feministas deste período defendiam que a contracepção deveria ser uma questão exclusiva da mulher e desaprovavam métodos controlados pelo homem, como o preservativo. Vários autores citam também o facto dos preservativos serem dispendiosos e pouco confiáveis (era frequente orifícios, deslizarem ou rasgarem), embora referissem que para alguns pudesse ser uma boa opção e que o preservativo era o único contraceptivo que também protegia contra doenças. Vários países adotaram leis que impediam a fabricação e a promoção de contraceptivos. Apesar destas restrições, os preservativos começam a ser promovidos em anúncios de jornais e em campanhas de rua, recorrendo a eufemismos em locais onde a sua divulgação era proibida. Na Europa e nos Estados Unidos eram muitas vezes distribuídas instruções para fabricação de preservativos em casa.

A partir da segunda metade do século XIX, a incidência de Infecções Sexualmente Transmissíveis disparou nos Estados Unidos. Entre as causas apontadas pelos historiadores estão a Guerra Civil e ignorância em relação aos métodos de contracepção, devido à Lei de Comstock<sup>1</sup>.

Para combater a crescente epidemia foram criadas pela primeira vez aulas de educação sexual nas escolas públicas, que esclareciam o público em relação a doenças venéreas - hoje DST's - e à sua transmissão, embora geralmente ensinassem que a abstinência era a única forma de prevenção. O preservativo não era promovido, uma vez que a comunidade médica e alguns setores da sociedade consideravam as DST's um castigo por conduta sexual imprópria. O estigma contra as vítimas destas doenças era de tal ordem que muitos hospitais se recusavam a tratar doentes com sífilis. Apesar da oposição social e legal, em finais do século XIX o preservativo já era o mais popular

---

<sup>1</sup> A Lei Comstock é uma lei federal aprovada pelo Congresso dos Estados Unidos em 3 de março de 1873. Define a "supressão do comércio, e Circulação" de artigos e literaturas considerados de uso imoral, incluindo os preservativos.

método contraceptivo no Ocidente. A figura 2 mostra uma litografia de 1860 onde, uma mulher insufla um preservativo verificando se existem eventuais orifícios. Nesta época, os preservativos eram reutilizados diversas vezes.

*A Amante Cautelosa*, litografia de 1860.



Fonte: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nicolas\\_Tassaert-Die\\_vorsichtige\\_Geliebte.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nicolas_Tassaert-Die_vorsichtige_Geliebte.jpg)

Em 1839, Charles Goodyear descobriu uma forma de processar borracha natural de forma a torná-la consistentemente elástica, uma vez que, quando fria é muito rígida e, quando quente muito flexível. Isto iria ter implicações na fabricação dos preservativos, uma vez que ao contrário dos preservativos de origem animal, os preservativos de borracha podiam esticar e não se rompiam facilmente durante o sexo. O processo de vulcanização foi patenteado por Goodyear em 1844.

Os primeiros preservativos de borracha tinham uma costura, sendo tão espessos como a câmara de ar de uma bicicleta. Durante várias décadas, os preservativos de borracha eram fabricados envolvendo tiras de borracha crua em torno de um molde com a forma do pênis, depois mergulhado numa solução química para a cura da borracha.

Em 1912, o inventor polaco Julius Fromm desenvolveu uma nova técnica de fabricação de preservativos, mergulhando moldes de vidro numa solução de borracha. Este método exigia que fosse acrescentada gasolina ou benzina à borracha para a tornar líquida. Em 1920 foi inventado o látex, que consiste em borracha suspensa em água. A produção de preservativos de látex era menos

trabalhosa do que o mergulho em borracha, que depois necessitava de ser amaciada e cortada. A utilização de água para suspender a borracha em vez de gasolina ou benzina eliminou o risco de incêndios associado às fabricas de preservativos. Os preservativos de látex eram também superiores do ponto de vista da utilização: mais resistentes e mais finos do que os de borracha e com um prazo de validade de cinco anos, quando comparado com os três meses dos de borracha.

Até à década de 1920, todos os preservativos eram fabricados à mão por operários pouco qualificados. Ao longo dessa década foram introduzidos vários processos automáticos, sendo a primeira linha totalmente automatizada introduzida em 1930. Os maiores fabricantes de preservativos adquirem linhas de produção mecanizadas, afastando os pequenos produtores do mercado. Os preservativos de pele, agora bastante mais caros do que os de látex, tornam-se restritos a um nicho de mercado.

O exército alemão foi o primeiro a promover o uso do preservativo entre os soldados, a partir de finais do século XIX. Algumas experiências norte-americanas durante o início do século XX concluíram que distribuir preservativos entre os soldados diminuía consideravelmente as taxas de infecção com Infecções Sexualmente Transmissíveis. Todos os países intervenientes na Primeira Guerra Mundial, à exceção dos Estados Unidos, distribuíram preservativos entre o exército, promovendo o seu uso através de várias campanhas. Durante o pós-guerra, os exércitos europeus continuaram a distribuir preservativos entre os soldados como forma de prevenir infecções até mesmo em países cujo uso era proibido entre a generalidade da população.

Nas décadas posteriores à I Guerra Mundial, continuaram a existir obstáculos sociais e legais em relação ao uso do preservativo por toda a Europa e América do Norte. Sigmund Freud opunha-se a qualquer método de controle de natalidade, alegando que a sua taxa de insucesso era muito elevada, opondo-se em particular ao uso do preservativo, que argumentava diminuir o prazer sexual. Algumas feministas continuavam a opor-se a métodos contraceptivos controlados pelo homem, como os preservativos.

Em 1920 as Conferências de Lambeth da Igreja Anglicana (Assembleias dos bispos, as autoridades eclesiais da Comunhão Anglicana, ocorridas a cada dez anos desde 1867, sendo dirigida pelo Arcebispo da Cantuária. As

Conferências de Lambeth são um dos "Instrumentos da Comunhão", juntamente com os Encontros das Primazes e o Conselho Consultivo. A origem do nome está associada ao Lambeth Palace, em Londres, residência oficial do Arcebispo da Cantuária) condenaram todos os "meios de evitar a concepção que não fossem naturais". Ao longo da década de 1920, o slogan facilmente memorizável e o cuidado com a embalagem tornam-se uma técnica de promoção cada vez mais importante para os bens de consumo, entre os quais os preservativos. O controle de qualidade torna-se cada vez mais comum, consistindo sobretudo no enchimento de cada preservativo com ar, seguido por vários métodos para detectar qualquer diminuição de pressão. Na mesma década, a venda de preservativos em escala mundial duplicou.

#### De 1930 à atualidade

Em 1930, as Conferências de Lambeth da Igreja Anglicana sancionam o uso de métodos contraceptivos por casais. Em 1931, o Conselho Nacional de Igrejas dos Estados Unidos emite uma declaração semelhante. A Igreja Católica Romana emite também a encíclica *Casti connubii*<sup>2</sup> afirmando a sua oposição a todos os contraceptivos, uma posição que ainda hoje mantém.

Ao longo da década de 1930 começa a haver maior permissividade nas restrições legais ao uso de preservativos. No entanto, a Itália fascista e a Alemanha nazista aumentam as restrições aos preservativos, embora tenham permitido a sua distribuição para a prevenção da transmissão de doenças. Ao longo da Segunda Guerra Mundial, o uso do preservativo foi amplamente promovido entre os exércitos através de filmes, cartazes e palestras, inclusive por parte da própria Alemanha, que em 1941 tinha proibido por completo o seu uso entre civis.

Após a guerra, as vendas de preservativos continuam a crescer. Entre 1955 e 1965, 42% dos norte-americanos em idade fértil usavam o preservativo como método preferencial de controle de natalidade. Na Inglaterra, entre 1950 e

---

<sup>2</sup> É uma encíclica promulgada pelo Papa Pio XI em 31 de dezembro de 1930. Reitera a santidade do matrimônio e proíbe aos católicos o uso de qualquer forma artificial de controle de natalidade e reafirma a proibição do aborto. Explana ainda sobre a autoridade da doutrina da Igreja em questões morais e advoga a cooperação entre o poder civil e a Igreja



1960, 60% dos casais casados usavam preservativos. No entanto, a partir de 1960, a pílula contraceptiva oral combinada tornar-se o método contraceptivo mais popular, embora o preservativo tenha continuado em segundo nas preferências do mundo Ocidental.

Nas décadas de 1960 e 1970, ao mesmo tempo em que é reforçada a regulamentação sobre qualidade, são removidos os últimos obstáculos legais ao uso de preservativos. Continuaram a haver, no entanto, algumas restrições em publicidade. Nos Estados Unidos, por exemplo, os anúncios televisivos a preservativos foram banidos até à revogação em 1979. No início da década de 1980, com a descoberta da AIDS, o uso de preservativos torna-se o maior aliado como método de prevenir a transmissão do HIV. Apesar da oposição de alguns setores políticos e religiosos, são realizadas várias campanhas nacionais de promoção do preservativo na Europa e na América do Norte, responsáveis pelo aumento significativo do seu uso.

Devido à crescente procura e uma maior aceitação social, os preservativos começam a ser vendidos nas mais diversas superfícies comerciais, incluindo supermercados, estações de serviço e máquinas de distribuição automática no exterior de farmácias e em locais de diversão noturna.

As vendas de preservativos aumentaram progressivamente até 1994, data em que a atenção da comunicação social à pandemia de AIDS começou a diminuir. O fenómeno do uso cada vez menor de preservativos para prevenir a transmissão de infecções tem sido denominado "fadiga da prevenção", sendo relatada tanto na Europa como na América do Norte. Em resposta, os fabricantes têm vindo a alterar o tom da publicidade, de assustadora para humorística.

O mercado dos preservativos continua a acolher inovações tecnológicas. O primeiro preservativo de poliuretano foi introduzido na década de 1990, e o primeiro com tamanho personalizado introduzido em 2003. Os preservativos estão disponíveis gratuitamente nas prisões da União Europeia, Brasil, Canadá, Austrália, Indonésia e África do Sul. Prevê-se que o uso de preservativos em escala global continue a crescer. Um estudo concluiu que em 2015 os países em vias de desenvolvimento precisarão de 18,8 milhões de preservativos.<sup>3</sup>

---

<sup>3</sup> Texto histórico traduzido do livro "The Humble Little Condom: A History. Amherst" de Aine Collier.