

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

Renata Calil Lemos

**TESTES DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO* NO CONTROLE DA
QUALIDADE DE BIOMATERIAIS EMPREGADOS EM LUVAS UTILIZADAS
POR PROFISSIONAIS DA FIOCRUZ**

Rio de Janeiro

2018

Renata Calil Lemos

**TESTES DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO* NO CONTROLE DA
QUALIDADE DE BIOMATERIAIS EMPREGADOS EM LUVAS UTILIZADAS
POR PROFISSIONAIS DA FIOCRUZ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária.

Orientador: Helena Pereira da Silva Zamith

Rio de Janeiro

2018

Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Lemos, Renata Calil

Testes de citotoxicidade *in vitro* no controle da qualidade de biomateriais empregados em luvas utilizadas por profissionais da FIOCRUZ. / Renata Calil Lemos. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2018.

117 f. : il., tab.,

Dissertação (Mestrado Profissional em Vigilância Sanitária). Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

Orientadora: Helena Pereira da Silva Zamith.

Revisora: Shirley de Mello Pereira Abrantes.

1. Citotoxicidade. 2. Luvas Cirúrgicas. 3. Luvas de Procedimento.
I. Título.

In vitro cytotoxicity tests in the quality control of biomaterials employed in gloves used by FIOCRUZ professionals.

Renata Calil Lemos

**TESTES DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO* NO CONTROLE DA
QUALIDADE DE BIOMATERIAIS EMPREGADOS EM LUVAS UTILIZADAS
POR PROFISSIONAIS DA FIOCRUZ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária.

Aprovado em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

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

Maritse Gerth Silveira (Doutor)
Agencia Nacional de Vigilância Sanitária

Cristiane Caldeira da Silva (Doutor)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Helena Pereira da Silva Zamith (Doutor) - Orientadora
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dedico esse trabalho a minha eterna e amada vizinha Odette Costa Calil *in memoriam*, a qual tenho certeza que me acompanhou durante toda essa jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, aos guias de luz por terem me direcionado e permitido que isso tudo se torne realidade na minha vida.

Alguém já disse que “*gratidão é a lembrança do coração*”, faz sentido. Ao longo do nosso caminho aparecem anjos da guarda que nos ajudam e sem eles os nossos objetivos seriam muitos difíceis de serem alcançados, ou seriam até inatingíveis. Por isso essa parte da dissertação é tão especial. Quero aqui expressar de coração meu agradecimento as pessoas e instituições:

Aos meus pais Laura Emília Calil Lemos e Josildo dos Santos Lemos que apesar de todas as dificuldades sonharam e acreditaram que eu era capaz até mais do que eu mesma podia acreditar. Meu eterno obrigado por serem pessoas especiais e estarem sempre por perto me amparando e me fazendo sempre ir em frente. Ser a filha de vocês fez toda a diferença para eu chegar até aqui.

Aos meus filhos Vinícius e Daniel, que trazem tanta luz, um gosto especial para minha vida e um amor incondicional. Tive de abdicar da companhia de vocês muitas vezes durante esse período, mesmo sendo as melhores companhias do mundo. Deixo aqui o registro que tudo que faço e sempre farei é para vocês e sempre por vocês tento ser cada dia melhor.

Ao meu marido Antonio Terzi, por ser tão importante na minha vida. Sempre a meu lado, me pondo para cima. Devido a seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pôde ser concretizado.

A minha irmã-miga a eterna “ninhinha” dos meus filhos, Juliana Calil Lemos pelo seu apoio e admiração incondicional. Minhas sobrinhas Giovana e Giulia que são minhas filhas de corpo e de alma e que me levam a muitos horizontes de amor e felicidade.

Agradeço também ao meu cunhado Wallace e a minha sogra, Vanda Terzi pelo incentivo e apoio. Obrigada pelo carinho!

Aos meus queridos amigos que sempre alegam a minha vida e que estiveram sempre torcendo por mim: Incerlande Soares, Cleide Borges e Viviane Nistaldo. “Obrigada pelas palavras de incentivo e pela compreensão das minhas ausências”.

A minha amiga e orientadora Helena Zamith pela grande contribuição na minha vida acadêmica e pela grande influencia na minha vida profissional aqui quero deixar registrado todo seu carinho e paciencia comigo, “Olha que ela teve muita”.

Aos meus companheiros de trabalho e os melhores amigos que eu poderia ter que estarão sempre ao meu lado me apoiando e muitas vezes me deram grande ajuda nesta pesquisa, sem vocês seria muito difícil (valeuuu): Ronald dos Santos e Taline Conde.

A minha companheira de laboratorio e minha amiga Doutora Mirian Vidal agradeço pela acolhida e amizade.

A minha amiga que muitas vezes me fez companhia e nos deixou tão cedo, mas sempre será presente em nossos corações Tia Claudete *in memoriam*.

Aos meus amiguinhos do desespero que super me entendiam quando eu desabafava minhas aflições as quais viraram muitas vezes motivos de piada: Flavinha, Esdras, Amanda, Thais, Magno, Luciane e Danielle.

As meus amigos pelas palavras sempre de incentivo: Izabela Gimenes, Luciana Madureira, Renata Norbert, Debora Viera, Cleuza Sodré, Erika Gavião, Fernando Fingola, Ana Claudia.

As Doutoras Carolina Oliveira e Cristiane Caldeira por serem tão prestativas e terem sempre um tempo para me ajudar.

As Doutoras Patricia Fernandes e Michele Feitosa e suas meninas super poderosas pelo grande auxilio desde do inicio da escolha desse tema e por me receberem com tanto carinho e companheirismo.

Aos professores e os coordenadores do Curso de Mestrado Profissional do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde pelos ensinamentos e dedicação aos alunos do curso.

Aos amigos da turma de mestrado com quem compartilhei bons momentos de alegria e aprendizado.

A equipe do Setor de Cultura de Células do Departamento de Imunologia do INCQS pelo apoio e compreensão.

Aos meus amigos e chefes do Departamento de Farmacologia e Toxicologia por terem me acolhido e me darem a oportunidade de convivência com todos vocês.

Aos Hospitais da Fiocruz- Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/Fiocruz) e Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF/Fiocruz) por me fornecerem material para esse estudo.

Ao INCQS e a FIOCRUZ por serem instituições sérias e agregadoras que me dão orgulho de fazer parte.

Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado com certeza vai mais longe.

Clarice Lispector

RESUMO

Considerando a importância do conhecimento das manifestações de reações tóxicas que levam a dermatites de contato irritativa em mãos dos trabalhadores na área de saúde, é compreendida a importância da inserção de metodologias para avaliação da citotoxicidade na legislação brasileira de luvas, como um dos requisitos mínimos para garantir a utilização segura destes produtos pelos profissionais. É importante salientar que com o controle cada vez mais rigoroso em relação ao uso de animais de laboratório, é necessária a utilização de testes *in vitro* que possam detectar a toxicidade de dispositivos médicos. Testes de citotoxicidade *in vitro* pelos métodos de difusão em ágar, contato direto, eluição e captação de vermelho neutro, podem ser utilizados como uma primeira etapa na avaliação biológica de luvas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a citotoxicidade *in vitro* de luvas cirúrgicas de látex de borracha natural e de luvas de procedimentos nitrílicas e vinílicas em culturas de células L929 de fibroblastos de camundongo. Trinta e cinco amostras de luvas de marcas e lotes diferentes, utilizados em dois hospitais sentinelas e em uma unidade de pesquisa da FIOCRUZ, foram analisadas pelo ensaio de citotoxicidade *in vitro* - métodos de difusão em ágar, contato direto, eluição e captação de vermelho neutro. No método de difusão em ágar, todas as luvas foram consideradas citotóxicas, ou seja, 100% das luvas de látex com e sem pó foram moderadamente citotóxicas (grau 3), assim como 25% das luvas nitrílicas e 33% das luvas vinílicas sem pó, enquanto foram levemente tóxicas, 75% das luvas nitrílicas e 67% das vinílicas (grau 2). No contato direto, todas as amostras foram consideradas moderadamente citotóxicas (grau 3). No método de eluição, empregando-se extratos de amostras em meio de cultura essencial mínimo (MEM) completo, 43% dos extratos das luvas de látex, 25% das nitrílicas e 33% das vinílicas apresentaram grau 4 de citotoxicidade e as restantes 57% de látex, 75% de nitrílicas e 67% das vinílicas, grau 3. No ensaio pelo método de captação de vermelho neutro, as concentrações de extratos em MEM completo que causaram 50% de letalidade celular (CI_{50}) obtidos para as 28 luvas de látex (21 com pó e 7 sem pó) variaram de 4,6 % a 22,5%, enquanto para as luvas nitrílicas e vinílicas variaram de 26,6% a 81,7%. Logo, através do método por captação do vermelho neutro foi possível diferenciar a menor citotoxicidade das luvas nitrílicas e vinílicas em relação às luvas de látex. Recomenda-se a inclusão

obrigatória de pelo menos dois métodos de ensaio na legislação brasileira para avaliação da citotoxicidade de luvas, o de difusão em ágar e o de eluição. O método de difusão em ágar foi o que melhor diferenciou a citotoxicidade das luvas de látex, nitrílicas e vinílicas e o ensaio de eluição permitiu avaliar a citotoxicidade proveniente de substâncias químicas extraíveis a partir das amostras. O método de captação de vermelho mostrou-se promissor, pois permite a determinação de citotoxicidades relativas de amostras, a partir dos valores de CI_{50} . O trabalho ressalta a gravidade em relação ao potencial citotóxico das luvas detectado nos 4 métodos de ensaio empregados, considerado relevante para os trabalhadores e pacientes expostos a estes produtos.

Palavras-chave: Citotoxicidade. Luvas Cirúrgicas. Luvas de Procedimento.

ABSTRACT

Considering the importance of the knowledge of toxic reaction manifestations that lead to irritant contact dermatitis in health workers' hands, the inclusion of methodologies to assess the cytotoxicity in Brazilian legislation of gloves stands out as one of the minimum requirements necessary to ensure the professionals' safety when dealing with those products. It is important to point out that, with the increasingly strict control over the use of laboratory animals, it is necessary to use *in vitro* assays that can detect the toxicity of medical devices. *In vitro* cytotoxicity assays using the methods of agar diffusion, direct contact, elution and neutral red uptake can be used as a first step in the biological evaluation of gloves. The objective of this work was to assess the *in vitro* cytotoxicity of natural rubber latex surgical and nitrile and vinyl medical exam gloves in cultures of L929 cells of mouse fibroblasts. Thirty-five samples of gloves of different brands and batches used in two sentinel hospitals and in a research unit of Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ) were analyzed by the *in vitro* cytotoxicity assay — methods of agar diffusion, direct contact, elution and neutral red uptake. In the agar diffusion, all gloves were considered cytotoxic, i.e. 100% of the powdered and non-powdered latex gloves were moderately cytotoxic (grade 3) as well as 25% of the nitrile gloves and 33% of the non-powdered vinyl gloves; 75% of the nitrile gloves and 67% of the vinyl ones (grade 2) were slightly toxic. In direct contact, all samples demonstrated to be moderately cytotoxic (grade 3). In the elution method, when using extracts of samples in a complete minimum essential medium (MEM) of culture, 43% of the extracts of the latex, 25% of the nitriles and 33% of the vinyl gloves showed grade 4 of cytotoxicity and the remaining 57% of the latex, 75% of the nitrile and 67% of the vinyl gloves evidenced grade 3. In the assay using the method of neutral red uptake, the concentrations of extracts in complete MEM, which caused 50% of cell lethality (IC_{50}) obtained for the 28 latex gloves (21 powdered and 7 non-powdered), ranged from 4.6% to 22.5%, while for the nitrile and the vinyl gloves it ran from 26.6% to 81.7%. Therefore, through the method of neutral red uptake, it was possible to differentiate the least cytotoxicity of the nitrile and the vinyl gloves when comparing to the latex gloves. In conclusion, we recommend the mandatory inclusion of at least two methods of assay in the Brazilian legislation for the evaluation of glove cytotoxicity: agar diffusion and elution. The

method of agar diffusion turned out to be the best to differentiate the cytotoxicity of the latex, nitrile and vinyl gloves and the elution assay allowed the evaluation of the cytotoxicity of chemical substances extractable from the samples. The method of red uptake proved to be promising since it allows the determination of relative cytotoxicity of samples from the IC₅₀ values. The work, considered relevant for workers and patients exposed to those products, highlights the severity of the cytotoxic potential of gloves detected in the four methods of assay applied.

Keywords: Cytotoxicity. Surgical Gloves. Medical Exam Gloves

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Comparação das luvas de látex, nitrila e vinila.....	29
Figura 1	Dermatite de contato irritativa por utilização de luvas.....	39
Figura 2	Dermatite de contato irritativa, em uma enfermeira causada pela utilização de luvas.....	39
Figura 3	Esquema do ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> - método de difusão em ágar	47
Figura 4	Esquema de disposição das amostras e medida dos quadrantes.....	48
Quadro 2	Classificação e descrição da zona de citotoxicidade: teste de difusão em ágar e contato direto.....	49
Figura 5	Esquema do ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> - método de contato direto.....	50
Figura 6	Esquema do ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> - método de eluição	52
Quadro 3	Classificação e descrição da reatividade das culturas celulares para o teste de eluição.....	53
Figura 7	Esquema do ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> – método de captação de vermelho neutro.....	56
Figura 8	Resposta biológica do controle positivo com área de descoloramento celular (grau 4).....	61
Figura 9	Amostras de luva de látex com grau de citotoxicidade 3	62
Gráfico 1	Teste de citotoxicidade <i>in vitro</i> - método de difusão em ágar.....	63
Figura 10	Amostras de luvas de nitrila e látex mostrando grau de citotoxicidade 3 em células L-929 no teste pelo método de contato direto	67
Figura 11	Fotomicrografias das células L929 controles (CC, CN e CP) e das expostas às amostras de luva (látex, nitrílica e vinílica) no ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> – método de eluição.....	72
Figura 12	Gráficos do ensaio de captação de vermelho neutro com CI_{50} por amostra.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 2	Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> – método de difusão em ágar	60
Tabela 4	Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> - método de contato direto	65
	Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> – método de eluição: resultados dos	
Tabela 5	3 ensaios realizados e os correspondentes graus de citotoxicidade...	70
Tabela 6	Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> – método de captação de vermelho neutro: resultados dos 3 ensaios realizados e os correspondentes graus de citotoxicidade em ordem de maior citotoxicidade para menor.	81

LISTA DE SIGLAS

aC	antes de Cristo
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AFE	Autorização de Funcionamento Estadual
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CC	Controle Celular
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
Cl ₅₀	Concentração de extrato causando 50% de letalidade celular
Cm	Centímetro
CN	Controle Negativo
CP	Controle Positivo
DC	Dermatite de Contato
DCA	Dermatite de Contato Alérgica
DCI	Dermatite de Contato Irritativa
DEHP	Ftalato de di-(2-etil-hexila)
EMA	Acrilato de Metileno
EPI	Equipamento de Proteção individual
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HBV	Vírus da Hepatite B
HCV	Vírus da Hepatite C
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
mL	Mililitro
MTE	Ministério do Trabalho e Emprego
MEM	Meio Essencial Mínimo
OMS	Organização Mundial da Saúde

PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
POP	Procedimento Operacional Padronizado
PVC	Poli (cloreto de vinila)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1 Luvas como biomateriais	20
1.2 Breve historico das luvas	22
1.2.1 Luvas de látex.....	24
1.2.2 Luvas de vinila	28
1.2.3 Luvas de nitrila.....	29
1.3 Regulamentação de luvas cirúrgicas e de procedimentos no Brasil	31
1.4 Considerações em relação ao mercado internacional de luvas e seus aspectos regulatórios	35
1.5 Dermatite de contato por utilização de luvas	37
1.6 Testes de citotoxicidade in vitro	41
2 JUSTIFICATIVA	46
3 OBJETIVOS	47
3.1 Objetivo geral	47
3.2 Objetivos específicos.....	47
4 METODOLOGIA	48
4.1 Amostras de luvas analisadas	48
4.2 Controles utilizados nos ensaios..	49
4.3 Teste de citotoxicidade in vitro – método de difusão em ágar.....	49
4.3.1 Avaliação da citotoxicidade - método de difusão em ágar.....	50
4.4 Teste de citotoxicidade in vitro – método do contato direto.....	52
4.4.1 Avaliação de citotoxicidade – método de contato direto	53
4.5 Teste de citotoxicidade in vitro - método de eluição	53
4.5.1 Avaliação de citotoxicidade – método de eluição	55
4.6 Teste de citotoxicidade in vitro – método de captação de vermelho neutro	56

4.6.1 Avaliação da citotoxicidade - método de captação de vermelho neutro.....	58
5 DESCRIÇÃO DO PRODUTO TECNOLÓGICO FINAL	59
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
6.1 Teste de citotoxicidade in vitro - método de difusão em agar	60
6.2 Teste de citotoxicidade in vitro - método de contato direto.....	64
6.3 Teste de citotoxicidade in vitro - método de eluição	69
6.4 Teste de citotoxicidade in vitro - método de captação de vermelho neutro	75
7 CONCLUSÃO	85
8 PERSPECTIVAS.....	87
REFERÊNCIAS.....	88
APÊNDICE	100
TABELA 1 - ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO – MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR.....	101
TABELA 3 - ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO – MÉTODO DE CONTATO DIRETO.....	106

1 INTRODUÇÃO

A vigilância sanitária (VISA) é “um conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde” e compreende um conjunto de ações com vistas ao controle de bens de consumo e prestação de serviços que se relacionam direta ou indiretamente com a saúde (BRASIL, 1990).

O papel da VISA é reconhecer as interações de produtos e serviços no contexto de uso, com o ambiente ao qual faz parte, com as pessoas e ou profissionais que os utilizarão e, conseqüentemente, considerar as implicações do uso dos produtos e serviços pela sociedade (BRASIL, 2011a). Assim, faz parte da sua competência operacional a preocupação que, “abrange o cuidado com risco à saúde inerente ao consumo de bens e serviços”, ou seja, tem como escopo os produtos e serviços utilizados no cotidiano das pessoas, bem como a utilização de equipamentos de proteção individual (EPIs) (LUCHESE, 2008).

Os EPIs são todos os dispositivos ou produtos de uso individual, destinados à proteção de riscos suscetíveis de ameaça à segurança e à saúde no trabalho. O uso dos EPIs é regulamentado pelo Ministério do Trabalho e Emprego (MTE) em sua Norma Regulamentadora nº 6 (NR6 - EPI) aprovada pela Portaria GM nº 3.214 de 1978 (BRASIL, 1978). A lista de EPIs dessa norma em seu item F.1, foi alterada pela Portaria da Secretaria de Inspeção do Trabalho e Diretoria do Departamento de Segurança e Saúde no Trabalho (SIT/DSST) nº 194 de 2010, que inclui como EPI, as luvas para a proteção das mãos contra agentes abrasivos e escoriantes; contra agentes cortantes e perfurantes; contrachocos elétricos e contra agentes térmicos, biológicos e químicos (BRASIL, 2010b).

Considerando que a utilização de produtos para a saúde pode acarretar riscos que podem comprometer a segurança de usuários e profissionais de saúde, é imprescindível o acompanhamento desses produtos no mercado por meio de estratégias para conhecimento da realidade, como por exemplo, a notificação associada aos produtos para a saúde. Entende-se por produtos para a saúde, o conjunto de produtos médicos¹ e produtos para diagnóstico² de uso *in vitro* (BRASIL, 2001; BRASIL, 2006).

1 * O produto médico é todo equipamento, aparelho, material, artigo ou sistema de uso ou aplicação médica, odontológica ou laboratorial, destinado à prevenção, diagnóstico, tratamento, reabilitação ou anticoncepção, e que não utiliza meio farmacológico, imunológico ou metabólico para realizar sua principal função em seres humanos, podendo, entretanto, ser auxiliado em suas funções por tais meios (BRASIL, 2006).

2 * Produto para diagnóstico de uso *in vitro* são os reagentes, padrões, calibradores, controles, materiais, artigos e instrumentos, junto com as instruções para seu uso, que contribuem para realizar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semiquantitativa de uma amostra proveniente do corpo humano e que não estejam destinados a cumprir alguma função anatômica, física ou terapêutica, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados unicamente para prover informação sobre amostras obtidas do organismo humano (BRASIL, 2006).

Entre os produtos médicos, destacam-se as luvas cirúrgicas e de procedimentos não cirúrgicos, EPIs amplamente consumidos nos serviços de saúde e de fundamental importância para a segurança hospitalar (MACEDO, 2013).

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 garantindo a segurança sanitária de produtos para saúde pós-comercialização (BRASIL, 2018).

Em virtude do acompanhamento sistemático das luvas no mercado brasileiro, pela tecnovigilância, observou-se que as luvas cirúrgicas e de procedimentos não cirúrgicos vinham apresentando problemas de qualidade e segurança o que sinalizou para a necessidade de adoção de outras medidas para fortalecer a regulação das luvas no Brasil (MACEDO, 2013).

Por meio da tecnovigilância foram notificados um alto número de queixas técnicas e eventos adversos, sendo os eventos observados de ocorrência principalmente em profissionais de saúde que vinham apresentando manifestações cutâneas, como ressecamento da pele, alergia, edema, prurido e descamação. Dentre as queixas técnicas destacavam-se, as falhas de material, incluindo material fragmentado ou degradado, luvas rasgadas, furadas, colabadas e com presença de corpo estranho (MACEDO, 2013; SCHMITT et al, 2016).

1.1 Luvas como biomateriais

Os biomateriais são utilizados na fabricação de dispositivos médicos para substituir uma parte ou uma função do corpo de uma forma segura, confiável, econômica e fisiologicamente aceitável (PARK; BRONZINO, 2002; WONG; BRONZINO, 2007, PARK; LAKES, 2007). Um biomaterial pode ser definido como um material sintético utilizado para substituir parte de um sistema vivo ou funcionar em contato próximo com o tecido vivo (PARK; BRONZINO, 2002).

Segundo *Clemson University Advisory Board for Biomaterials*, um biomaterial é uma substância sistemicamente e farmacologicamente inerte concebida para implantação ou incorporação aos tecidos vivos (PARK; BRONZINO, 2002). De acordo com Black, é um material não viável utilizado num dispositivo médico, que tem como objetivo interagir com os sistemas biológicos (PARK; BRONZINO, 2002; BLACK, 2005). Por sua vez, Bruck define um biomaterial como sendo um material de origem natural ou sintética, em contato com tecido, sangue e fluídos biológicos, e com vista a ser utilizado em aplicações protéticas, terapêuticas, diagnósticas e de armazenamento, sem prejudicar o organismo vivo e seus componentes (BRUCK, 1980; PARK; BRONZINO, 2002).

Williams (1999) descreve um biomaterial como sendo alguma substância (exceto medicamentos) ou a combinação de substâncias, de origem natural ou sintética, que podem ser utilizadas por algum período de tempo, como um todo ou como parte de um sistema que trata ou substitui algum tecido, órgão ou função do corpo. Finalmente, segundo Lima (2006), um biomaterial para ser considerado ideal tem que apresentar as seguintes propriedades:

- Biocompatibilidade: definida como a propriedade de um material ser biologicamente compatível, ou seja, não produzir uma resposta tóxica ou imunológica nos tecidos (RATNER et al, 2004);
- Biofuncionalidade: descreve o comportamento do material implantado no organismo e está relacionada com as propriedades dos materiais, estas que dão a um determinado dispositivo a capacidade de desempenhar a função desejada;

- Propriedades mecânicas: as propriedades mais relevantes são o limite de elasticidade, ductilidade, tenacidade à fratura e as resistências mecânicas (à tração, à compressão, à flexão, à fadiga, à torção, e ao cisalhamento);

- Resistência à corrosão: como existe contato entre o biomaterial e o ambiente fisiológico é essencial que seja resistente ao meio em que se encontra, caso contrário os produtos de degradação poderão causar uma reação ou um processo patológico (MORAIS; GUIMARÃES; ELIAS, 2007);

- Ser esterilizável: esterilização é a destruição completa de todas as formas de vida microbiana. Pode ocorrer através de temperatura, produtos químicos, por radiação e por plasma.

Os biomateriais poliméricos estão dentre os mais empregados no âmbito médico. As principais vantagens dos biomateriais poliméricos em comparação com os materiais cerâmicos ou metálicos incluem a facilidade de fabricação para produzir formas variadas (partículas, filmes, fios, dentre outros), o processamento secundário, o custo razoável e disponibilidade em encontrar materiais com propriedades mecânicas e físicas desejadas para aplicações específicas (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

O biomaterial látex, é uma secreção de aspecto esbranquiçado utilizado como biomaterial em dispositivos médicos. É produzido a partir do látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis*, e destaca-se, principalmente, por seu baixo custo, durabilidade, biocompatibilidade, elasticidade, fácil aquisição e manipulação e por não apresentar risco na transmissão de patógenos (REIS, 2013; ROSA et al., 2015). Por ser natural, ter procedência nacional e ser de fácil obtenção e manipulação, o biomaterial látex pode ser produzido com baixo custo e ser aplicado em diferentes situações inclusive na fabricação de luvas cirúrgicas (MENDONÇA, 2016).

O poli (cloreto de vinila), por exemplo, é um dos polímeros mais utilizados para a confecção de dispositivos médicos, abrangendo cerca de 40% de todos os materiais poliméricos aplicados para este fim. Seu amplo uso é devido a sua inércia, alta transparência, facilidade de esterilização e resistência (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

O uso da nitrila como biomaterial ainda está em estudo sendo atualmente empregada como material de uso médico na fabricação de luvas; na indústria é aplicada como um copolímero de acrilonitrila-butadieno-estireno que é um material termoplástico amplamente empregado nas indústrias automotiva, eletroeletrônica, de brinquedos e de eletrodomésticos devido às suas propriedades de resistência mecânica, térmica, elétrica e química e facilidade de processamento (LAI et al, 2012, DÍEZ-PASCUAL; GASCÓN, 2013).

1.2 Breve histórico das luvas

As luvas vêm sendo descritas há mais de 250 anos. O primeiro relato de utilização de luvas foi atribuído ao médico alemão Johann Walbaum em 1758, que utilizou ceco de carneiros para envolver a mão e evitar danos mecânicos durante o exame ginecológico de suas pacientes.

No fim do século XVII o dermatologista austríaco, Joseph Plenk, sugeriu que as parteiras usassem luvas de proteção ao executar exames vaginais em pacientes infectados com sífilis, visando a redução do risco de infecção (WALCZAK et al, 2014).

Já em 1813, Adam Elias Von Siebold recomendou que os médicos utilizassem bexigas de suínos ou cavalos como luvas impregnadas de gordura durante o parto de mulheres com infecções, no intuito de reduzir o risco do médico adquirir a infecção da paciente. Thomas Hancock foi o primeiro a utilizar itens de vestuário, incluindo luvas, feitas de borracha. Durante o período de 1840-1842, Thomas Watson propôs uma luva "flexível" que os médicos poderiam utilizar para proteger suas mãos. Logo em 1852, um catálogo francês de cirurgia listou luvas de borracha anatômicas para prevenir infecções. Em 1878, a primeira patente para luvas de borrachas cirúrgicas foi concedida a Thomas Forster (RUTKOW,1999; OWNBY, 2002; ELLIS, 2008).

Em 1886, Gustav Neuber publicou um livro sobre implementação de assepsia e um programa referente ao tema, em seu hospital, mas um dos pioneiros no estudo de infecções cirúrgicas foi o Dr. William S. Halsted no *Johns Hopkins Hospital*. Por causa da dermatite, causada pela solução de

cloreto de mercúrio utilizada para assepsia das mãos e desinfecção de instrumentos, Dr. Halsted solicitou em 1889 a *Rubber Company Goodyear*, dois pares de luvas de borracha finas para sua enfermeira. No entanto em 1892, o primeiro médico na *Johns Hopkins University* a usar regularmente luvas de borracha foi Joseph Bloodgood, um colaborador do Dr. Halsted. Em 1899, Dr. Bloodgood relatou uma série de casos demonstrando uma redução de infecções pós-operatórias, quando todos os membros da equipe cirúrgica usavam luvas de borracha (RUTKOW, 1999; OWNBY, 2002; ELLIS, 2008).

Por volta de 1900, foram desenvolvidas inúmeras tecnologias de limpeza e reflexões sobre o que se pode chamar de cultura de prevenção de doenças e feridas. Alguns desses procedimentos incluíam a utilização de luvas, outros não. O esclarecimento e conscientização de cirurgiões de que a melhor maneira de prevenir a contaminação era evitando qualquer contato entre as mãos do cirurgião e a ferida, propiciou o desenvolvimento da técnica do *no-touch* nas operações (SCHLICH, 2015).

Desde meados da década de 1980, o uso de luvas como um elemento de EPI tornou-se parte do dia a dia da prática clínica para os trabalhadores na área da saúde (PRATT et al, 2007). Em 1987, os Centros para o Controle e a Prevenção de Doenças dos Estados Unidos da América (CDCs) elaboraram um documento sobre as recomendações para a prevenção de transmissão do vírus da imunodeficiência humana (HIV) em ambientes e de cuidados de saúde, que continham as seguintes precauções universais:

Devem ser usadas luvas para tocar em sangue e fluidos corporais; membranas mucosas ou pele não intacta de todos os pacientes: para a manipulação de itens ou superfícies contendo sangue ou fluidos corporais e para realização de procedimentos de acesso vascular. (POWER; GALLAGHER; MEANEY, 2010).

O uso de luvas se deve à necessidade de proteger os profissionais e pacientes do risco de infecção cruzada. Os serviços de saúde usam bilhões de luvas anualmente. Além de cirurgias, algumas tarefas clínicas e laboratoriais também requerem o seu uso. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda a utilização de luvas para reduzir a contaminação dos profissionais

de saúde com sangue e outros fluidos corporais e diminuir o risco de disseminação de germes para o ambiente e de transmissão do profissional para o paciente e vice-versa, bem como de um paciente para o outro (ECRI, 2016).

As luvas passam a ser um dos insumos de saúde mais utilizados, a partir da epidemia da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) pelo HIV nos anos 80, quando os CDCs introduziram as “Precauções Universais”, atualmente denominadas “Precauções Padrões”, enfatizando a necessidade de todos os trabalhadores da saúde, rotineiramente, usarem luvas (FERREIRA et al, 2009).

A partir de 1990, o advento das “Precauções Universais” foi destinado, principalmente, à proteção dos profissionais de saúde de infecção transmitida por via sanguínea pelo HIV, pelo vírus da hepatite B (HBV) e vírus da hepatite C (HCV) (PINA, 2006).

Em seguida, destaca-se o material utilizado em luvas cirúrgicas ou de procedimentos como um fator importante para efetividade da luva como uma barreira (REGO; ROLEY, 1999). O látex, a princípio foi o material de escolha para a fabricação das mesmas. Mas poucos estudos têm se concentrado sobre a toxicidade de luvas, a maioria abordando materiais de borracha natural, sendo limitados os estudos que incluem outros materiais, como: borracha sintética e materiais poliméricos (LONNROTH, 2005).

1.2.1 Luvas de látex

As luvas de látex são as mais utilizadas, sendo-lhes atribuídas, como pontos fortes, a adaptabilidade às mãos e, conseqüentemente, adequação às técnicas, que exigem alto grau de destreza, propriedades de resistência à perfuração e, pelo fato de apresentarem uma característica propriedade de vedação (WILSON; ELIZABETH; DO ROSÁRIO CANELAS, 2003).

As luvas de látex são as preferidas entre os profissionais da área de saúde devido a sua flexibilidade e sensibilidade tátil. Seu uso foi intensificado e incorporado entre os profissionais da saúde, a partir da década de 1980, conforme recomendação dos CDCs, em função do advento da AIDS e da maior

exigência em se evitar a infecção cruzada, compondo um dos EPIs. Em 1979, a primeira reação documentada de hipersensibilidade imediata, ou anafilaxia ao látex foi descrita. Desde então, a prevalência e a severidade da alergia ao látex entre os profissionais que fazem seu uso têm aumentado caracterizando uma doença ocupacional (SUKKAVA; SELL, 2007).

A hipersensibilidade ao látex é um emergente problema de saúde do trabalhador. A quantidade do alérgeno à qual fica exposto os indivíduos associadas à via de exposição e à predisposição individual influenciam na sensibilização e no aparecimento da sintomatologia evidenciando indivíduos com exposição intensa às proteínas do látex (GOMES, 2006).

No final de 1980 e início de 1990, reconheceu-se claramente a hipersensibilidade ao látex da borracha, coincidindo com o aumento do uso de luvas de látex, em resposta à preocupação contra doenças infecto-contagiosas. Conseqüentemente, tornou-se obrigatório, o uso de luvas entre os profissionais da saúde, o que representou como potencial de risco ocupacional, a urticária de contato (FERNADEZ et al, 2009). A frequência de reações ao látex nos países desenvolvidos elevou-se, acarretando uma série de recomendações e medidas preventivas (GRIPPA et al, 2003; BELSITO, 2005).

A borracha natural é um polímero de poli (*cis*-1,4-isopropeno) e apresenta propriedades únicas devido a sua estrutura intrínseca, alta massa molar e presença de outros componentes minoritários como proteínas, carboidratos, lipídeos e minerais presentes no látex. Cerca de 2500 plantas produzem látex, mas o látex da *Hevea brasiliensis* se constitui na única fonte comercial importante de látex de borracha natural (RIPPEL; GALEMBECK, 2009).

O desenvolvimento de fontes alternativas de borracha natural se justifica pelas reações atribuídas às proteínas no látex da *Hevea*. Cerca de 6% da população mundial sofre ou poderá sofrer de alergia ao látex. Mais de 99% dos dispositivos utilizados para fins comerciais são da árvore da borracha, *H. brasiliensis*. Há por volta de 250 diferentes proteínas presentes em luvas, sendo que, cerca de 5% a 11% destas proteínas foram identificadas como alérgenas que podem induzir reações de hipersensibilidade (RISENGA;

SAMUEL, 2014). Entre os profissionais de saúde, cerca de 17% correm o risco de sofrer alguma reação alérgica à borracha da *Hevea* usada nas luvas cirúrgicas (BEILEN; POIRIER, 2008).

A utilização do látex foi documentada em 1600 aC (RANTA; OWNBY, 2004), mas a primeira reação de hipersensibilidade imediata ao látex foi publicada em 1927 por Stem, na Alemanha. Desde então, o látex tem sido relacionado à urticárias generalizadas, rinite, conjuntivite, asma e até reação anafilática (CANUTO; COSTA; SILVA, 2007). Embora a introdução das luvas cirúrgicas contendo látex tenha ocorrido em 1890, somente em 1989, ocorreu a primeira descrição clara de reação do tipo hipersensibilidade imediata (VERDOLIN; BOAS; GOMEZ, 2003). Este caso envolveu uma mulher com uma história de dermatite atópica crônica que apresentou prurido nas mãos 5 minutos depois de colocar luvas de borracha. Quando ela foi testada pelo método cutâneo, mostrou uma pápula imediatamente após o contato com um extrato de luva de borracha, enquanto que 4 indivíduos do grupo controle não reagiram ao semelhante teste (RANTA; OWNBY, 2004).

A frequência de reações ao látex nos países desenvolvidos elevou-se, acarretando uma série de recomendações e medidas preventivas. Algumas delas, como a criação de comitês de estudo sobre o látex, centros cirúrgicos especiais e o desenvolvimento de materiais alternativos, resultaram em posterior queda no número de reações graves. A prevalência de sensibilização ao látex na população geral é de 1%, mas entre trabalhadores da área da saúde varia de 3 a 14%. As doenças alérgicas cutâneas ou respiratórias têm sido consideradas como um dos principais problemas ocupacionais entre trabalhadores da área de saúde, onde a principal fonte de exposição alergênica relatada tem sido o uso de luvas de látex com pó e a causada pela presença de proteínas hidrossolúveis. Até a década de 80, o uso de luvas de látex era considerado inócuo, mas atualmente, o látex vem-se revelando como sensibilizador alergênico importante, principalmente no ambiente hospitalar. A maior fonte de reações ao látex relaciona-se ao contato com luvas, sendo a frequência da exposição mais importante do que sua duração para se induzir a sensibilização (FERNANDEZ et al, 2009).

Ainda em 1990, a *Food and Drug Administration* (FDA) emitiu boletim solicitando cuidados especiais com produtos e equipamentos que contenham borracha, especialmente luvas, cateteres e sondas. Em 1991, a FDA expediu um alerta médico a todos os fabricantes de dispositivos de látex, recomendando a redução do nível de proteínas em seus dispositivos de látex. Mais tarde em 1995, desenvolveu e aprovou a norma *Standard D-5712* que estabelece critérios mais rigorosos sobre proteínas em seus dispositivos de látex (CANUTO; COSTA; SILVA, 2007).

Em países altamente industrializados, como os da Europa e América do Norte, a epidemia de látex foi parcialmente interrompida por estratégias de prevenção, tais como a redução do teor de proteínas em luvas, recomendado pelos grupos de trabalho das Sociedades Científicas de Alergia europeias e americanas. Novos casos de alergia foram significativamente reduzidos, e em certas circunstâncias desapareceram, em países e hospitais onde as autoridades de saúde têm forçado o uso de luvas de látex com baixo teor de proteínas e sem pó (RISENGA et al, 2013).

Com intuito de melhor compreender a reação alérgica a este material e embasar experimentalmente estes relatos, vários estudos analisando a citotoxicidade do látex foram desenvolvidos demonstrando o potencial citotóxico dessa matéria prima (WANG et al, 2008; DOS SANTOS et al, 2010).

A toxicidade de luvas de látex foi identificada em programas de fertilização humana, onde células de esperma humano quando expostas às luvas de látex não mostraram sobrevivência em testes *in vitro* (CRITCHLOW et al, 1989). Testes de citotoxicidade utilizando linhagens celulares humanas revelaram que, o contato direto com látex proveniente de cateteres urinários reduziu a viabilidade celular, atividade metabólica e proliferação celular, indicando alta toxicidade (PARIENTE et al, 2000).

Com a frequente utilização de luvas de proteção pelos profissionais de saúde e devido a uma série de relatos principalmente relacionados à ocorrência de reações de dermatite por contato, os serviços de saúde estão fornecendo alternativas em relação ao látex. Outros materiais podem ser utilizados em luvas, na área de saúde como: borrachas sintéticas butílicas, de neopreno, fluoradas, de nitrila, de estireno-butadieno e de estireno-etileno-

butadieno e de vários materiais poliméricos como: acrilato de metiletileno (EMA), polietileno e de poli (cloreto de vinila) (PVC), sendo que poucos estudos são direcionados para a citotoxicidade desses materiais em luvas (LONNROTH, 2005).

Mesmo com essa variedade de materiais para confecção de luvas como alternativas ao látex, as mais utilizadas e de mais fácil acesso no mercado são as luvas de borracha sintética de nitrila e as luvas de PVC, mais conhecidas como luvas de vinila.

1.2.2 Luvas de vinila

As luvas de vinila juntamente com as luvas de látex são as mais utilizadas (DUCEL et al, 2002). Luvas de vinila são compostas pelo polímero PVC acrescidos de ftalatos ou outros plastificantes para garantir flexibilidade, embora esta não se traduza em resistência, enquanto a sensibilidade dessas luvas equipara-se às de látex (GNANESWARAN; MUDHUNURI; BISHU, 2008).

Luvas de vinila eram consideradas menos resistentes e menos flexíveis, mas hoje em dia, existem luvas de qualidade equivalente às de látex, sendo recomendadas em sua substituição para procedimentos de curta duração. Por outro lado, não contém talco e por se tratar de um polímero sintético, não contêm as proteínas da borracha natural sendo, portanto, uma interessante opção nos casos de alergia ao pó ou ao látex (RUSSELL-FELL, 2000).

Segundo Cashins; Alford; Skerratt (2008), o contato de luvas de látex e nitrila causaram efeitos letais e de letargia em girinos, já as luvas de vinila não causaram efeitos nocivos perceptíveis e todos os animais sobreviveram até a metamorfose. No entanto, as luvas de vinila causaram mortalidade nos animais durante o trabalho de campo. Durante a produção de luvas descartáveis, várias substâncias químicas são adicionadas incluindo vulcanizadores, aceleradores, corantes, conservantes, estabilizantes e agentes antiestáticos. Estas substâncias químicas são tipicamente causadoras de reações de sensibilização em humanos. O tipo e a quantidade destas substâncias podem variar muito entre os fabricantes. O látex e a borracha nitrílica das luvas causaram a mortalidade de 100% nos girinos em apenas 30 a 90 segundos de contato

direto. No entanto, todas as marcas de luvas e tipos são potencialmente tóxicas e não devem ser utilizadas até que se prove sua segurança.

Além desses dados, alguns estudos têm indicado que reações de urticária e dermatite alérgica de contato causadas por luvas vinílicas podem ser tão comuns quanto para as luvas de borracha natural, mas problemas na obtenção de informação detalhada sobre os materiais utilizados para fabricação das mesmas, podem complicar o diagnóstico (SUURONEM et al, 2013). O PVC é um polímero muito utilizado para dispositivos médicos. Por serem rígidos são incluídos modificadores, lubrificantes e estabilizadores e, para se tornarem flexíveis, devem conter plastificantes. Ensaios de toxicidade de PVC têm focado em plastificantes, particularmente no mais amplamente usado, o ftalato de di-(2-etil-hexila) (DEHP), classificado pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC), como possível agente carcinogênico (Grupo 2B) em humanos (IARC, 2013). Ratos e camundongos de ambos os sexos expostos por via oral ao DEHP apresentaram hepatocarcinoma o que configura um risco a ser considerado na exposição humana e cautela no uso deste plastificante.

1.2.3 Luvas de nitrila

As luvas de nitrila foram desenvolvidas com o intuito de solucionar a questão da hipersensibilidade humana ao látex e da baixa resistência ao desgaste das luvas de vinila. As luvas de nitrila são compostas por acrilonitrila, butadieno e ácido carboxílico e vêm demonstrando uma resistência semelhante à das luvas de látex, mas ainda assim são mais suscetíveis a rupturas e aumentos da permeabilidade no decorrer do uso, quando comparadas às de vinila (BRUNA et al, 2016).

No Brasil, pesquisadores apresentaram estudo sobre opções de uso de materiais de luva sintéticos (nitrila e neopreno) por profissionais de enfermagem alérgicos à luva de látex (CANUTO; COSTA; SILVA, 2007). Estes tipos de luvas são possíveis alternativas para profissionais de saúde sensibilizados ao látex, em caso de exposição ao risco biológico ou às substâncias químicas com propriedades irritantes ou tóxicas. Existem poucas

observações clínicas publicadas na literatura, correlacionando as reações adversas com a utilização de luvas de nitrila (GONZALO-GARIJO et al, 2012). No entanto, Oshima; Nakamura em 1994 relataram que os extratos de borrachas butílica e nitrílica causaram uma alta citotoxicidade em fibroblastos de tecido gengival humano.

A questão de escolha do tipo de luva a ser utilizada não deve se basear somente no custo ou no tipo de manipulação a ser feita. Luvas de látex, vinílica e nitrílica apresentam algum grau de toxicidade em experimentos e nenhuma delas pode ser considerada atóxica gerando um problema latente de saúde do trabalhador (LONNROTH, 2005).

As principais características dessas luvas estão listadas no Quadro 1.

Quadro 1 - Comparação das luvas de látex, nitrílica e vinílica

TIPOS DE LUVAS	RECOMENDAÇÃO DE USO	VANTAGENS	DESVANTAGENS	COMPOSIÇÃO QUÍMICA	REFERÊNCIAS
LATEX	Atividades que requeiram técnica asséptica (estéril) Proteção contra a elevada exposição ao sangue e aos fluidos corporais potencialmente contaminados, aos agentes infecciosos, aos ácidos, bases e álcoois	Boa qualidade de barreira. Forte e durável. Boa qualidade de vedação. Bom conforto e ajuste Boa proteção contra a maioria das substâncias cáusticas e detergentes	Não recomendado para o contato com óleos, graxas e substâncias orgânicas. Não recomendado para indivíduos alérgicos ou sensíveis ao látex.	Composta por borracha natural extraída da seiva da <i>Hevea brasiliensis</i> , com óxido de zinco, dióxido de titânio, nitrato de cálcio, carbonato de cálcio, sulfato de zinco, sulfato de bário, óleo naftênico, óleo de processo parafínico, oleato de potássio, oleato de trietanolamina, caseína, 4,4'-tiobis (6-terc-butil-meta-cresol), lowinox® 44s36, hidroxianisol butilado (bha), n-isopropil-n-fenil-parafenilenodiamina, n-ciclohexila, n-fenil-parafenilenodiamina, mercaptobenzotiazol, n-ciclohexil-2-benzotiazilsulfenamida, benzotiazilsulfenamida, morfolinilmercaptobenzotiazol, dissulfeto de dibenzotiazil, dimetilditiocarbamato de zinco, 1,3-difenilguanidina, dissulfeto de tetraetiltiuram, monossulfeto de tetrametiltiuram, dissulfeto de tetrametiltiuram, dissulfeto de dipentametilentiuram, dibutil tioureia, difenil tioureia, dietil tioureia, enxofre preto, pigmento amarelo (CI 21290), carbono preto, pigmento vermelho 122 (CI 73915), álcool poliglicólico, éter, poliamida, carboximetilcelulose de sódio, solução de amônia, metanol, cloreto de cetil piridínio, amido de milho em pó.	PAOLHORIES, 1993 ROSE et al, 2009

Continuação do quadro 1

TIPOS DE LUVAS	RECOMENDAÇÃO DE USO	VANTAGENS	DESVANTAGENS	COMPOSIÇÃO QUÍMICA	REFERÊNCIAS
VINILA	Proteção contra a exposição mínima aos fluidos corporais, agentes infecciosos, sangue, ácidos, bases, sais e álcoois. Tarefas de curta duração. Proteção do profissional de saúde com a pele das mãos não íntegra.	Oferece bom nível de proteção, porém, dependente da qualidade do fabricante. Média resistência a produtos químicos.	Não recomendada para o contato com solventes, aldeídos e cetonas. A qualidade é variável entre os fabricantes. Perfura com facilidade. Rígida, não elástica.	Bisfenol A, poliéster adípico, formaldeído, benzisotiazolinona, di-(n-octil) –tina???, bis (2-etilhexilmaleato) e / ou ácido polipropílico propilenoglicol, 2-etilhexilmaleato, resina epóxi, poliéster adípico, poli (adípico ácido-co-1,2-propileno glicol), ftalato de dibutila, di- (n-octil) estanho-bis(2-etilhexilmaleato), Yellow 134 disperso (CI 47023), formaldeído, 1,2 benzisotiazolinona.	ROSE et al, 2009 SUURONEN et al, 2013
NITRILA	Proteção contra elevada exposição ao sangue, fluidos corporais potencialmente contaminados, e aos agentes infecciosos. Tarefas de maior duração. Tarefas com alto nível de tensão na luva. Tarefas que exigem destreza adicional. Recomendado para contato com produtos químicos, agentes quimioterápicos, óleos, graxas, ácidos e bases. Em casos de sensibilidade ou alergias, substituir por luvas de vinila.	Oferece boa destreza. Forte e durável. Resistente às perfurações. Bom conforto e ajuste. Excelente resistência a produtos químicos	Não recomendada para o contato com solventes, ésteres e cetonas	Oxido de zinco, dióxido de titânio, nitrato de cálcio, caseína, di (2-etilhexil) ftalato, 2-terc-butil-4-metilfenol, N-isopropil-N-fenilparafenilenodiamina, N-ciclohexil-N-fenilparafenilenodiamina, mercaptobenzotiazol, N-ciclohexil-2-benzotiazilsulfenamida, morfolinilmercaptobenzotiazol, dibenzotiazylidissulfeto, dietilditiocarbamato de zinco, dibutilditiocarbamato de zinco, dimetilditiocarbamato de zinco, 1,3-difenilguanidina, dissulfeto de tetraetiltiuram, monossulfeto de tetrametiltiuram, pigmento azul 15:1 (CI 74160:3), pigmento verde 7 (CI 74260), álcool poliglicólico éter, Dowfax™ (dissulfonato de mono e di-álquil difenil-óxido dissódico sal dissódico), poliamida, carboximetilcelulose de sódio, solução de amônia, óleo mineral, resina fenólica terpeno, resina de melamina metilada, álcool polivinílico (PVA), metanol, xileno	PAOLHORIES, 1993 ROSE et al, 2009

Fonte: (Do autor, 2018).

1.3 Regulamentação de luvas cirúrgicas e de procedimentos no Brasil

A regulamentação de luvas cirúrgicas e de procedimentos no Brasil é de responsabilidade de órgãos regulamentadores e normativos: o MTE, que é um órgão da administração direta do governo federal, a ANVISA, que é uma autarquia sob regime especial ligada ao Ministério da Saúde e o INMETRO,

que também é uma autarquia federal cujo foco de atuação é o processo de melhoria da qualidade dos produtos e serviços comercializados no Brasil (CHÁVEZ; CÁCERES, 2017).

No caso do MTE, é exigido que as empresas obtenham o Certificado de Aprovação (CA) para comercialização do produto. Este faz parte do processo de certificação, uma vez que os EPIs devem atender à Norma Regulamentadora N° 6 (BRASIL, 1978). O MTE trabalha em cooperação técnica com o INMETRO baseando-se no Certificado de Conformidade para a emissão dos CAs (MARTINS et al, 2015).

O EPI, de fabricação nacional ou importado, só poderá ser posto à venda ou utilizado quando dispuser do CA, expedido pelo órgão nacional competente em matéria de segurança e saúde no trabalho do MTE (BRASIL, 2010b).

A ANVISA tem como responsabilidade o controle sanitário da produção e da comercialização de produtos submetidos à vigilância sanitária, o que significa executar ações que envolvam a emissão de Autorização de Funcionamento de empresas, inspeções para verificação das Boas Práticas de Fabricação (BPF), análise de processos de registro de produtos e o monitoramento da qualidade destes pelo controle pós-mercado. (BRASIL, 1999).

Dentre os produtos sujeitos à regulação pela ANVISA encontram-se os materiais de uso em saúde, que se enquadram no grupo denominado Produtos Médicos, definidos pela RDC nº 185, de 22 de outubro de 2001 como:

Produto para a saúde, tal como equipamento, aparelho, material, artigo ou sistema de uso ou aplicação médica, odontológica ou laboratorial, destinado à prevenção, diagnóstico, tratamento, reabilitação ou anticoncepção e que não utiliza meio farmacológico, imunológico ou metabólico para realizar sua principal função em seres humanos, podendo, entretanto, ser auxiliado em suas funções por tais meios. (BRASIL, 2001b).

A avaliação da conformidade das luvas no Brasil é realizada por meio do mecanismo de certificação. Neste processo, a avaliação e os ensaios são conduzidos por organismos e laboratórios acreditados pelo INMETRO, que possuem atividades essenciais no estabelecimento de Programas de Avaliação

da Conformidade, como estabelecer as regras para avaliação do objeto, e acreditar os organismos de certificação e os laboratórios de ensaios (MARTINS et al, 2015).

Em 2008, no Brasil, o Ministério da Saúde publicou a Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA, RDC nº5 de 2008, que estabeleceu requisitos mínimos de identidade e qualidade para as luvas cirúrgicas e luvas de procedimentos não cirúrgicas de borracha natural e sintética ou misturas de borracha natural e sintética, sob regime de vigilância sanitária (BRASIL, 2008).

Inicialmente, o Regulamento Técnico estabelece as definições das luvas sob regime de vigilância sanitária que são escopo deste, sendo:

LUVA CIRÚRGICA: Produto feito de borracha natural ou borracha sintética ou misturas de borrachas natural e sintética, de uso único, de formato anatômico, com bainha ou outro dispositivo capaz de assegurar um ajuste ao braço do usuário (a), para utilização em cirurgias.

LUVAS PARA PROCEDIMENTOS NÃO CIRURGICOS: Produto feito de borracha natural ou borracha sintética ou misturas de borracha natural e sintética, de uso único, para utilização em procedimentos não cirúrgicos para assistência à saúde (BRASIL, 2008).

Além destas características, as luvas devem atender ao disposto nas Normas Brasileiras ABNT NBR 13392:1995/Emenda1:2004 e ABNT NBR 13391:1995, conforme o regulamento técnico específico, para os requisitos: a) dimensão (comprimento, largura e espessura); desempenho mecânico (antes e após envelhecimento em estufa); hermeticidade; e b) verificação das características microbiológicas. Bem como, também, este regulamento estabelece, requisitos para embalagem e rotulagem, acondicionamento e armazenamento, tendo em vista o impacto destes na geração de perigos de uso incorreto e manutenção da integridade do produto.

Entretanto a má qualidade das luvas comercializadas determinou a mudança da legislação vigente e, desde então, houve um desabastecimento das luvas sintéticas no mercado devido ao não atendimento aos requisitos técnicos estabelecidos na RDC Nº 5, de 15 de fevereiro 2008, da ANVISA, para a certificação do produto. A partir deste momento, a ANVISA mudou a classe do produto para cadastro, ou seja, retirou a obrigatoriedade da certificação compulsória, tornando desnecessária a inspeção quanto às BPF nas

empresas, estabelecida pela RDC N° 1.610, de 2013, que substituiu a RDC N° 5.911, de 2000, não avaliando mais os ensaios clínicos e imunotoxicológicos, entre eles a presença de alérgenos e pó em luvas (MARTINS et al, 2015).

As luvas para procedimentos não cirúrgicos fabricadas em látex são produtos sob certificação compulsória do INMETRO. Isso significa que o INMETRO realiza testes periódicos nos produtos antes, durante e após a comercialização pelo fabricante ou importador, com intuito de verificar se foram fabricados de acordo com as normas técnicas específicas para cada tipo de luva. As luvas para procedimentos não cirúrgicos fabricadas em borracha sintética, como nitrila e vinila, estão isentas de certificação compulsória, conforme Portaria 332/2012 INMETRO, artigo 4º (BRASIL, 2012a)

A certificação compulsória deve ser concedida por Organismo de Certificação de Produto (OCP), organização independente, acreditada pelo INMETRO que se baseia nos requisitos mínimos estabelecidos no Regulamento Técnico aprovado. Os fabricantes e importadores que não cumprem as normas e regulamentos são multados e os produtos irregulares são retirados de comercialização (MACEDO, 2014).

A regulamentação da ANVISA foi atualizada para atender aos critérios da Organização Mundial do Comércio (OMC). Como resultado, foi revisada a Resolução RDC N° 5, de 2008 e publicada a Resolução RDC N° 55, de 2011, adotando-se os ensaios estabelecidos nas normas ISO 10.282, de 2002 Corrigenda 2005 e NBR ISO 11.193-1, de 2009. “Esta Resolução isentou da certificação compulsória no âmbito do Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade (SBAC) as luvas cirúrgicas e de procedimento de borracha sintética, como de PVC ou outros materiais sintéticos”.

A RDC n° 55 também incluiu luvas de PVC sobre o regime de vigilância sanitária, com a finalidade de garantir um produto seguro e eficaz quanto à finalidade a que se propõe. Essa Resolução define também requisitos de desempenho que englobam: a) ensaios de dimensões físicas (comprimento, largura e espessura); b) ensaios mecânicos: força na ruptura e alongamento (antes e após envelhecimento em estufa); c) ensaios de impermeabilidade e ensaios microbiológicos. Preconizam também em sua rotulagem a seguinte advertência: “ESTE PRODUTO CONTÉM LÁTEX DE BORRACHA NATURAL,

SEU USO PODE CAUSAR REAÇÕES ALÉRGICAS EM PESSOAS SENSÍVEIS AO LÁTEX”.

Em decorrência da modificação da base normativa, o INMETRO publicou as Portarias N° 332, de 26 de junho de 2012, e 451, de 31 de agosto de 2012, tendo o setor já se adequadado às novas exigências das regulamentações.

A RDC n° 55 ressalta ainda, no seu artigo 10, inciso II que as luvas devem ser avaliadas previamente quanto à segurança para uso em contato com a pele humana, mas apesar desta exigência, nem a RDC N° 55 e a Portaria N° 332 do INMETRO não especificam os testes toxicológicos adequados para a determinação de segurança (BRASIL, 2011a; BRASIL, 2012a).

As agências regulatórias mundiais e a ANVISA, por meio das ações para garantir a segurança sanitária de produtos, recomendam o uso de testes específicos para avaliar a citotoxicidade induzida por dispositivos médicos (VIDAL et al, 2009).

1.4 Considerações em relação ao mercado internacional de luvas e seus aspectos regulatórios

Com aumento do fluxo de comércio internacional e no contexto mundial de desaceleração do crescimento econômico, há uma tendência de que os países busquem meios de proteger seu mercado interno ao mesmo tempo em que tentam garantir a continuidade de suas exportações para outros mercados. Assim, de um lado firmam parcerias fomentando acordos regionais de comércio, de outro criam normas e regulamentação que muitas vezes podem ser consideradas barreiras ao comércio internacional. As normas técnicas são uma das formas de barreiras que vem sendo utilizadas para a proteção deste mercado (ALBIERE; RUSCHEL, 2012)

A FDA e a *Conformité Européenne* (CE) são órgãos governamentais responsáveis pela avaliação de dispositivos médicos nos Estados Unidos da América (EUA) e na União Européia (UE), respectivamente. O fabricante de um dispositivo médico deve se registrar na FDA para solicitar aprovação. Cada

dispositivo recebe uma classificação baseada no risco que representa para o paciente e / ou usuário. Luvas e instrumentos cirúrgicos pertencem à classe I, que correspondem a produtos relativamente não invasivos (MUSKENS et al, 2017).

Os dispositivos médicos na UE, devem cumprir os requisitos de diretrizes, de acordo com as normas europeias existentes e com a monografias da Farmacopeia Europeia. Os fabricantes devem obter a autenticação da CE antes de um dispositivo médico ser permitido no mercado. Além disso, para os fabricantes que não pertencem ao mercado europeu será exigida uma autorização do representante para as luvas serem aprovadas e comercializadas (MUSKENS et al, 2017).

As normas europeias são editadas pelo Comitê Europeu de Normalização. As luvas destinadas ao uso no campo da medicina para proteger os pacientes e os usuários de contaminação cruzada são referidas como dispositivos médicos e são regulamentadas pela Directiva 93/42 / CEE e seguem a *American Society for Testing and Materials* (ASTM) (MELLSTRÖM; BOMAN, 2004; SHAH; GOYAL, 2008).

Os EUA e a UE têm a maior parcela do comércio global, controlam a maior parte do mercado, como também são os mais importantes importadores e exportadores desses produtos. Os padrões americanos e europeus são formulados por especialistas em dispositivos médicos de empresas estabelecidas nos países da UE e nos EUA, que se baseiam nas normas da ASTM (ALTENSTETTER, 2005)

Entretanto o eixo de produção e inovação tecnológica de artigos como luvas cirúrgicas ou de procedimentos não cirúrgicos, concentrou-se no Sudeste Asiático, notadamente na Malásia. Este país responde por aproximadamente 60% da produção mundial de luvas médicas. A principal matéria prima para as luvas é o látex natural, extraído da seringueira (*Hevea brasiliensis*). Este país é o terceiro maior produtor desta *commodity*. A simples vantagem comparativa de custo de aquisição de matéria prima não parece explicar a liderança do setor manufatureiro malaio. Sabe-se que este pequeno país tem se destacado na competitividade global (IMD - *World Competitive Mess Yearbook*, 2004).

A origem da vantagem competitiva é a existência de clientes sofisticados e exigentes. Como a produção de luvas na Malásia visa eminentemente a exportação, o conceito tem que ser adaptado de alguma forma. Então, parece razoável que seja analisado nas suas especificidades o maior mercado consumidor de luvas, os EUA. Este mercado é extremamente exigente dado seu alto poder aquisitivo, seu alto nível tecnológico, notadamente o de saúde. A legislação para produtos médicos é rigorosa. Soma-se a isto a problemática da alergia ao látex natural e à série de restrições e imposições que decorreram na antecipação de uma preocupação crescente no mercado americano referente a saúde pública. A reação positiva dos fornecedores malaios, sendo ainda mais rigorosos nos seus padrões, os fez liderar uma vez mais, todo o desenvolvimento de luvas com melhores propriedades de uso seguro. Resulta que o aglomerado todo se beneficiou do salto qualitativo e da diversificação de produtos decorrentes dos avanços (MAZZARO et al, 2009).

Com a globalização do setor de dispositivos médicos, também, desenvolveu-se uma organização semelhante à *International Council for Harmonization of Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH), que é a Força-Tarefa de Harmonização Global (GHTF), que está em um estágio de desenvolvimento anterior ao ICH e é menos formalizada. Suas atividades recentes foram nas áreas de nomenclatura de dispositivos e supervisão e orientação pós-comercialização. A regulamentação dos dispositivos médicos ainda está em evolução. Esses novos produtos terão potencial para melhorar significativamente o bem estar do paciente, mas precisarão de um bom controle regulatório para maximizar os benefícios (JEFFERYS, 2001).

1.5 Dermatite de contato por utilização de luvas

A Dermatite de Contato Ocupacional (DCO) é uma das doenças ocupacionais mais comuns, afetando até 10 % dos trabalhadores nos EUA, com custos anuais superiores a um bilhão de dólares. Esta dermatose representa 90 a 95 % de todas as doenças cutâneas ocupacionais, classificando-se em dermatite de contato alérgica (DCA) e dermatite de contato irritativa (DCI). A DCI representa cerca de 80 % dos casos, sendo as mãos a

localização mais envolvida na DCO. As profissões com maior risco de desenvolver DCO incluem os trabalhadores na indústria alimentar, os profissionais de saúde, as cabeleireiras, as esteticistas, os funcionários de limpeza, os trabalhadores rurais e da indústria de construção civil (ROSMANINHO; MOREIRA; SILVA, 2016).

As DCs são provocadas por substâncias irritantes, levando à DC não alérgicas ou irritativas. O processo inflamatório da DCA é mediado por mecanismos imunológicos, podendo ser causada por substâncias inorgânicas, orgânicas, vegetais ou sintéticas, enquanto que a DCI é causada por dano tissular direto após contato com o agente agressor que inicia a reação inflamatória. A DCI pode ser desencadeada por um irritante primário absoluto que danifica a pele ao primeiro contato, ocasionando reações intensas com bolhas e ulcerações com aspecto de uma “queimadura” (MARTINS; REIS, 2011)

Para as DCAs o mecanismo de sensibilização é bastante complexo e apesar de ser objeto de inúmeros estudos é apenas parcialmente conhecido. Nas últimas décadas, houve um rápido avanço na compreensão da resposta alérgica de contato. Este avanço ocorreu paralelamente às descobertas do sistema imune e ao desenvolvimento de ferramentas para estudá-lo. As mais variadas técnicas de investigação, aplicadas principalmente em modelos experimentais com camundongos, como o desenvolvimento de anticorpos monoclonais (que permitiram a identificação de células e citocinas por diferentes métodos), culturas de células, a administração de citocinas, inativação de genes (*knock-out*) entre outras, são responsáveis pelos avanços que serão discutidos (MARTINS; REIS, 2011)

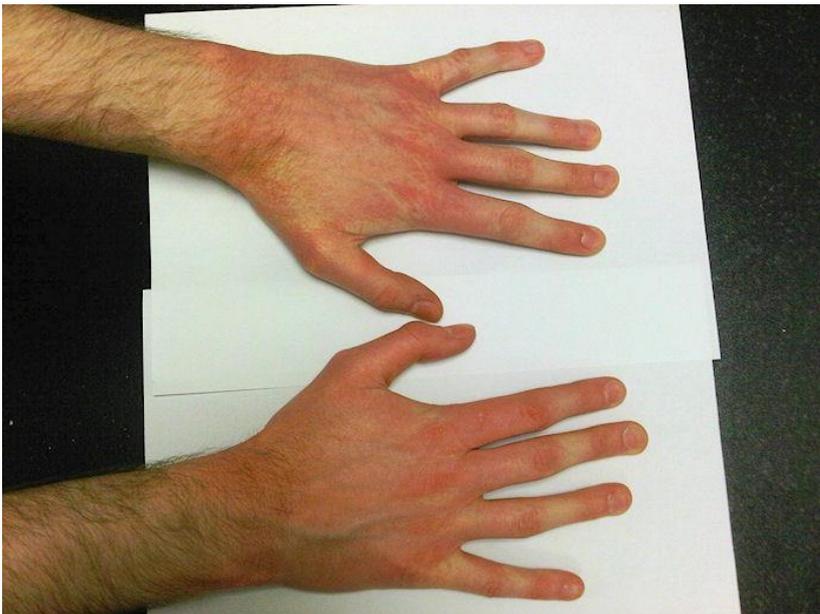
A DCA ocorre como consequência de uma cascata de processos físico-químicos e imunes que podem ser didaticamente divididos em duas fases: de indução, também chamada de aferente, e de elicitação ou eferente. A fase de indução envolve todos os passos, desde o contato com o alérgeno até o desenvolvimento da sensibilização. A elicitação inicia-se após o contato com o hapteno em um indivíduo previamente sensibilizado e resulta na DCA (MARTINS; REIS, 2011)

Esta dermatite é desencadeada por uma resposta imune específica contra determinantes antigênicos de substâncias químicas que entram em contato com a pele desencadeando a reação. Normalmente apenas substâncias com baixo peso molecular (< 500 daltons) são capazes de penetrar na pele intacta. As substâncias com baixo peso molecular (haptenos) ligam-se a proteínas da própria pele formando conjugados hapteno-proteína. O antígeno completo (hapteno-proteína) é processado e apresentado à célula de Langerhans, que em seguida leva os antígenos específicos de superfície a se ligarem aos receptores específicos (MHC) de linfócitos T, produzindo uma resposta imune (MOTTA et al, 2011).

Já a DCI é uma reação cutânea adversa comum, não imunológica, ocorrendo principalmente nas mãos. Dermatite de contato é uma reação inflamatória cutânea caracterizada morfológicamente por lesões do tipo eczema, ou seja, eritema, vesículas, exsudação, pápulas, escamas e liquenificação, que podem ocorrer isoladas ou simultaneamente. Essas dermatites são resultantes da exposição direta a algum agente externo (molécula estranha) com a participação ou não de luz ultravioleta (fótons) na superfície da pele. Embora a dermatite de contato (DC) seja frequentemente associada à etiologia alérgica, cerca de 80% das DCs são provocadas por substâncias irritantes, levando à DC não alérgica ou irritativa.

A DCI pode ser desencadeada por um irritante primário absoluto que danifica a pele ao primeiro contato. Se o contato persiste, a dermatite pode se tornar crônica e de difícil tratamento, podendo até impedir as atividades diárias do indivíduo (MOTTA et al, 2011). A DCI provocada pela utilização de luvas tem uma sintomatologia que inclui prurido e hiperemia bem demarcada como observado na Figura 1 e Figura 2.

Figura 1 - Dermatite de contato irritativa por utilização de luvas



Fonte: (<http://www.safetyphoto.co.uk/photo1/ppe/health/dermatitis.htm>)

Figura 2 - Dermatite de contato irritativa, em uma enfermeira causada pela utilização de luvas



Fonte: (http://www.handeczema.com/hand_eczema_images.html)

A DCA pode apresentar-se na sua fase aguda com muito prurido, vesículas e bolhas. Na fase subaguda, o prurido e o eritema são de menor intensidade e, em geral, não há vesículas. Na forma crônica o prurido é mínimo, com ruptura de vesículas, descamação com alguns sinais de pós-

inflamação, como hiperpigmentação, hipopigmentação e/ou liquenificação (MOTTA et al, 2011).

Em um ano nos EUA, 72 milhões de pessoas tiveram quadros compatíveis com DC, levando a 9,2 milhões de consultas a dermatologistas. Esta acomete 15 a 20% da população em algum momento da vida, é a terceira causa de consulta ao dermatologista, e é responsável por cerca de 15 a 20% das doenças ocupacionais nos EUA (MOTTA et al, 2011).

Na Comunidade Econômica Europeia (CEE) existe a Normativa 89/656/CEE que estipula as propriedades necessárias para as luvas protegerem os trabalhadores e define que todas as luvas devem estar em conformidade com a Directiva de Equipamento de Proteção Individual Padrão. A Norma Europeia (EN 420: 2003, *General Requirements for Gloves*) define os requisitos gerais e procedimentos de ensaio relevantes para luvas (ECS, 2003). No que diz respeito ao potencial sensibilizante, afirma que as luvas não devem causar "danos para o usuário", que o cromo (VI) não deve ser detectável ($<10 \text{ mgkg}^{-1}$) e que a borracha natural deve ser testada para proteínas utilizando métodos de extração definidos na norma EN 455-3 (ECS, 2015). Fabricantes de luvas nos EUA também devem ter o registro, avaliação e autorização concedidas pela FDA, e algumas restrições de uso de substâncias químicas. Este processo está atualmente sendo desenhado para fornecer adicional informação sobre a utilização de produtos químicos e para promover a utilização segura de luvas (ROSE et al, 2009).

Atualmente, as dermatoses ocupacionais representam de 13% a 34% das doenças profissionais em todo o mundo. A DC representa de 4% a 7% de todos os relatos dermatológicos, 50% destes são relacionados a doenças ocupacionais (OLIVEIRA; ALCHORNE, 2011).

1.6 Testes de citotoxicidade *in vitro*

Considerando a importância do conhecimento das manifestações de reações tóxicas e ainda o potencial de risco de migração de componentes das luvas para as mãos dos trabalhadores ocasionando doenças ocupacionais, compreende-se a importância da inserção de metodologias para avaliação da

citotoxicidade na legislação brasileira, como um dos requisitos mínimos para garantir a utilização segura destes produtos pelos profissionais da área de saúde. É importante salientar que com o controle cada vez mais rigoroso em relação ao uso de animais de laboratório, há a necessidade de se utilizar testes *in vitro* que possam detectar a toxicidade de dispositivos para uso em seres humanos, principalmente aqueles de aplicação clínica. A utilização de cultura de células vem sendo aplicada como parte de uma série de testes recomendados para avaliar o perfil biológico dos materiais a serem colocados em contato com tecidos humanos (PITHON et al, 2009).

No que se refere às culturas de células, essas são fáceis de serem manipuladas e observadas do ponto de vista microscópico, bioquímico e molecular, após a adição de substâncias no meio onde estão sendo cultivadas. Todavia, essas mesmas substâncias testadas nas células devem ser estudadas quando aplicadas em um organismo vivo (em animais de experimentação, principalmente mamíferos), pois *in vivo* vários fatores do próprio organismo podem interferir nos resultados. De qualquer forma, os estudos prévios *in vitro* auxiliam na redução do número de animais utilizados nas pesquisas (MORALES, 2008).

A análise da biocompatibilidade consiste em uma sequência de testes e inclui testes *in vitro* (usando células e tecidos), modelos animais e triagens clínicas. Várias diretrizes e procedimentos foram criados para esta finalidade, por exemplo: organizações para estabelecimento de padrões nacionais e internacionais (ASTM), organizações internacionais de padronização (ISO), e agências federais internacionais (FDA). Testes *in vitro* utilizando culturas de células foram utilizados com sucesso para avaliar a citotoxicidade de biomateriais. O modelo celular *in vitro* proporcionou uma alta versatilidade para analisar os aspectos da biocompatibilidade de biomateriais. Certamente, este modelo propicia o estudo de funções (e mecanismos pertinentes) de uma linhagem celular por um período de tempo; contudo, tal procedimento proporciona uma limitada visão da complexa organização celular do corpo humano. As culturas de células primárias também são utilizadas, apesar de apresentarem uma menor reprodutibilidade, eficiência e em alguns casos, disponibilidade. Os testes com culturas celulares utilizados para analisar a

biocompatibilidade das luvas neste trabalho foram: difusão em ágar, contato direto eluição e de captação de vermelho neutro. Os quatro ensaios diferem na maneira pela qual o material é exposto às células. Para padronizar estes ensaios e comparar os resultados, as variáveis, número de células no estabelecimento das culturas, o tipo de célula, a duração do tratamento, o tamanho e a área superficial da amostra a ser testada devem ser cuidadosamente controlados. Geralmente são preferíveis linhagens celulares permanentes no estabelecimento de culturas *in vitro*, devido a sua maior reprodutibilidade e menor variabilidade nos resultados (RANTER et al, 2004).

A linhagem de fibroblastos de camundongo (L929) é muito utilizada em testes de biomateriais. Inicialmente esta linhagem foi selecionada devido a sua fácil manutenção em cultura e por produzir resultados que possuem alta correlação com os ensaios *in vivo* (RATNER et al, 2004).

Além disso, os fibroblastos são escolhidos por serem células que estão presentes na regeneração tecidual. A escolha das linhagens celulares se baseia no tipo de análise que será realizada (viabilidade, atividades enzimática e em receptores específicos). Para a validação dos testes são necessários controles positivos e negativos. As metodologias para os testes com cultura de células são descritas pela *United States Pharmacopeia* (USP), e padronizadas pela ASTM e ISO (RATNER et al, 2004).

O teste de citotoxicidade *in vitro* pelo método de difusão em ágar, acreditado pelo INMETRO, foi realizado de acordo com o POP INCQS nº 65.3330.010 baseado nas diretrizes estabelecidas na Farmacopéia Americana 39ª edição (USP, 2016).

No método de difusão em ágar, a camada de ágar protege as células do dano mecânico durante a colocação da amostra e permite a difusão de substâncias químicas que migram das amostras de materiais plásticos, elastômeros e de outros polímeros empregados na fabricação de dispositivos médicos. O corante vital vermelho neutro, adicionado ao meio de cobertura, é captado rapidamente pelas células vivas, e armazenado em lisossomos, corando as células em vermelho (GRASSO; GAYDON; HENDY, 1973). Durante o processo de necrose, causado pelo contato com as amostras de

luvas e controle positivo, as células coradas liberam o corante produzindo regiões com células mortas descoradas (halos).

De acordo com a ISO 10.993-5, o ensaio de citotoxicidade *in vitro* por difusão em ágar propõe-se a determinar a reatividade biológica de culturas celulares de mamífero a partir do contato com plásticos, borrachas ou elastômeros e outros materiais de uso médico hospitalar (USP, 2016).

Igualmente, o teste de citotoxicidade *in vitro* pelo método de contato direto é projetado para materiais poliméricos de várias formas. O procedimento permite a extração e teste simultâneos de produtos químicos lixiviáveis da amostra para o meio de cultura celular suplementado com soro fetal bovino. O procedimento não é apropriado para materiais de muito baixa ou alta densidade que podem causar danos mecânicos às células (USP, 2016). Sua metodologia é similar à do ensaio de difusão em ágar, com exceção da camada de ágar não presente no método de contato direto (USP, 2016).

Assim como, o método de citotoxicidade *in vitro* pelo método de eluição é apropriado para a avaliação de extratos de materiais poliméricos. O procedimento possibilita a extração de amostras em intervalos de tempo variados e em temperaturas fisiológicas e não fisiológicas (USP, 2016).

Já o teste de citotoxicidade pela captação do vermelho neutro foi desenvolvido na Universidade de Rockefeller, para avaliar a sobrevivência/viabilidade celular. Baseia-se na capacidade de células viáveis de incorporarem e se ligarem ao corante vital vermelho neutro. Este corante fracamente catiônico penetra, por difusão passiva não iônica, pelas membranas celulares e se acumula intracelularmente nos lisossomos (pH lisossômico < pH citoplasmático), onde se liga através de ligações eletrostáticas hidrofóbicas à matriz aniônica e/ou aos grupos fosfato dos lisossomos (WINCKLER, 1974; NEMES et al, 1979). Concomitante ligação do corante vermelho neutro é um indicador altamente sensível de viabilidade celular.

O corante é então extraído das células viáveis usando uma solução alcoólica acidificada e a absorbância do corante solubilizado é quantificada usando um espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm. A quantidade de corante incorporado às células é diretamente proporcional ao

número de células com membrana intacta (REPETTO; DEL PESO; ZURITA, 2008).

O ensaio pode ser utilizado para avaliar a citotoxicidade por meio da determinação da concentração inibitória média ou concentração inibitória 50% (CI_{50}). Este parâmetro quantitativo indica quanto de uma determinada substância (inibidor) é necessário para inibir a metade de um processo biológico. No método pela captação de vermelho neutro, os valores de CI_{50} calculados corresponderam às concentrações de extratos das amostras de luvas, ou de extratos dos controles negativo ou positivo que determinaram 50% de morte celular.

Testes de citotoxicidade *in vitro* podem ser utilizados como uma primeira etapa na avaliação biológica do material de fabricação das luvas. Esses métodos são desenhados para determinar a resposta biológica de culturas de células quando expostas ao material e/ou extratos deste material. A citotoxicidade é determinada qualitativamente ou quantitativamente seguindo as diretrizes estabelecidas na ISO 10.993-5 (ISO, 2009).

2 JUSTIFICATIVA

Uma das missões do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) é desenvolver, adequar ou implantar metodologias analíticas aplicadas à verificação da qualidade de produtos de saúde conforme demandas da ANVISA.

Este trabalho se justifica pelo alto índice de reações cutâneas de contato ocasionadas pela utilização de luvas, se tornando um problema latente de saúde do trabalhador. A frequente utilização de luvas cirúrgicas e de procedimentos pelos profissionais da saúde e a exposição desses profissionais estão relacionadas diretamente com o contato com substâncias químicas presentes na luva, expondo tanto os trabalhadores quanto os pacientes. Essas substâncias não estão contempladas na rotulagem desse produto, o que resulta em outro problema, pois os profissionais e pacientes se quer sabem o que realmente está causando a dermatite de contato ocupacional irritante (DCOI), e em alguns casos até o óbito de pacientes (OLIVEIRA; ALCHORNE, 2011).

O trabalho tem por finalidade avaliar a citotoxicidade *in vitro* de luvas cirúrgicas e de procedimentos não cirúrgicos, utilizando quatro metodologias para biomaterias preconizadas na Farmacopeia Americana (USP), na Farmacopeia Brasileira e na *The Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD), e com isso, propor estes testes toxicológicos como um requisito na legislação brasileira para garantir um produto com maior segurança e confiabilidade no mercado (USP, 2016; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; OECD, 2004).

A não exigência na legislação brasileira de realização de ensaios toxicológicos no controle da qualidade biológico de luvas cirúrgicas e de procedimentos gera grande impacto não só na saúde do trabalhador e paciente, mas também na economia, já que esses profissionais muitas vezes ficam impossibilitados de realizar suas atribuições.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a citotoxicidade *in vitro* de luvas cirúrgicas e de luvas de procedimentos de látex de borracha natural, nitrílicas e vinílicas em culturas de células L929 de fibroblasto de camundongo.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar os ensaios de citotoxicidade *in vitro* pelos métodos de difusão em ágar, contato direto, eluição e de captação de vermelho neutro
- Comparar os resultados obtidos nos quatro métodos de ensaio para o controle da qualidade das luvas.
- Elaborar os Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs) dos ensaios de citotoxicidade *in vitro* pelos métodos de contato direto e de eluição.

4 METODOLOGIA

As amostras de luvas cirúrgicas de látex de borracha natural e de procedimentos não cirúrgicas de borrachas sintéticas de nitrila e de vinila foram analisadas pelos testes de citotoxicidade *in vitro*, métodos de difusão em ágar, contato direto e eluição, conforme o descrito na Farmacopeia Brasileira (2010) e na Farmacopeia Americana (USP, 2016) e o método de captação de vermelho neutro realizado conforme a diretiva 432 da OECD (OECD, 2004; REPETTO; DEL PESO; ZURITA 2008).

4.1 Amostras de luvas analisadas

As 35 amostras de luvas (28 de látex, 4 de nitrila e 3 de vinila) foram provenientes dos almoxarifados de três unidades da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), mais especificamente do INCQS (15 luvas de látex, 3 de vinila e 4 de nitrila), do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/Fiocruz: 5 luvas de látex) e do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF/Fiocruz) foram fornecidas 8 luvas de látex. Dentre as 35 amostras de luvas recebidas, somente uma amostra de luva de nitrila tinha corante azul. Essas amostras foram encaminhadas ao INCQS através de um termo de cooperação independente estabelecido no âmbito da Fiocruz, entre o INCQS, INI e o IFF. As requisições destas amostras foram realizadas através do Núcleo Técnico de Artigos para Saúde, solicitando todas as marcas e lotes diferentes de luvas em estoque naquele período, totalizando 13 diferentes marcas. As amostras de luvas foram coletadas em triplicata, ou seja, para cada lote e tipo de material foram coletados três pares de maneira aleatória. Desta forma, foram contemplados todos os tipos de luvas utilizados nestas unidades no ano de 2016. As amostras foram cadastradas no sistema HARPYA na modalidade de orientação. Ao dar entrada no Setor de Citotoxicidade e Genotoxicidade do Departamento de Farmacologia e Toxicologia do INCQS, as amostras foram codificadas com letra maiúscula A e numeradas crescentemente de A1 a A35.

4.2 Controles utilizados nos ensaios:

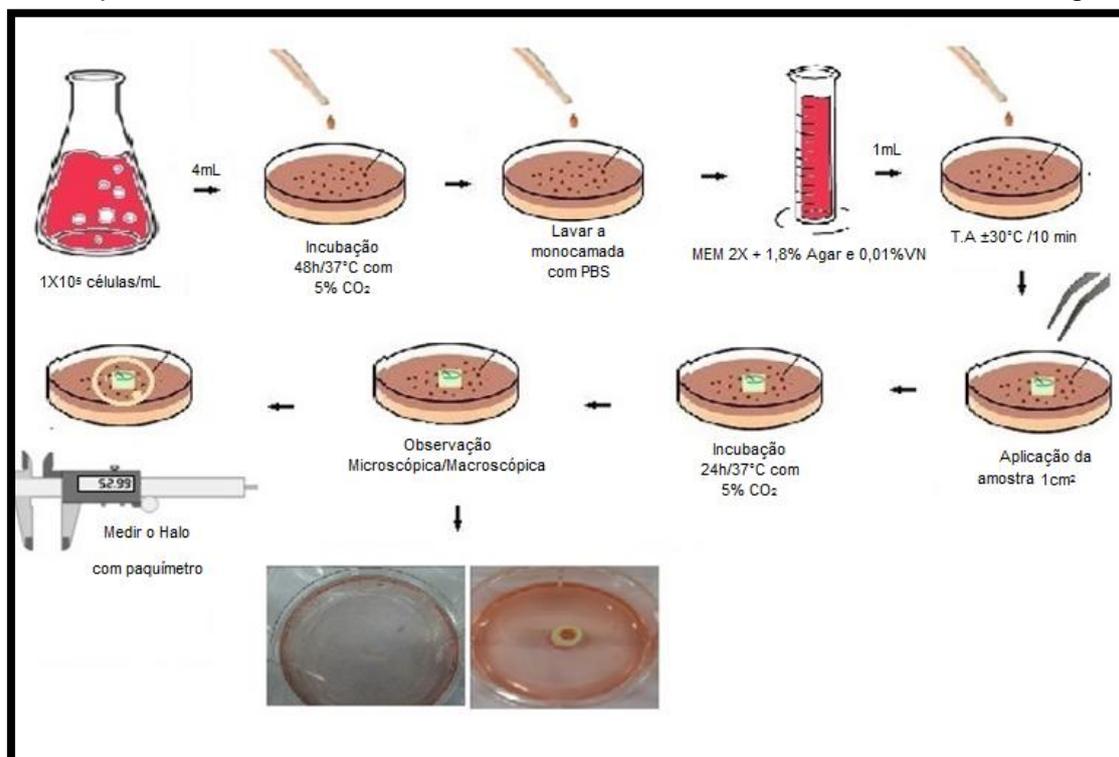
O controle negativo utilizado em todos os ensaios foi um material plástico de referência da USP próprio para os ensaios farmacopeicos e para o controle positivo foi utilizado um garrote de látex previamente testado e padronizado para este fim.

4.3 Teste de citotoxicidade *in vitro* – método de difusão em ágar

Neste ensaio foram utilizadas as células fibroblásticas de camundongo – Clone L929 – da *American Type Culture Collection* (ATCC: Rockville, MD, USA), cultivadas em meio essencial mínimo (MEM) com sais de Earle (Sigma), suplementado com 5% de soro fetal bovino (Gibco), 2 mM de glutamina (Gibco), 10^2 UI/mL de penicilina e 10^2 µg/mL de sulfato de estreptomicina (Gibco), ou seja, MEM completo. As culturas foram mantidas por 48 h em estufa (Sanyo) a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ com $5\% \pm 1\%$ de CO_2 . A suspensão com 4×10^5 células em 4 mL de MEM completo foi adicionada por poço da microplaca de cultura (35 mm de diâmetro). Após 48 h, foram utilizadas as culturas que apresentaram uma camada celular uniforme e com confluência superior a 80%. O MEM completo foi retirado e as células aderidas lavadas com 2 mL de solução salina tampão de fosfato (PBS) por poço. Após a retirada do PBS, adicionou-se por poço da microplaca, 1 mL de meio de cobertura, contendo MEM com 0,9% de ágar e 0,005% de corante vermelho neutro. Antes da adição às placas, a solução de ágar a 1,8% com 0,01% de vermelho neutro foi fundida e misturada em volumes iguais com o MEM 2X concentrado mantido em banho-maria a $44^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Após a solidificação do ágar nas placas, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, colocou-se no centro de cada um de dois poços, sobre a camada de ágar, um fragmento de cerca de 1 cm^2 de cada amostra de luva. As amostras foram cortadas com tesoura cirúrgica. Em seguida, as placas foram incubadas durante 24 h em estufa a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ com $5\% \pm 1\%$ de CO_2 , nas posições invertidas e protegidas da luz com papel de alumínio. Em seguida foram medidas por meio de um paquímetro, as regiões

descoloridas produzidas nas culturas de células. As etapas do ensaio estão esquematizadas na Figura 3 abaixo.

Figura 3 - Esquema do ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de difusão em ágar



Fonte: (Do autor, 2018).

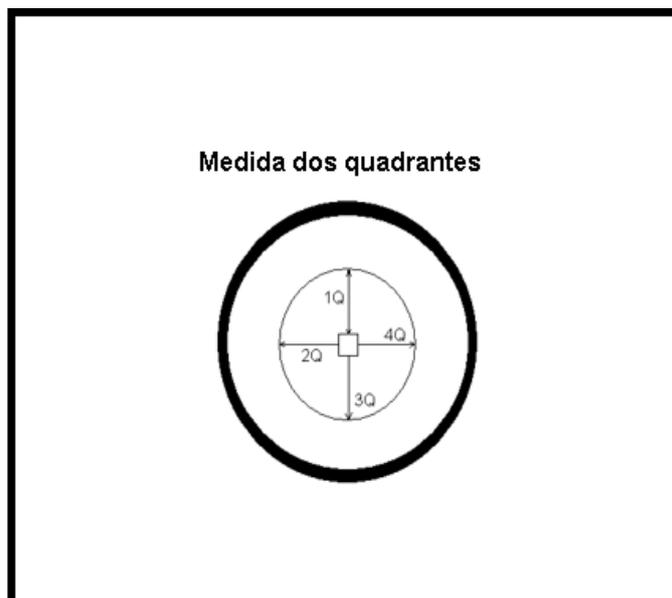
PBS: solução salina tampão de fosfato; VN: vermelho neutro; TA: temperatura ambiente; MEM: meio essencial mínimo.

4.3.1 Avaliação da citotoxicidade - método de difusão em ágar

Vinte e quatro horas após a aplicação das amostras de teste e controles avaliou-se o grau de citotoxicidade observando-se microscopicamente a morfologia e a coloração das células sob e ao redor das amostras de teste e dos controles.

As extensões das áreas descoloradas (células mortas) a partir das extremidades da amostra nos 4 diferentes quadrantes foram medidas macroscopicamente com o auxílio do paquímetro, conforme mostra a Figura 4.

Figura 4 - Esquema para a medida das áreas descoradas nos quatro quadrantes



Fonte: (Adaptado do POP 653330.010).

O valor médio dos valores dos 4 diferentes quadrantes de cada cultura foi calculado. Em seguida, relacionou-se os valores médios obtidos para cada amostra e controles com os limites especificados para os diferentes graus de citotoxicidade (quantificados numa escala de 0 a 4) indicados no Quadro 2

Quadro 2 - Classificação e descrição da zona de citotoxicidade: teste de difusão em ágar e contato direto

GRAU	CITOTOXICIDADE	DESCRIÇÃO DA ZONA DE CITOTOXIDADE
0	Ausência	Ausência de descoloramento ao redor ou sob a amostra
1	Leve	Zona de descoloramento limitada a área sob a amostra
2	Branda	Tamanho da zona de descoloramento a partir da amostra menor que 0,45 cm
3	Moderada	Tamanho da zona de descoloramento a partir da amostra compreendido entre 0,45 cm a 1,0 cm
4	Severa	Tamanho da zona de descoloramento a partir da amostra maior que 1,0 cm, porém não envolvendo a placa inteira

Fonte: (Adaptado da *The United States Pharmacopeia*, 2016).

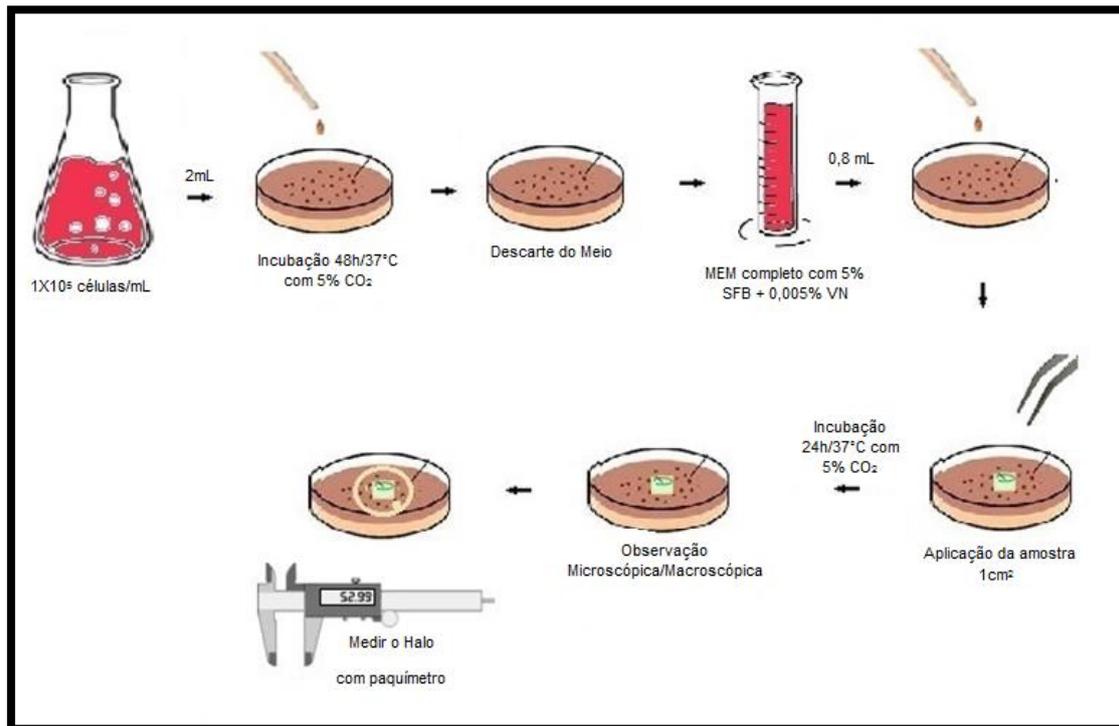
O ensaio foi considerado válido quando o controle negativo mostrou-se com ausência de reação citotóxica (grau 0) e o controle positivo, com uma nítida reação citotóxica (igual ou superior ao grau 3). A amostra de luva foi

considerada satisfatória se nenhuma cultura exposta à amostra mostrasse citotoxicidade superior ao grau 2 (citotoxicidade branda).

4.4 Teste de citotoxicidade *in vitro* – método do contato direto

Utilizou-se também as células fibroblásticas de camundongo – Clone L929 da ATCC (Rockville, MD, USA), cultivadas em MEM completo, ou seja, MEM com sais de Earle (Sigma), suplementado com 5% de soro fetal bovino (Gibco), 2 mM de glutamina (Gibco), 10^2 UI/mL de penicilina e 10^2 µg/mL de sulfato de estreptomicina (Gibco) mantidas por 48 h em estufa a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ com $5\% \pm 1\%$ de CO_2 . A suspensão com 4×10^5 células em 4 mL de MEM completo foi adicionada por poço de microplaca de cultura (35 mm de diâmetro). Após 48h, foram utilizadas as culturas que apresentaram uma camada celular uniforme e com confluência superior a 80%; o MEM completo foi retirado, lavou-se a monocamada com 2 mL de PBS, em seguida, removeu-se o PBS e adicionou-se 0,8 mL de MEM completo com 0,005% de corante vermelho neutro. As amostras de luvas e os controles, semelhantemente ao ensaio de difusão em ágar, foram aplicadas em duplicata no centro de cada poço e as culturas celulares incubadas por cerca de 24 h em estufa a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ com $5\% \pm 1\%$ de CO_2 . Neste teste, porém, diferentemente do método de difusão em ágar, as amostras de luvas e controles foram colocadas diretamente sobre as culturas celulares, sem a presença da camada de ágar. Este teste foi realizado de acordo com as diretrizes estabelecidas na Farmacopeia Americana 39ª edição (USP, 2016) e na ISO 10.993-5 (ISO, 2009). As etapas do ensaio estão esquematizadas na Figura 5 abaixo.

Figura 5 - Esquema do ensaio de citotoxicidade *in vitro* - método de contato direto



Fonte: (Do autor, 2018).

4.4.1 Avaliação de citotoxicidade – método de contato direto

A avaliação do resultado do ensaio foi realizada pela reatividade biológica como descrito pelo método de difusão em ágar. As medidas dos halos foram realizadas por meio de um paquímetro e os graus de citotoxicidade determinados em uma escala de 0 a 4 como mostrado no Quadro 2 acima. Os critérios para a validade do ensaio, bem como a interpretação dos resultados são idênticos aos do método de difusão em ágar.

4.5 Teste de citotoxicidade *in vitro* - método de eluição

Neste ensaio, também foram utilizadas as células fibroblásticas de camundongo - Clone L929 da ATCC (Rockville, MD, USA), cultivadas em MEM com sais de Earle (Sigma), suplementado com 5% de soro fetal bovino (Gibco), 2 mM de glutamina (Gibco), 10² UI/mL de penicilina e 10² µg/mL de sulfato de estreptomicina (Gibco) mantidas por 48 h em estufa a 37°C ± 1°C com 5% ± 1% de CO₂. A suspensão com 2 x 10⁵ células em 2 mL de MEM completo foi

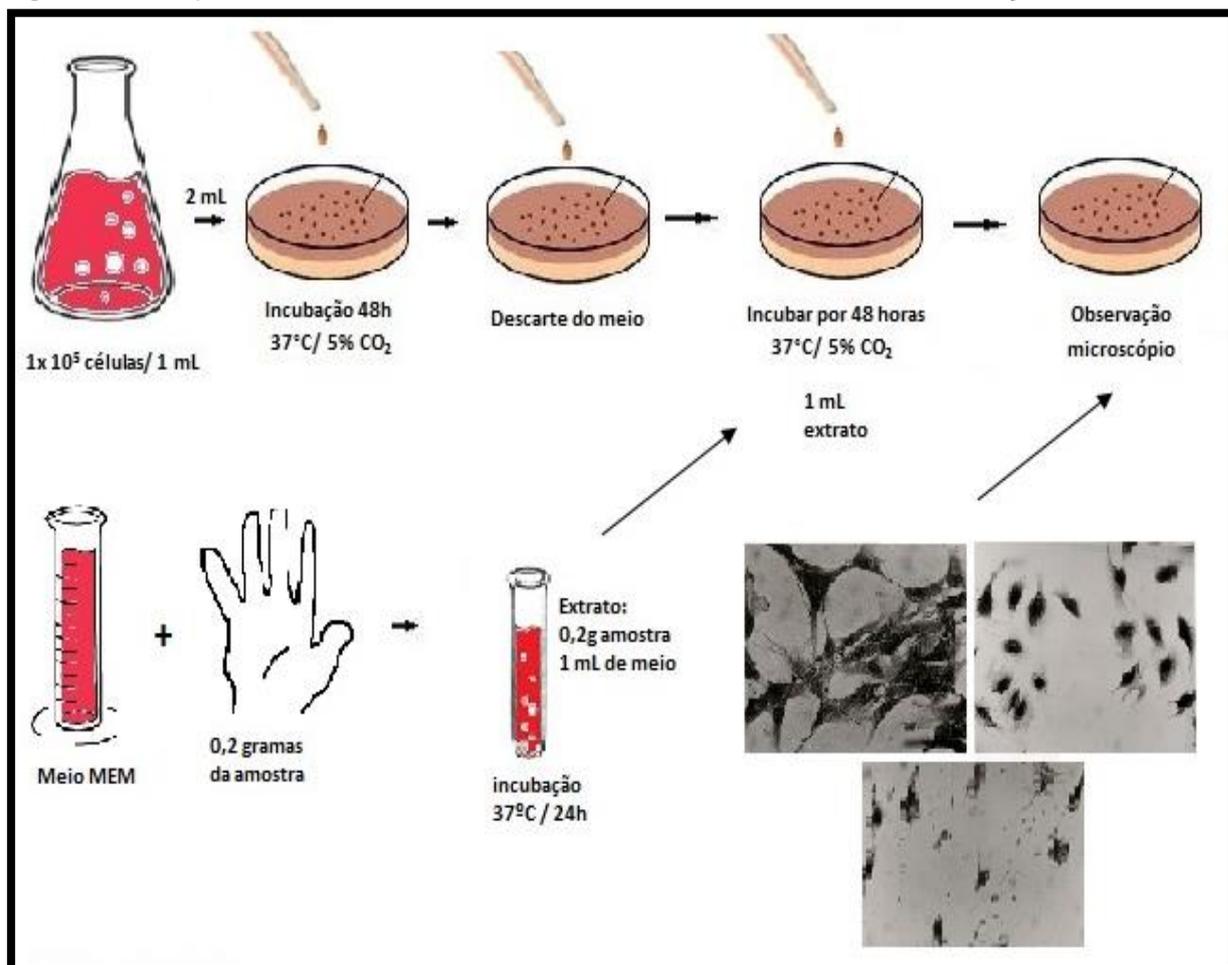
adicionada por poço de microplaca de cultura (35 mm de diâmetro). Após 48 h, foram utilizadas as culturas que apresentaram uma camada celular uniforme e com confluência superior a 80%.

Logo após essa etapa, removeu-se o MEM completo de todos os poços, substituindo-o por 1 mL de extrato das amostras de luvas e controles seguido de nova incubação por 48 h em estufa a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ com $5\% \pm 1\%$ de CO_2 (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010; USP, 2016). O extrato foi preparado utilizando-se 0,2 g de fragmento de luva, por mL de MEM completo, mantido a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 h em estufa simulando-se as condições de temperatura próximas às fisiológicas, pois temperaturas superiores podem causar a desnaturação das proteínas do soro fetal bovino. Os extratos dos controles negativos e positivos foram preparados em condições idênticas às amostras de luvas; e o controle celular do ensaio correspondeu às culturas celulares sem tratamento, somente com MEM completo.

Três ensaios independentes foram realizados por amostra de luva incluindo-se em todos ensaios os controles celular, negativo e positivo.

A Figura 6 mostra as várias etapas da execução do ensaio pelo método de eluição.

Figura 6 - Esquema do ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de eluição



Fonte: (Do autor, 2018).

4.5.1 Avaliação de citotoxicidade – método de eluição

Quarenta e oito horas após a aplicação dos extratos das amostras de luvas e controles avaliou-se qualitativamente o grau de citotoxicidade, observando-se microscopicamente o aspecto e morfologia das culturas celulares. As condições de todas as culturas foram examinadas ao microscópio comum (aumento de 200 vezes e 400 vezes) e os graus de citotoxicidade determinados numa escala de 0 a 4 como mostrado no Quadro 3. Por ser um método qualitativo as análises microscópicas foram realizadas por dois analistas.

Quadro 3 - Classificação e descrição da reatividade das culturas celulares para o teste de eluição

GRAU	CITOTOXIDADE	CONDIÇÕES DAS CULTURAS
0	Ausência	Grânulos intracitoplasmáticos descontínuos; sem lise celular
1	Leve	Até 20% das células são redondas, vagamente unidas, sem grânulos intracitoplasmáticos; Células lisadas estão ocasionalmente presentes
2	Branda	Até 50% das células são redondas, desprovidas de grânulos citoplasmáticos, sem lise celular extensiva e áreas vazias entre as células
3	Moderada	Até 70% das camadas contém células arredondadas ou lisadas
4	Severa	Destruição quase integral das camadas de células

Fonte: (Adaptado da *The United States Pharmacopeia*, 2016)

O ensaio foi considerado válido quando o controle negativo mostrou-se com ausência de reação citotóxica (grau 0) e o controle positivo, com uma nítida reação citotóxica (igual ou superior ao grau 3). A amostra de luva foi considerada satisfatória se nenhuma cultura exposta à amostra mostrasse citotoxicidade superior ao grau 2 (citotoxicidade branda).

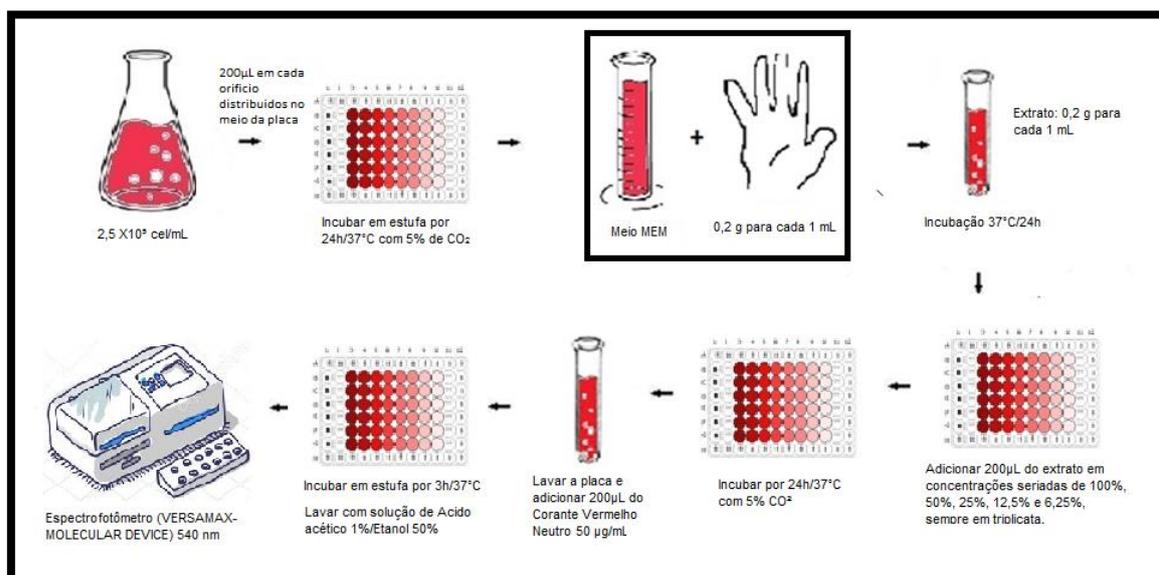
4.6 Teste de citotoxicidade *in vitro* – método de captação de vermelho neutro

Neste ensaio foram utilizadas, células L929 na concentração de $2,5 \times 10^5$ células por mL em MEM completo, com intuito de comparar os resultados deste ensaio com os obtidos pelos três outros métodos anteriores. As células foram semeadas em microplacas de 96 poços colocando-se 200 μ L da suspensão celular em cada poço. As culturas foram mantidas durante 24 h em estufa (Sanyo), à temperatura de $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ e atmosfera de $5\% \pm 1\%$ de CO_2 para formar uma monocamada semiconfluente. Após o período de incubação de 24 h, as culturas foram então expostas aos extratos de amostras de luvas, e dos controles negativo e positivo em MEM completo, preparados em condições idênticas às descritas no teste de eluição. Foram empregadas, além do extrato original (sem diluição), quatro outras concentrações de extratos correspondentes às diluições 1:2 (50%); 1:4 (25%); 1:8 (12,5%) e 1:16 (6,25%) do extrato original em MEM completo. Antes do tratamento das culturas, 200 μ L

do MEM completo de todos os orifícios da microplaca foi substituído por igual volume de extrato original (100%), ou por igual volume das quatro diluições seriadas dos extratos das amostras de luvas (6,25%, 12,5%, 25%, 50%), do MEM completo (controle celular) e dos extratos originais obtidos para os controles negativo (plástico de referência USP) e positivo (garrote de látex). Os tratamentos por grupo experimental foram realizados em triplicata. A microplaca foi novamente incubada por 24 h a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ com $5\% \pm 1\%$ de CO_2 . Após 24 h, o extrato foi substituído por 200 μL de MEM contendo 50 μg de vermelho neutro/mL. A incorporação do vermelho neutro pelas células viáveis foi verificada após 3 h de incubação em estufa a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ com $5\% \pm 1\%$ de CO_2 . Após este período, o meio com vermelho neutro foi removido, as células lavadas com PBS, removeu-se o PBS seguida de outra lavagem com uma solução de 1% de cloreto de cálcio (CaCl_2) em formaldeído 0,5%. Após descarte da solução de CaCl_2 em formaldeído, cada poço recebeu 200 μL da solução de 1% de ácido acético em etanol 50%. A placa foi agitada por 10 min e a leitura das densidades ópticas (DO) foi realizada num espectrofotômetro Versamax- *Molecular Device*, em 540 nm.

Três ensaios independentes foram realizados por amostra de luva e para os controles celular, negativo e positivo. O esquema da técnica é mostrado na Figura 7.

Figura 7 - Esquema do ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de captação de vermelho neutro



Fonte: (Do autor, 2018).

4.6.1 Avaliação da citotoxicidade - método de captação de vermelho neutro

Com os valores de DO obtidos, calculou-se a média da porcentagem de viabilidade celular em relação ao controle celular. Atribuiu-se ao valor médio de DO obtido para o controle celular, 100% de viabilidade celular. Este valor foi utilizado para calcular os valores de percentuais de viabilidade para as culturas de todos os grupos experimentais.

Gráficos de concentração de extrato versus % de viabilidade celular foram obtidos, relacionando-se as concentrações de extratos das amostras de luvas expressas em valores percentuais em relação ao extrato original (6,25% a 100%) com a % de viabilidade celular (expressas em valores médios \pm erro padrão da média), para os três ensaios independentes realizados por amostra de luva. Os dados referentes aos extratos originais dos controles celular, negativo e positivo foram igualmente incluídos. Para a determinação dos valores de $CI_{50\%}$ ou seja, da concentração de extrato das amostras causando 50% de viabilidade celular, as concentrações dos extratos foram transformadas para logaritmo e relacionadas aos valores médios de % de viabilidade celular obtidos a partir de três ensaios independentes. Os valores de CI_{50} foram obtidos a partir das curvas sigmóides obtidas empregando-se o programa computacional Graph Pad Prism, 6,04 versão, 2014.

5 DESCRIÇÃO DO PRODUTO TECNOLÓGICO FINAL

Elaboração dos POPs do teste de citotoxicidade *in vitro* pelo método de contato direto e do teste de citotoxicidade *in vitro* pelo método de eluição para o controle da qualidade das respectivas luvas, bem como de outros produtos de uso médico.

Os referidos POPs foram encaminhados para a Vice Diretoria de Gestão da Qualidade (VDQUALI) do INCQS recebendo os números 65.3330.018 (ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO- MÉTODO DE ELUIÇÃO) e 65.3330.019 (ENSAIO DE CITOTOXICIDADE IN VITRO- MÉTODO DE CONTATO DIRETO).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Teste de citotoxicidade *in vitro* - método de difusão em agar

A Tabela 1 no APÊNDICE A mostra os resultados do ensaio pelo método de difusão em agar, em culturas em duplicata, para os controles (negativo e positivo) e para as 35 amostras de luvas (28 de látex, 4 nitrílicas e 3 vinílicas), expressos em extensão da área descorada a partir dos controles ou das amostras. Nesta Tabela são apresentados os valores da extensão da área descorada por quadrantes em mm (Q1 a Q4) por cultura, médias dos quadrantes por cultura em cm e finalmente, as médias dos valores da extensão das áreas descoradas para as duas culturas em cm (média final) que foram utilizadas para a classificação do grau de citotoxicidade conforme Quadro 2.

A Tabela 2 abaixo resume os dados da Tabela 1 mostrando para os controles (negativo e positivo) e para as 35 amostras de luvas, a média final da extensão da área descorada (cm) e os correspondentes graus de citotoxicidade obtidos no ensaio pelo método de difusão em agar.

Tabela 2 - Ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de difusão em agar, Média final da extensão da área descorada e os correspondentes graus de citotoxicidade

Controles	Material	Média final da extensão das áreas descoradas (cm)	Grau de citotoxicidade
Negativo	Plástico atóxico	0,0000	Grau 0
Positivo	Garrote de látex	1,0178	Grau 4
Amostras de luvas	Material	Média final da extensão das áreas descoradas (cm)	Grau de citotoxicidade
A1	Látex com pó	0,5933	Grau 3
A2	Látex com pó	0,6720	Grau 3
A3	Látex sem pó	0,5715	Grau 3
A5	Látex com pó	0,7985	Grau 3
A6	Látex com pó	0,7613	Grau 3
A7	Látex com pó	0,6774	Grau 3
A8	Látex com pó	0,6988	Grau 3
A9	Látex com pó	0,5109	Grau 3
A10	Látex com pó	0,7010	Grau 3
A13	Látex com pó	0,5788	Grau 3

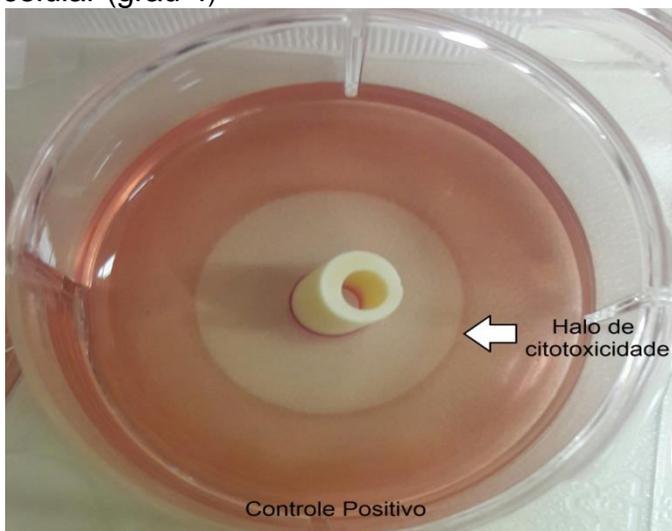
Continuação da Tabela 2

A16	Látex sem pó	0,7064	Grau 3
A18	Látex sem pó	0,8623	Grau 3
A19	Látex sem pó	0,6329	Grau 3
A21	Látex com pó	0,7759	Grau 3
A22	Látex com pó	0,8595	Grau 3
A23	Látex com pó	0,7676	Grau 3
A24	Látex sem pó	0,7135	Grau 3
A25	Látex com pó	0,7396	Grau 3
A26	Látex com pó	0,7770	Grau 3
A27	Látex com pó	0,7420	Grau 3
A28	Látex com pó	0,6871	Grau 3
A29	Látex com pó	0,7734	Grau 3
A30	Látex com pó	0,8546	Grau 3
A31	Látex com pó	0,8148	Grau 3
A32	Látex sem pó	0,8979	Grau 3
A33	Látex sem pó	0,7640	Grau 3
A34	Látex com pó	0,8598	Grau 3
A35	Látex com pó	0,8235	Grau 3
A4	Nitrila sem pó	0,3345	Grau 2
A11	Vinila sem pó	0,3631	Grau 2
A12	Nitrila sem pó	0,2505	Grau 2
A14	Nitrila sem pó	0,4695	Grau 3
A15	Nitrila sem pó	0,4129	Grau 2
A17	Vinila sem pó	0,2736	Grau 2
A20	Vinila sem pó	0,6673	Grau 3

Fonte: (Do autor, 2018).

O ensaio foi considerado válido de acordo com o preconizado pela USP e Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA Brasileira, 2010; USP, 2016), pois o controle negativo (plástico de referência USP) mostrou ausência de citotoxicidade (grau 0) e o controle positivo (garrote de látex) apresentou grau de citotoxicidade 4 em células L-929 (Tabelas 1 e 2; Figura 8).

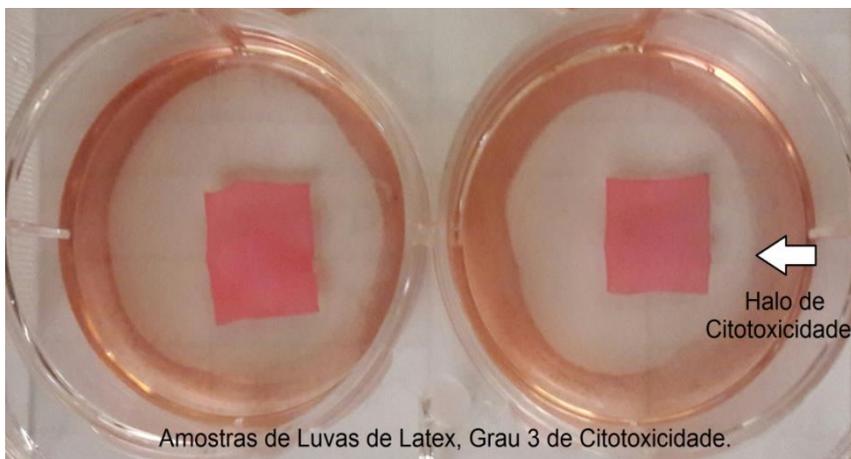
Figura 8 - Resposta biológica do controle positivo com área de descoloramento celular (grau 4)



Fonte: (Do autor, 2018).

Todas as 28 amostras de luvas de látex (21 com pó e 7 sem pó) analisadas no teste de citotoxicidade *in vitro* pelo método de difusão em ágar correspondendo a 80% do total das amostras testadas apresentaram citotoxicidade (grau 3) o que as reprovava (Figura 8). As restantes 20 % das luvas, sem pó, ou seja, um total de 3 luvas de nitrila (A4, A12, A15) e 2 luvas de vinila (A11, A17) apresentaram citotoxicidade grau 2 e conseqüentemente seriam aprovadas, enquanto 1 luva nitrílica (A14) e 1 vinílica (A20) apresentaram grau 3 e seriam reprovadas. A Figura 9 mostra um exemplo de amostras de luvas de látex reprovadas.

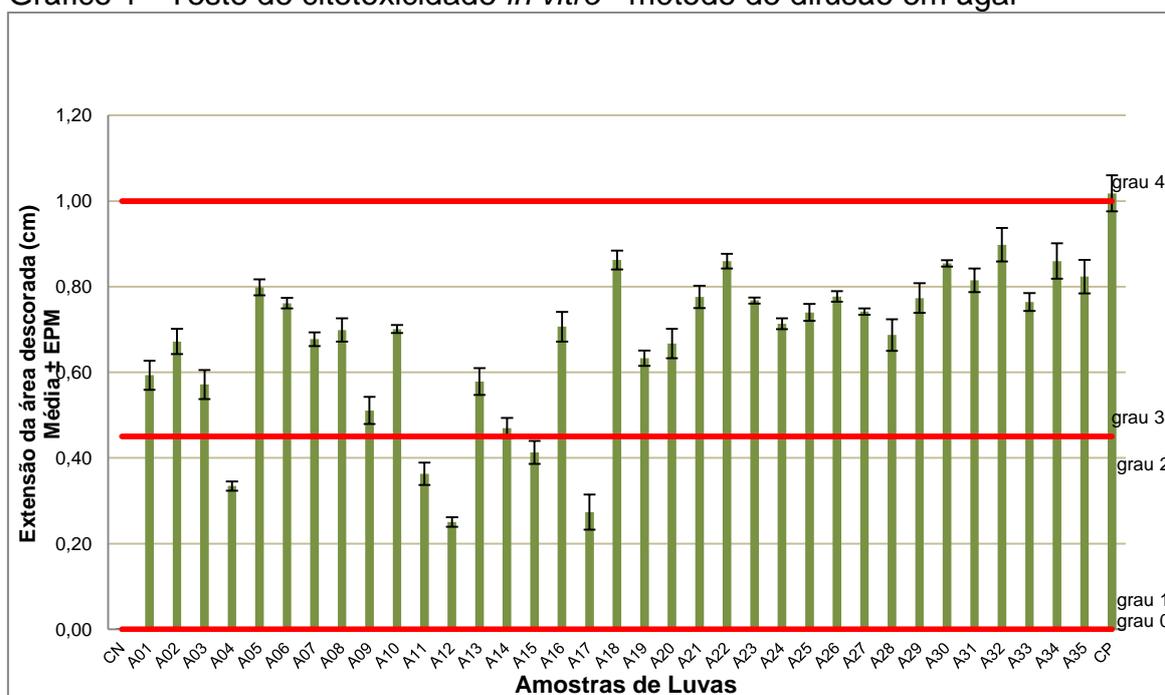
Figura 9 - Amostras de luva de látex com grau de citotoxicidade 3



Fonte: (Do autor, 2018).

O Gráfico 1 mostra para os controles negativo (plástico de referência USP) e positivo (garrote de látex) e para as 35 amostras de luvas, os resultados do ensaio de citotoxicidade pelo método de difusão em ágar, expressos em valores médios da extensão da área descorada (cm) \pm erro padrão da média e em graus de citotoxicidade em relação às duas culturas por controle ou amostra. O controle negativo foi atóxico, o controle positivo causou uma toxicidade severa (grau 4). Todas as 35 amostras de luvas foram consideradas citotóxicas, ou seja, 100% das luvas de látex com e sem pó foram moderadamente citotóxicas (grau 3), assim como 25% das luvas nitrílicas e 33% das luvas vinílicas sem pó, enquanto foram levemente citotóxicas, 75% das luvas nitrílicas e 67% das vinílicas (grau 2).

Gráfico 1 - Teste de citotoxicidade *in vitro* - método de difusão em ágar



Fonte: (Do autor, 2018).

CN: Controle negativo (plástico de referência USP); CP: Controle positivo (garrote de látex); Amostras de luvas de látex: A1-A3, A5-A10, A13, A16, A18, A19, A21-A35; Amostras de luvas nitrílicas: A4, A12, A14, A15; Amostras de luvas vinílicas: A11, A17, A20

No método de difusão em ágar, ao se categorizar as luvas de látex com e sem pó, não se observou uma diferença substancial em relação ao efeito citotóxico, já que das 28 luvas de látex, 21 continham pó e só 7 estavam livres desse produto, e todas se mantiveram com o mesmo grau de citotoxicidade 3. A amostra de látex (A32), apesar de isenta de pó, apresentou a maior extensão

de área descorada média (0,8979 cm), enquanto a menor extensão de área descorada (0,5109 cm) foi obtida para amostra de látex com pó (A9). O que diverge de Woods e colaboradores (1997), que em um estudo de lubrificantes para luvas relatam que o pó de diversas composições confere toxicidade às luvas e que o melhor método para prevenir as complicações decorrentes de lubrificantes em luvas com pó é usar luvas sem pó.

Entretanto Bruna e colaboradores (2016) testaram amostras de tipos de luvas disponíveis no mercado (látex com pó, látex sem pó, nitrílica e vinílica). As amostras testadas no mesmo ensaio de citotoxicidade por difusão em ágar apresentaram toxicidade (Grau 3). Esses resultados estão em concordância com os obtidos neste trabalho em relação às luvas de látex, porém diferem, em relação às 3 amostras de nitrila e às 2 amostras de vinila que apresentaram grau 2 (USP, 2016).

Segundo Villanta e colaboradores (2000), as proteínas de látex foram encontradas também em algumas luvas de nitrila. Uma possível explicação disso é que o látex é adicionado às luvas de nitrila durante a produção para aumentar suas propriedades elásticas, sugerindo que isso possa ter ocorrido na amostra A14 de nitrila que deu grau 3.

6.2 Teste de citotoxicidade *in vitro* - método de contato direto

A Tabela 3 no APÊNDICE B mostra os resultados dos 3 ensaios realizados em dias diferentes e em culturas em duplicata por teste, pelo método de contato direto, para os controles (negativo e positivo) e para as 35 amostras de luvas (28 de látex, 4 nitrílicas e 3 vinílicas), expressos em extensão da área descorada a partir dos controles ou das amostras. Nesta Tabela são apresentados os valores da extensão da área descorada das culturas celulares por quadrantes em mm (Q1 a Q4), as médias dos quadrantes por cultura e por ensaio em cm, e finalmente, as médias dos valores da extensão das áreas descoradas para os 3 ensaios realizados em cm (média final) que foram utilizadas para a classificação do grau de citotoxicidade conforme Quadro 2.

A Tabela 4 abaixo resume os dados da Tabela 3 mostrando para os controles (negativo e positivo) e para as 35 amostras de luvas, a média final da extensão da área descorada (cm) para os 3 ensaios realizados e os correspondentes graus de citotoxicidade obtidos no ensaio pelo método de contato direto.

Tabela 4 - Ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto, Média final da extensão da área descorada para os 3 ensaios realizados e os correspondentes graus de citotoxicidade

Controles	Material	Média final da extensão das áreas descoradas nos 3 ensaios (cm)	Grau de citotoxicidade
Negativo	Plástico atóxico	0,0000	Grau 0
Positivo	Garrote de látex	1,1516	Grau 4
Amostras de luvas	Material	Média final da extensão das áreas descoradas nos 3 ensaios (cm)	Grau de citotoxicidade
A1	Látex com pó	0,8196	Grau 3
A2	Látex com pó	0,8344	Grau 3
A3	Látex sem pó	0,8764	Grau 3
A5	Látex com pó	0,8313	Grau 3
A6	Látex com pó	0,8539	Grau 3
A7	Látex com pó	0,7951	Grau 3
A8	Látex com pó	0,7884	Grau 3
A9	Látex com pó	0,7500	Grau 3
A10	Látex com pó	0,7600	Grau 3
A13	Látex com pó	0,7863	Grau 3
A16	Látex sem pó	0,7561	Grau 3
A18	Látex sem pó	0,6997	Grau 3
A19	Látex sem pó	0,6530	Grau 3
A21	Látex com pó	0,8050	Grau 3
A22	Látex com pó	0,7811	Grau 3
A23	Látex com pó	0,7337	Grau 3
A24	Látex sem pó	0,7952	Grau 3
A25	Látex com pó	0,8121	Grau 3
A26	Látex com pó	0,7708	Grau 3
A27	Látex com pó	0,7948	Grau 3
A28	Látex com pó	0,8463	Grau 3
A29	Látex com pó	0,8571	Grau 3

Continuação da Tabela 4

A30	Látex com pó	0,8576	Grau 3
A31	Látex com pó	0,8709	Grau 3
A32	Látex sem pó	0,9505	Grau 3
A33	Látex sem pó	0,8976	Grau 3
A34	Látex com pó	0,9376	Grau 3
A35	Látex com pó	0,8929	Grau 3
A4	Nitrila sem pó	0,8152	Grau 3
A11	Vinila sem pó	0,7624	Grau 3
A12	Nitrila sem pó	0,6332	Grau 3
A14	Nitrila sem pó	0,7383	Grau 3
A15	Nitrila sem pó	0,6612	Grau 3
A17	Vinila sem pó	0,7300	Grau 3
A20	Vinila sem pó	0,7040	Grau 3

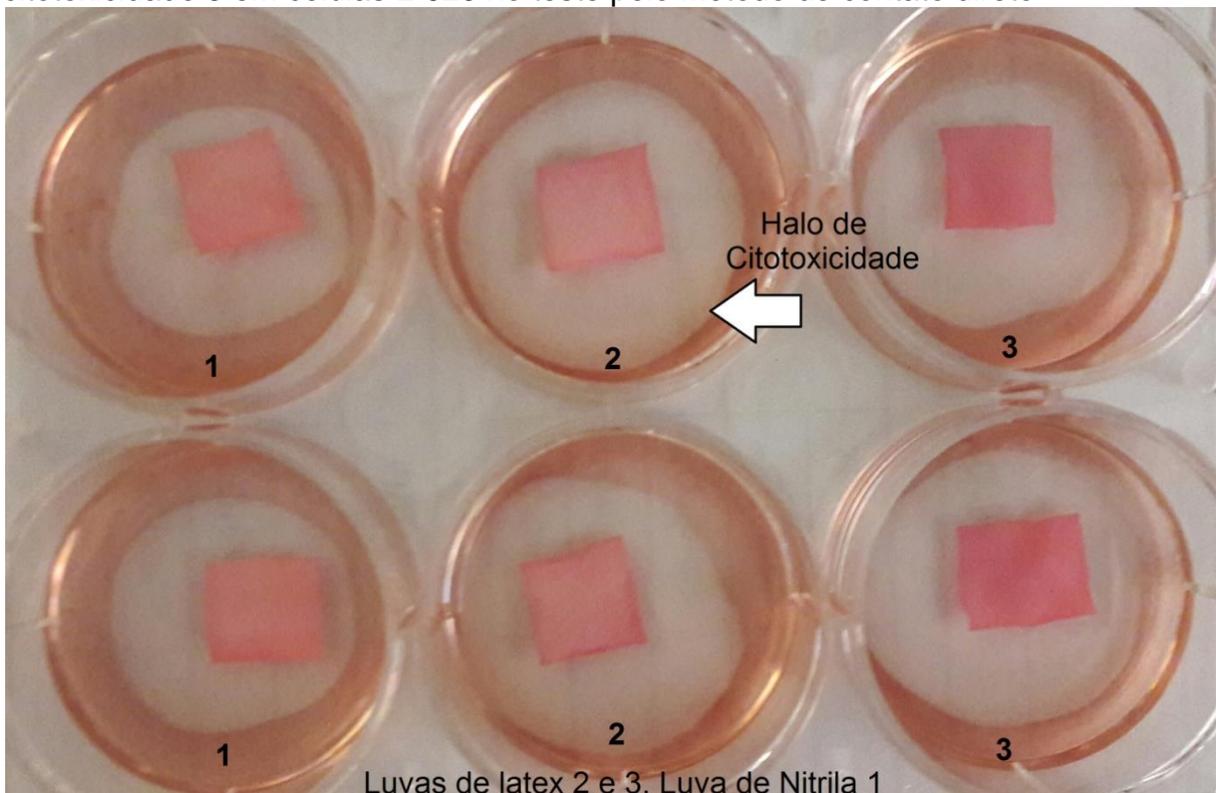
Fonte: (Do autor, 2018).

Os três ensaios realizados por amostra de luva foram considerados válidos, de acordo com o preconizado pela USP e Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA Brasileira, 2010; USP, 2016), pois em todos os ensaios, o controle negativo (plástico de referência USP) mostrou ausência de citotoxicidade (grau 0) e o controle positivo (garrote de látex) apresentou grau de citotoxicidade 4 em células L-929 (Tabelas 3 e 4).

Todas as 35 amostras de luvas analisadas no teste de citotoxicidade *in vitro* pelo método de contato direto apresentaram citotoxicidade moderada (grau 3) nos 3 ensaios realizados, o que as reprovava segundo a Farmacopeia Brasileira (2010) e a USP (2016).

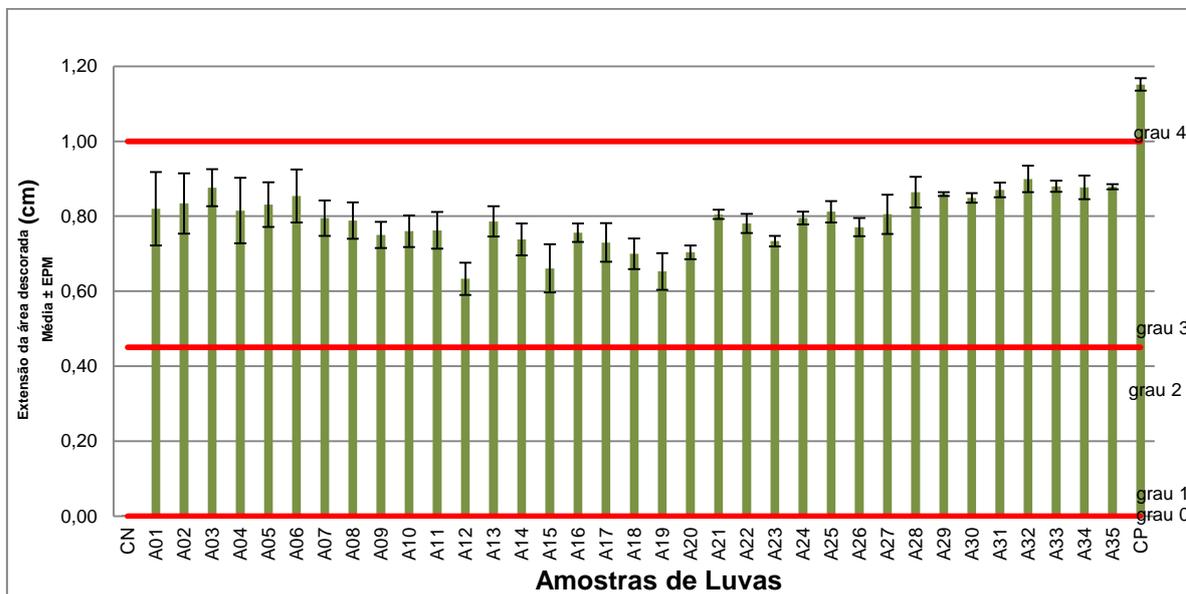
A Figura 10 mostra as extensões das áreas descoloradas de células L-929 indicativas das citotoxicidades das amostras de luvas de nitrila (1) e de látex (2 e 3) no teste pelo método de contato direto.

Figura 10 - Amostras de luvas de nitrila e látex mostrando grau de citotoxicidade 3 em células L-929 no teste pelo método de contato direto



Fonte: (Do autor, 2018).

O Gráfico 2 mostra para os controles negativo (plástico de referência USP) e positivo (garrote de látex) e para as 35 amostras de luvas, os resultados dos 3 ensaios de citotoxicidade realizados pelo método de contato direto, expressos em valores médios da extensão da área descorada (cm) \pm erro padrão da média por ensaio e os correspondentes graus de citotoxicidade. O controle negativo foi atóxico, o controle positivo causou uma toxicidade severa (grau 4). Todas as 35 amostras de luvas foram consideradas moderadamente citotóxicas (grau 3).

Gráfico - Teste de citotoxicidade *in vitro* - método de contato direto

Fonte: (Do autor, 2018).

CN: Controle negativo (plástico de referência USP); CP: Controle positivo (garrote de látex); Amostras de luvas de látex: A1-A3, A5-A10, A13,A16,A18, A19, A21-A35; Amostras de luvas nitrílicas: A4, A12,A14, A15; Amostras de luvas vinílicas: A11,A17,A20

Todas as amostras de luvas de látex mantiveram o mesmo grau de citotoxicidade 3, como no teste de difusão em ágar, sendo que para 89% destas amostras verificou-se um aumento da intensidade da resposta constatado pelo aumento da extensão da área descorada, porém não o suficiente para mudar para o grau 4. Este efeito é esperado, uma vez que, no método de contato direto as amostras ficam diretamente em contato com a camada celular.

Quanto às amostras de luvas nitrílicas, A14 manteve o mesmo grau 3 como no teste de difusão em ágar, porém, com aumento de 36,4% da extensão da área descorada em relação ao método de difusão em ágar e A4, A12 e A15 passaram do grau 2 para 3; e nas luvas vinílicas, A20 manteve-se com grau 3 de citotoxicidade, porém com pequeno aumento de 5,2% em relação ao difusão em ágar, enquanto A11 e A17 passaram de grau 2 para 3 (Gráfico 2).

Houve repetibilidade dos resultados no teste de citotoxicidade pelo contato direto, pois todos os 3 ensaios foram considerados válidos apresentando o controle negativo ausência de citotoxicidade (grau 0) e o controle positivo citotoxicidade severa (grau 4) como mostrado no Gráfico 2.

Igualmente, o mesmo grau de citotoxicidade moderada (3) foi obtido nos 3 ensaios para as 35 amostras de luvas, e, caso este teste fosse preconizado, todas as luvas seriam reprovadas.

Baek e colaboradores (2005) relataram que geralmente, o método de contato direto tem várias vantagens, pois mimetizam melhor as condições fisiológicas. O halo de inibição representa a migração direta de substâncias químicas tóxicas para as células e o método não requer preparação de extrato. Mas a principal dificuldade deste método é o risco de se ocasionar trauma físico às células em cultura, causado pelo movimento da amostra ou por lesão celular devido ao peso da amostra. Verificamos no nosso estudo, igualmente dificuldades na realização dos ensaios por este método como as relatadas por Baek e colaboradores (2005), principalmente a possibilidade de deslocamento da amostra durante o ensaio.

6.3 Teste de citotoxicidade *in vitro* - método de eluição

Os três ensaios realizados por amostra de luva foram considerados válidos de acordo com o preconizado pela USP e Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; USP, 2016), pois, nos 3 ensaios, o controle negativo (plástico de referência USP) mostrou ausência de citotoxicidade (grau 0), ou seja, monocamada com grânulos intracitoplasmáticos descontínuos e sem lise celular e o controle positivo (garrote de látex) apresentou grau de citotoxicidade 3, com até 70% da monocamada contendo células arredondadas ou lisadas (Quadro 3 e Figura 11).

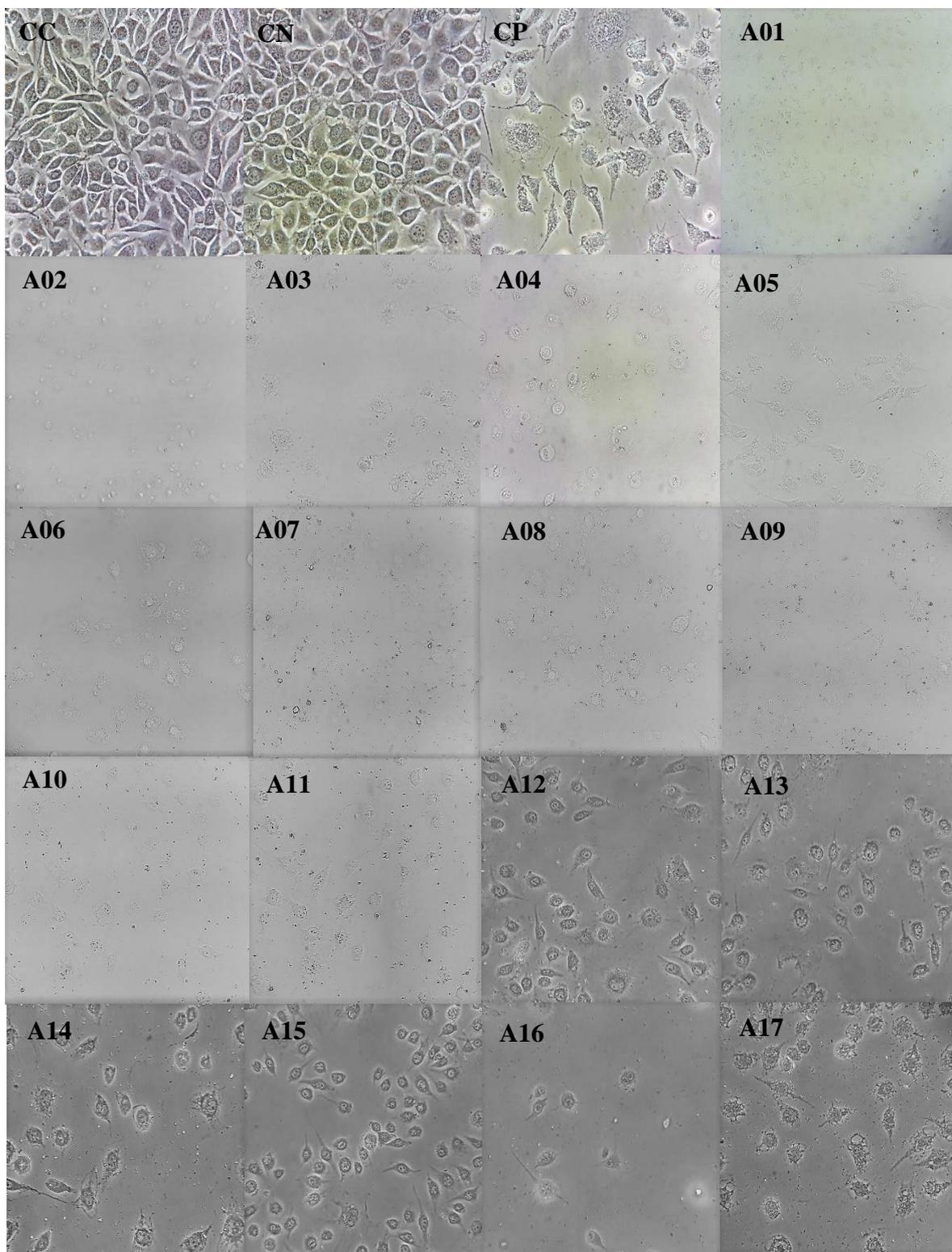
O método de eluição nos 3 ensaios de citotoxicidade realizados apresentaram os mesmos resultados, mostrando-se mais sensível para 43% das amostras de látex (A1 a A3, A5 a A10, A16, A18 e A26) quando comparado aos ensaios pelos métodos de difusão em ágar e de contato direto, passando do grau 3 para o grau 4 de citotoxicidade. Dentre estas amostras 75% continham pó e 25% eram isentas de pó. As restantes 57% das amostras de látex mantiveram o grau de citotoxicidade 3 obtido nos dois métodos anteriores com o mesmo percentual de luvas com pó (75%) e sem pó (25%). A presença

do pó não influenciou na citotoxicidade das luvas de látex, pois foi encontrado o mesmo percentual de luvas com pó (75%) e sem pó (25%) nos graus de citotoxicidade 3 e 4.

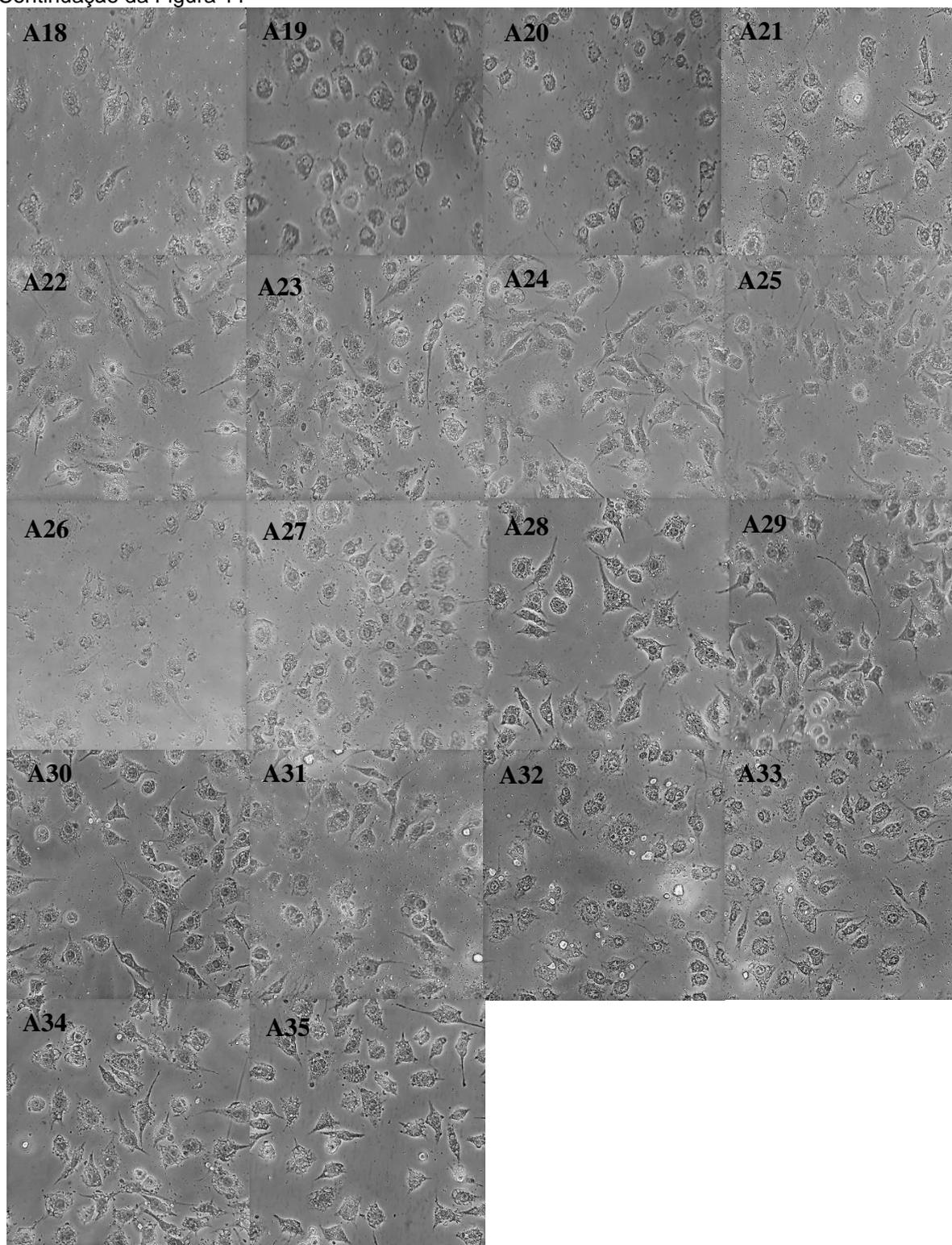
Quanto às amostras de luvas nitrílicas e vinílicas, somente os extratos da amostra nitrilica A4 e vinílica A11 apresentaram grau de citotoxicidade 4, superior ao grau 3 obtido pelo contato direto e ao grau 2 pela difusão em ágar; as demais (A14 nitrilica e A20 vinílica) apresentaram grau 3 nos 3 métodos, as nitrílicas A12 e A15 e vinílica A17 apresentaram grau 3 nos métodos de eluição e de contato direto e grau inferior, 2 no método de difusão em ágar.

A Figura 11 mostra as microfotografias das células L-929 controles, ou seja, do controle celular (CC), das células expostas aos extratos do plástico atóxico USP (CN) e do garrote de látex (CP) e das expostas aos extratos obtidos das 35 amostras de luvas (A1 a A35).

Figura 11 - Fotomicrografias das células L929 controles (CC, CN e CP) e das expostas às amostras de luvas (látex, nitrílica e vinílica) no ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de eluição



Continuação da Figura 11



Fonte: (Do autor, 2018).

CC: Controle celular; CN: Controle negativo (plástico de referência USP); CP: Controle positivo (garrote de látex); Amostras de luvas de látex: A1-A3, A5-A10, A13, A16; Amostras de luvas nitrílicas: A4, A12, A14, A15; Amostras de luvas vinílicas: A11, A17. Aumento 400X.

Amostras de luvas de látex (A18, A19, A21-A35); Amostra de luva vinílica (A20). Aumento 400X

Tabela 5 mostra os graus de citotoxicidade encontrados nos três ensaios do teste de eluição.

Tabela 5 - Ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de eluição. Resultados dos 3 ensaios realizados e os correspondentes graus de citotoxicidade

Controles	Material	Grau de citotoxicidade
Negativo	Plástico atóxico	Grau 0
Positivo	Garrote de látex	Grau 3
Amostras de luvas	Material	Grau de citotoxicidade
A1	Látex com pó	Grau 4
A2	Látex com pó	Grau 4
A3	Látex sem pó	Grau 4
A5	Látex com pó	Grau 4
A6	Látex com pó	Grau 4
A7	Látex com pó	Grau 4
A8	Látex com pó	Grau 4
A9	Látex com pó	Grau 4
A10	Látex com pó	Grau 4
A13	Látex com pó	Grau 3
A16	Látex sem pó	Grau 4
A18	Látex sem pó	Grau 4
A19	Látex sem pó	Grau 3
A21	Látex com pó	Grau 3
A22	Látex com pó	Grau 3
A23	Látex com pó	Grau 3
A24	Látex sem pó	Grau 3
A25	Látex com pó	Grau 3
A26	Látex com pó	Grau 4
A27	Látex com pó	Grau 3
A28	Látex com pó	Grau 3
A29	Látex com pó	Grau 3
A30	Látex com pó	Grau 3
A31	Látex com pó	Grau 3
A32	Látex sem pó	Grau 3
A33	Látex sem pó	Grau 3
A34	Látex com pó	Grau 3
A35	Látex com pó	Grau 3

Continuação da Tabela 5

Amostras de luvas	Material	Grau de citotoxicidade
A4	Nitrila sem pó	Grau 4
A11	Vinila sem pó	Grau 4
A12	Nitrila sem pó	Grau 3
A14	Nitrila sem pó	Grau 3
A15	Nitrila sem pó	Grau 3
A17	Vinila sem pó	Grau 3
A20	Vinila sem pó	Grau 3

Fonte: (Do autor, 2018).

Assim como no método de contato direto, houve repetibilidade dos resultados no teste de citotoxicidade pelo método de eluição. Todos os 3 ensaios foram considerados válidos apresentando o controle negativo ausência de citotoxicidade (grau 0) e o controle positivo citotoxicidade moderada (grau 3) como mostrado na Figura 11 e Tabela 5. Igualmente, os mesmos graus de citotoxicidade foram obtidos nos 3 ensaios para as 35 amostras de luvas, e, caso este teste fosse preconizado, todas as luvas seriam reprovadas.

Masson; Nascimento; Lombello (2014), apontam que os principais métodos utilizados para avaliação de material de uso médico são os indiretos de difusão em ágar e de eluição, pois previnem o dano mecânico às células. Nestes ensaios, a avaliação de citotoxicidade é baseada nas alterações morfológicas das células como por exemplo, lise celular, vacuolização, não aderência, inibição de proliferação e integridade da membrana. Os nossos resultados estão de acordo com o relatado por Masson; Nascimento; Lombello (2014), pois os métodos de difusão em ágar e de eluição mostraram o melhor desempenho para a diferenciação da citotoxicidade entre as amostras de luvas de látex, de nitrila e vinila quando comparados ao método de contato direto. Ressaltamos, porém, que o emprego do método do contato direto foi importante para mostrar que nem sempre o aumento da intensidade da resposta citotóxica é favorável à diferenciação de citotoxicidade entre as amostras.

Baek e colaboradores (2005) avaliaram a citotoxicidade dos extratos das luvas de látex pelo método de eluição e sugeriram que haja uma combinação

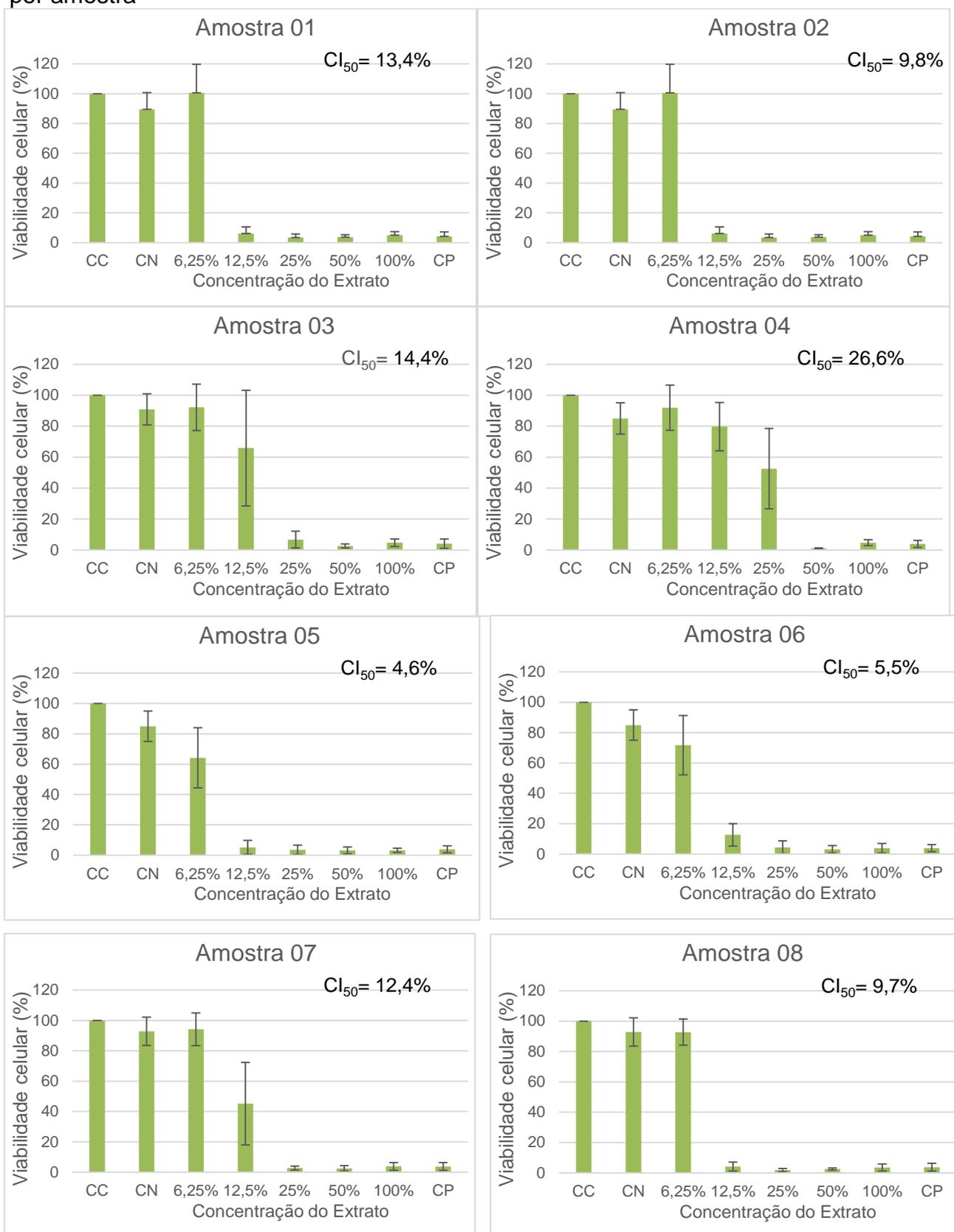
de dois ou mais métodos compatíveis com as características físico-químicas dos materiais de teste para avaliação da citotoxicidade *in vitro*.

Nosso trabalho está de acordo com o proposto por Baek e colaboradores (2005). Os nossos resultados, mostram a importância do método de eluição qualitativo estar combinado a dois outros métodos semiquantitativos de difusão em ágar e de contato direto. O método de eluição, mostrou uma resposta mais acentuada em células L-929 para os extratos das luvas de látex e principalmente para as luvas nitrílicas e vinílicas, em relação aos métodos de difusão em ágar e contato direto, provavelmente pela maior proporção de substâncias tóxicas que foram extraídas da amostra presentes no extrato quando comparado ao que migrou a partir dos fragmentos das amostras no método de difusão em ágar e no contato direto. A partir de nossos resultados foi demonstrada a importância de se empregar métodos utilizando diretamente o fragmento da amostra (difusão em ágar e contato direto) e extratos das amostras (eluição) sobre as células para produtos de uso médico.

6.4 Teste de citotoxicidade *in vitro* - método de captação de vermelho neutro

A Figura 12 mostra os gráficos de concentrações *versus* respostas obtidas, relacionando-se as concentrações de extratos das amostras de luvas em percentuais (6,25% a 100%) com a % de viabilidade celular (expressas em valores médios \pm erro padrão da média) para os três ensaios independentes realizados por amostra de luva. Os dados de % de viabilidade celular referentes aos extratos não diluídos (100%) dos controles celular, negativo e positivo foram igualmente incluídos. Os valores de CI_{50} , ou seja, das concentrações de extratos das amostras causando 50% de morte celular, obtidos a partir das curvas sigmóides foram incluídos nos gráficos da Figura 12.

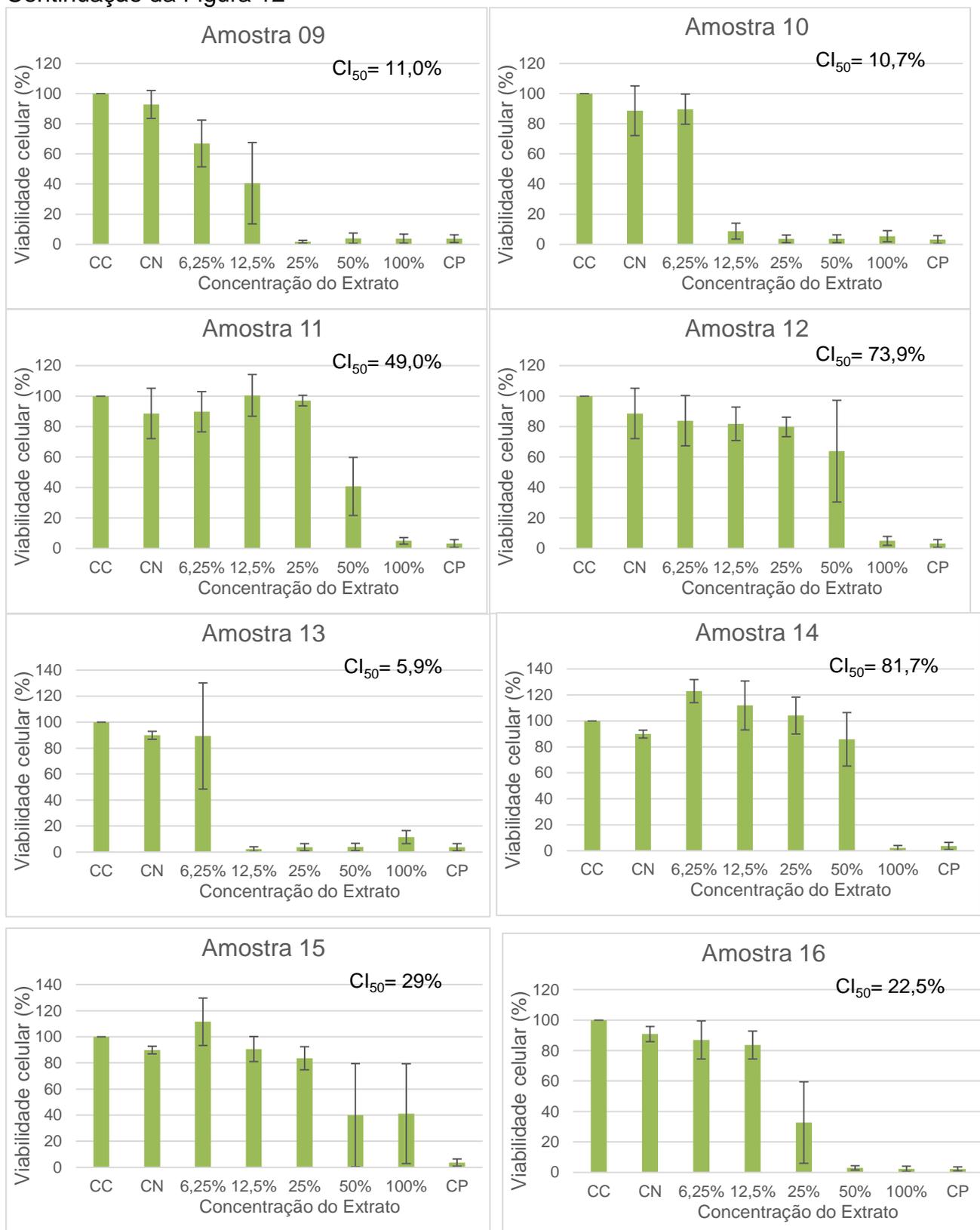
Figura 12 - Gráficos do ensaio de captação de vermelho neutro com valores de CI_{50} por amostra



Fonte: (Do autor, 2018).

CI_{50} : Concentração de extratos de amostras de luvas causando 50% de letalidade.

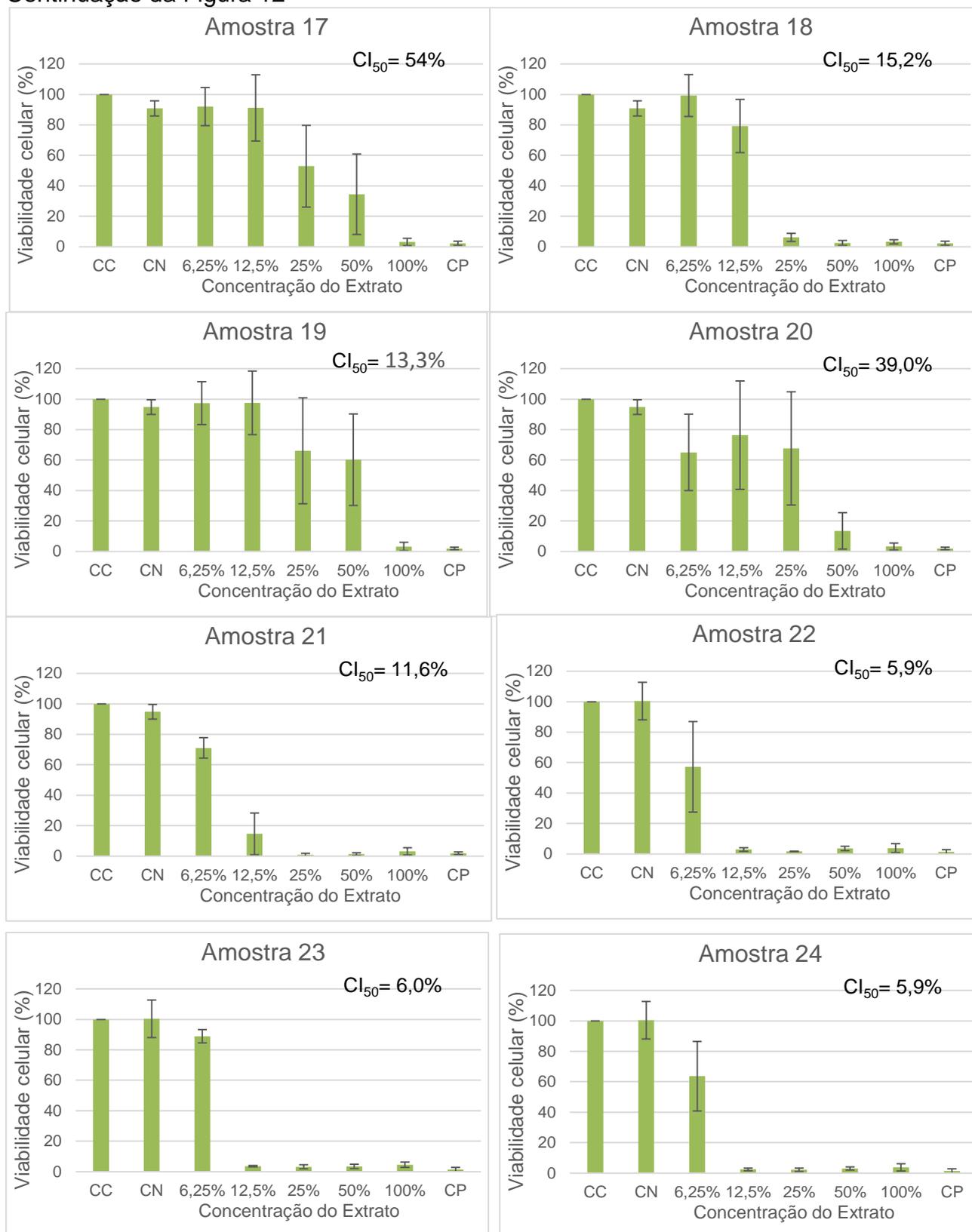
Continuação da Figura 12



Fonte: (Do autor, 2018).

CI_{50} : Concentração de extratos de amostras de luvas causando 50% de letalidade.

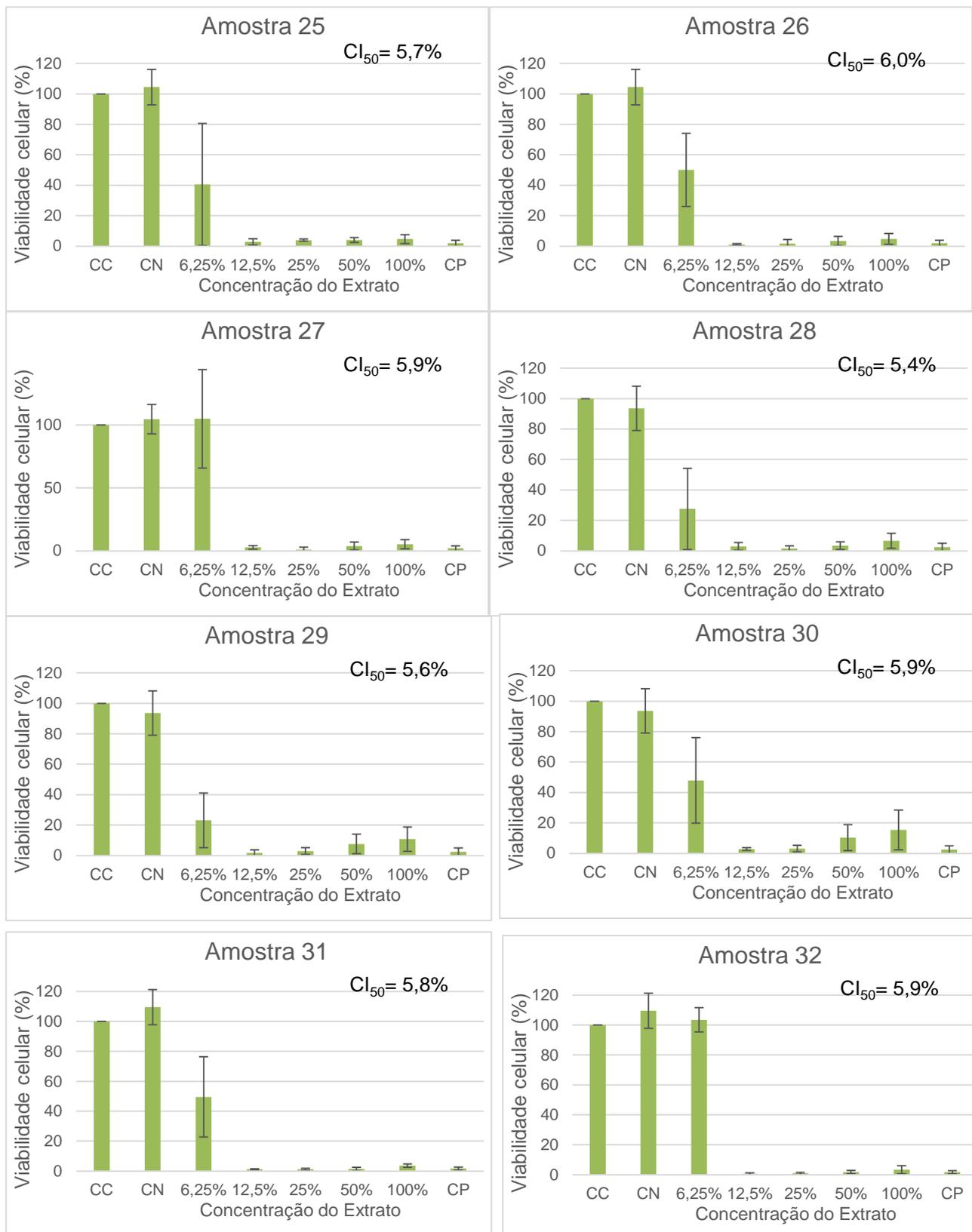
Continuação da Figura 12



Fonte: (Do autor, 2018).

CI_{50} : Concentração de extratos de amostras de luvas causando 50% de letalidade.

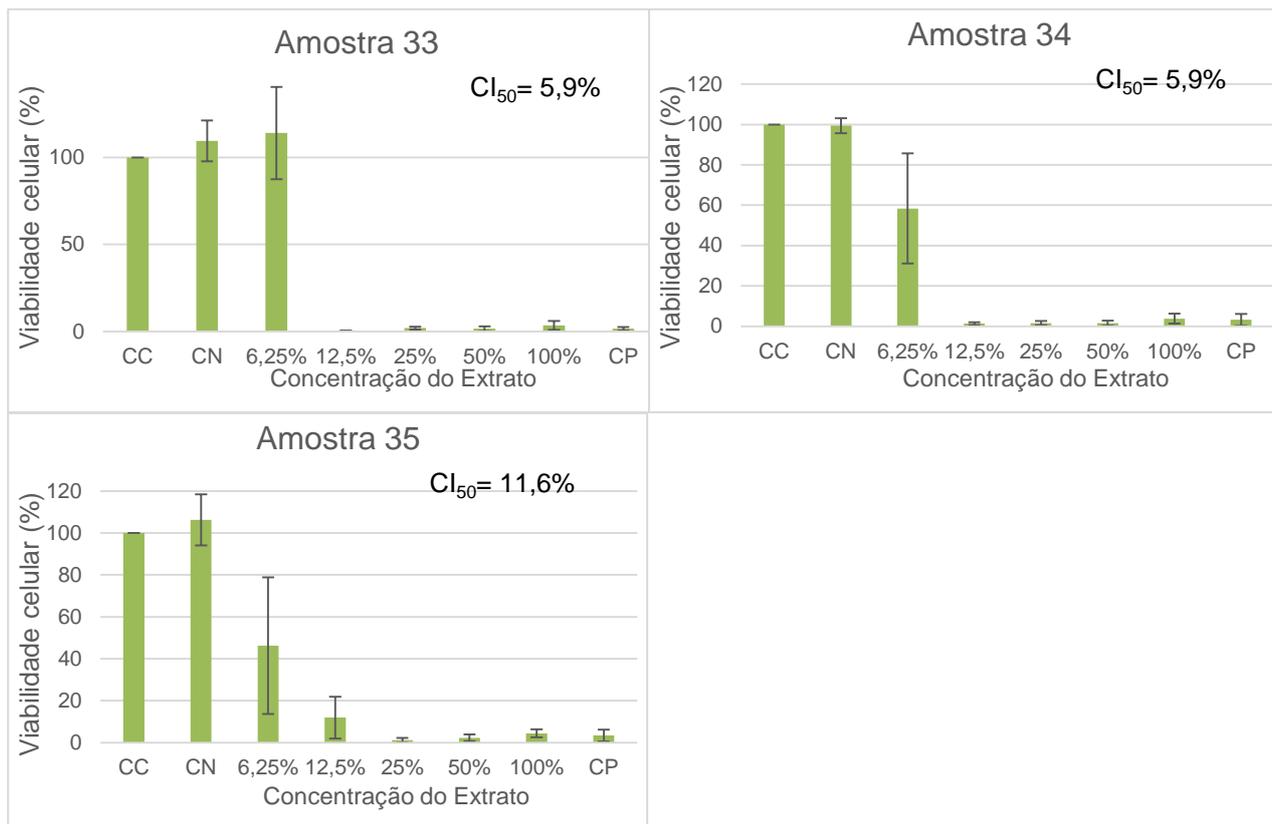
Continuação da Figura 12



Fonte: (Do autor, 2018).

CI_{50} : Concentração de extratos de amostras de luvas causando 50% de letalidade

Continuação da Figura 12



Fonte: (Do autor, 2018).

CI₅₀: Concentração de extratos de amostras de luvas causando 50% de letalidade

Nos 14 ensaios de citotoxicidade *in vitro* realizados pelo método de captação de vermelho neutro, o extrato 100% do controle negativo, considerado atóxico (grau 0) no método de eluição, causou alto percentual de viabilidade celular de 94,7% ± 1,73%, enquanto o extrato 100% do controle positivo, severamente tóxico (grau 4) na eluição, induziu baixo percentual de viabilidade celular de 2,9% ± 0,3%. A viabilidade celular média encontrada para o extrato 100% das amostras de luvas de látex, nitrílicas e vinílicas (5,8% ± 1,1%) foi comparável aos valores obtidos pelo controle positivo.

No método de captação de vermelho neutro, os valores de CI₅₀ obtidos para as 28 luvas de látex (21 com pó e 7 sem pó) variaram de 4,6 % a 22,5%, ou seja, estas concentrações de extrato causaram 50% de letalidade de células L-929.

Os valores de CI₅₀ obtidos para as luvas nitrílicas e vinílicas variaram de 26,6% a 81,7%. Logo, através do ensaio por captação do vermelho neutro foi possível diferenciar a toxicidade das luvas nitrílicas e vinílicas das luvas de látex que foram consideradas menos tóxicas que todas as luvas de látex. Como

pode-se observar na Tabela 6, onde a citotoxicidade está disposta do menor para o maior.

Tabela 6 - Ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de captação de vermelho neutro. Resultados em valores médios (N=3 ensaios) de CI₅₀ de extratos de luvas causando 50% de letalidade em células L929.

Amostras de luvas	Material	CI₅₀
A5	Látex com pó	4,6%
A28	Látex com pó	5,4%
A6	Látex com pó	5,5%
A29	Látex com pó	5,6%
A25	Látex com pó	5,7%
A31	Látex com pó	5,8%
A13	Látex com pó	5,9%
A22	Látex com pó	5,9%
A24	Látex sem pó	5,9%
A27	Látex com pó	5,9%
A30	Látex com pó	5,9%
A32	Látex sem pó	5,9%
A33	Látex sem pó	5,9%
A34	Látex com pó	5,9%
A23	Látex com pó	6,0%
A26	Látex com pó	6,0%
A8	Látex com pó	9,7%
A2	Látex com pó	9,8%
A10	Látex com pó	10,7%
A9	Látex com pó	11,0%
A21	Látex com pó	11,6%
A35	Látex com pó	11,6%
A7	Látex com pó	12,4%
A19	Látex sem pó	13,3%
A1	Látex com pó	13,4%
A3	Látex sem pó	14,4%
A18	Látex sem pó	15,2%
A16	Látex sem pó	22,5%
A4	Nitrila sem pó	26,6%

Continuação da Tabela 6

A15	Nitrila sem pó	29,0%
A20	Vinila sem pó	39,0%
A11	Vinila sem pó	49,0%
A17	Vinila sem pó	54,0%
A12	Nitrila sem pó	73,9%
A14	Nitrila sem pó	81,7%

Fonte: (Do autor, 2018).

Para Vidal; Granjeiro (2017), o método de captação do vermelho neutro foi utilizado, com o objetivo de verificar seu desempenho e investigar se apresentaria uma melhor correlação com os testes de difusão em ágar, contato direto e de eluição. Este método vem sendo utilizado por vários autores nos estudos de citotoxicidade *in vitro*, para estimar a avaliação da segurança de componentes e produtos biocompatíveis, entre outras aplicações.

Os resultados encontrados corroboram o relatado por Vidal e Granjeiro (2017) quanto a importância do ensaio pelo método de captação do vermelho neutro na determinação da citotoxicidade de biomateriais empregados nas luvas, por ser um método sensível, de menor custo e de rápida execução e promissor na diferenciação de toxicidade entre as amostras. Uma vantagem deste método em relação aos três métodos farmacopeicos é a determinação da citotoxicidade relativa dos extratos de amostras de luvas a partir dos valores obtidos de CI_{50} . Por serem os métodos de difusão em ágar e de contato direto semiquantitativos, e o método de eluição qualitativo, espera-se que o método quantitativo espectrofotométrico de captação de vermelho neutro pelas células viáveis seja mais específico e preciso do que os métodos de difusão em ágar e contato direto. A integridade lisossômica, com a concomitante ligação do corante vermelho neutro medida no ensaio pelo método de captação de vermelho neutro é um indicador altamente sensível de viabilidade celular (REPETTO; DEL PESO; ZURITA, 2008). Um fator limitante, porém, do método de captação de vermelho neutro em relação aos 3 métodos farmacopeicos, é a ausência de parâmetros para a classificação das amostras em graus de citotoxicidade (0 a 4) o que impossibilita a determinação da correlação direta com os 3 outros métodos.

Quando os resultados das luvas de látex foram comparados nos 3 métodos farmacopeicos, obteve-se resultados mais uniformes para as luvas de látex, pois 100% das luvas seriam reprovadas nos 3 métodos (100% grau 3: difusão em ágar e contato direto); (57% grau 3 e 43% grau 4: eluição) se os mesmos fossem preconizados para luvas.

Quanto às luvas de nitrila e de vinila, os resultados foram menos uniformes, pois, no método de difusão em ágar, 75% das luvas nitrílicas e 67% das vinílicas, com grau de citotoxicidade 2 (levemente citotóxicas) seriam aprovadas; 100% das nitrílicas e vinílicas com grau 3 no contato direto; e as nitrílicas (75% com grau 3 e 25% com grau 4) e vinílicas (67% com grau 3 e 33% com grau 4) no método de eluição seriam reprovadas. Os resultados de citotoxicidade dos extratos das amostras de luvas nitrílicas e vinílicas no método de eluição foram bem mais acentuados do que os obtidos no ensaio de difusão em ágar, indicando que provavelmente o extrato continha maior proporção de substâncias tóxicas em relação ao que migrou a partir dos fragmentos de luvas no método de difusão.

A maior citotoxicidade das luvas de látex em relação às nitrílicas e vinílicas, evidenciada principalmente no método de difusão em ágar, também foi constatada no método de captação de vermelho neutro pelos menores valores de CI_{50} obtidos para os extratos das amostras (faixa de 4,6% a 22,5%), quando comparados às luvas de nitrila e vinila, que apresentaram menor citotoxicidade evidenciada pelos maiores valores de CI_{50} (faixa 26,6% a 81,7%).

Entre os métodos farmacopeicos, o método de difusão em ágar foi o que melhor diferenciou a citotoxicidade das amostras de luvas de látex, e das amostras nitrílicas e vinílicas.

O método de eluição quando comparado ao de captação de vermelho neutro, foi considerado o melhor método para comparação da citotoxicidade de amostras de luvas de látex, nitrílicas e vinílicas, porque foi possível correlacioná-lo diretamente com os métodos de difusão em ágar e de contato direto. Um fator limitante do método de captação de vermelho neutro é a ausência de parâmetros para a classificação das amostras em graus de citotoxicidade (0 a 4) e de critérios para determinação da validade e aprovação das amostras. No entanto, o método espectrofotométrico mostra-se um

método promissor para uma determinação mais precisa da citotoxicidade dos biomateriais em relação aos 3 métodos atualmente preconizados pelas farmacopeias para material polimérico de uso médico, principalmente pela possibilidade de determinação das citotoxicidades relativas das amostras a partir dos valores de CI_{50} .

Os 4 métodos escolhidos para a determinação da citotoxicidade *in vitro* das amostras de luvas são baseadas no mesmo princípio, ou seja, a captação e armazenamento de vermelho neutro pelas células viáveis. Há diferenças substanciais entre os métodos. Os ensaios de difusão em ágar e de contato direto que empregaram as amostras íntegras de luvas são semiquantitativos, enquanto que, para os extratos das amostras em meio de cultura sob condições normais de temperatura (37°C) foram empregados os métodos qualitativo de eluição e o método espectrofotométrico de captação do vermelho neutro quantitativo. Em função destas particularidades é previsível a obtenção de resultados diferentes entre os métodos.

Paralelamente, Vidal e Granjeiro (2017) afirmaram que as metodologias (difusão, contato direto, eluição e captação de vermelho neutro) são equivalentes, e a escolha do método de ensaio mais adequado deve ser feita de acordo com o tipo da amostra a ser analisada e a disponibilidade de equipamentos de cada laboratório. Bem como, as diferenças de resultados observados nas metodologias podem estar relacionadas com a degradação dos compostos químicos liberados durante a extração das amostras e que a escolha e interpretação das metodologias empregadas, serão indispensáveis para análise e predição de sucesso ou fracasso do produto. Ressaltamos como Vidal e Granjeiro (2017) a importância da inclusão de ensaios de citotoxicidade para luvas cirúrgicas de látex e de procedimentos de nitrila e vinila para garantir produtos de maior qualidade para os usuários.

7 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados concluiu-se que:

1. 100% das luvas de látex, de nitrila e vinila foram citotóxicas nos métodos de difusão em ágar, contato direto, eluição e captação de vermelho neutro com células L929.

2. A presença de pó não influenciou na citotoxicidade das luvas de látex nos métodos de difusão em ágar, no contato direto e eluição. No método de captação de vermelho neutro, porém, 43% (3/7) das luvas sem pó mostraram valores de $CI_{50\%}$ de 5,9%, enquanto as restantes 57% (4/7) das luvas sem pó apresentaram os maiores valores de $CI_{50\%}$ de 13,3%, 14,4%, 15,2% e 22,5%, correspondendo às 4 luvas de látex de menor citotoxicidade.

3. O método de difusão em ágar quando comparado ao contato direto mostrou melhor desempenho para a diferenciação de citotoxicidade das luvas de látex em relação às nitrílicas e vinílicas.

4. O método de eluição qualitativo realizado com extratos de amostras em MEM completo mostrou uma resposta mais acentuada em células L-929 para os extratos das luvas de látex e principalmente para as luvas nitrílicas e vinílicas, em relação aos métodos de difusão em ágar e contato direto.

5. O método de eluição quando comparado ao de captação de vermelho neutro, foi considerado o melhor método para comparação da citotoxicidade de amostras de luvas de látex, nitrílicas e vinílicas, porque foi possível correlacioná-lo diretamente com os métodos de difusão em ágar e de contato direto.

6. Entre os métodos farmacopeicos, o método de difusão em ágar foi o que melhor diferenciou a citotoxicidade das amostras de luvas de látex e das amostras nitrílicas e vinílicas devendo ser incluído obrigatoriamente na avaliação da citototoxicidade destas luvas visando ações de vigilância sanitária de orientação e de contribuição para a melhoria de qualidade destes produtos.

7. O método de captação de vermelho neutro realizado com extratos de amostras em MEM completo, mostrou-se um método quantitativo promissor

para uma determinação mais precisa da citotoxicidade de amostras de luvas em relação aos 3 métodos atualmente preconizados pelas farmacopéias para materiais poliméricos de uso médico. Uma vantagem do método em relação aos demais, é a determinação mais precisa das citototoxicidades relativas das amostras, bem como, das amostras em relação ao controle positivo a partir dos valores de CI_{50} obtidos. A desvantagem do método é a ausência de parâmetros para a classificação das amostras em graus de citotoxicidade (0 a 4) baseado nos valores de CI_{50} e de critérios para determinação da validade e aprovação das amostras.

8 PERSPECTIVAS

Espera-se que os resultados obtidos com este trabalho possam contribuir para:

- Implementar por meio dos POPs dos ensaios de citotoxicidade *in vitro* pelos métodos de contato direto e de eluição os referidos ensaios no Setor de Citotoxicidade e Genotoxicidade do Departamento de Farmacologia e Toxicologia do INCQS.
- Ampliar os estudos do método de captação de vermelho neutro que se mostrou muito promissor para a análise de citotoxicidade de luvas e correlacioná-lo principalmente com o método de eluição.
- Alertar os órgãos competentes da necessidade de inclusão de melhor descrição das substâncias químicas utilizados na fabricação das luvas nos rótulos de suas embalagens.
- Sensibilizar os órgãos reguladores responsáveis, pela inclusão obrigatória de pelo menos dois (difusão em ágar e eluição) dos quatro métodos de ensaios aplicados neste trabalho para o controle da qualidade de luvas cirúrgicas e de procedimentos, além disso propor a modificação do grau de risco. Embora os testes de citotoxicidade *in vitro* não sejam preconizados na legislação brasileira para avaliação de segurança biológica de luvas cirúrgicas e de procedimentos e devido, a escassez na literatura de métodos que avaliem a citotoxicidade destes produtos é imprescindível que todos se conscientizem de que é necessária a inclusão destes testes para todos os materiais médicos. O presente estudo demonstrou a importância de se explorar o assunto e de ressaltar a gravidade em relação a estes produtos por apresentarem um potencial citotóxico relevante para os trabalhadores e os pacientes, detectado em todos os 4 ensaios realizados. Os resultados mostram que uma combinação de dois ou mais métodos de citotoxicidade *in vitro* é necessária para um resultado mais fidedigno.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, C. L. **Investigação, desenvolvimento e produção de biomateriais em Portugal**. 2014. 82 f. Dissertação (Mestrado em Materiais e Dispositivos Biomédicos) - Universidade de Aveiro, Portugal, 2014.

ALBIERI, C.; RUSCHEL, N. **Normas técnicas no comércio internacional e o papel do INMETRO**, 2012. Disponível em:
<<http://www.liraa.com.br/conteudo/2325/normas-tecnicas-no-comercio-internacional-e-o-papel-do-inmetro>>. Acesso em: 11 mar. 2017.

ALTENSTETTER, C. International collaboration on medical device regulation: Issues, problems and stakeholders. In: MACKINTOSH, M.; KOIVUSALO, M. (Eds.). **Commercialization of health care**. Basingstoke: Palgrave Macmillan. UK, 2005. p. 170-186.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 1339**: luva cirúrgica – Especificação. Rio de Janeiro, 1995.

_____. **NBR 13392**: luvas para exame médico de uso único. Rio de Janeiro, 2004.

_____. **NBR-ISO 11193-1**: luvas para exame médico de uso único. Rio de Janeiro, 2009.

BEILEN, J.B.; POIRIER, Y. Produção de polímeros renováveis a partir de plantas cultivadas. **Planta J.**, v.54, p.684-701, 2008.

BELSITO, D.V. Occupational contact dermatitis: etiology, prevalence, and resultant impairment/disability. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 53, n. 2, p. 303-313, 2005.

BITENSKY, L. The reversible activation of lysosomes in normal cells and the effects of pathological conditions. In: DE DUVE, Christian. **Ciba Foundation Symposium-Lysosomes**. London: John Wiley & Sons, 1963. p. 362-383.

BLACK, J. **Biological performance of materials**: fundamentals of biocompatibility. 4. ed. Abingdon: Taylor & Francis, 2005.

BRASIL. Congresso Nacional. Lei nº 6.360, 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.

_____. Ministério do Trabalho. Portaria GM nº 3.214, de 8 de junho de 1978. Aprova as Normas Regulamentadoras -NR - do Capítulo V, Título II, da Consolidação das Leis do Trabalho, relativas à Segurança e Medicina do Trabalho. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 06 jul. 1978. Disponível em: <<http://www.ctpconsultoria.com.br/pdf/Portaria-3214-de-08-06-1978.pdf>>. Acesso em: 22 set. 2015.

_____. Lei n. 8.080, 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. **Casa Civil**, Brasília, 1990. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8080.htm>. Acesso em: 22 set. 2015.

_____. Congresso Nacional. Lei nº 9.782, 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 de janeiro de 1999.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 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. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 29 jun. 2000. Disponível em: <<http://pnass.datasus.gov.br/documentos/normas/65.pdf>>. Acesso em: 22 set. 2015.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 185, de 22 outubro 2001. Registro, Cadastramento, Alteração, Revalidação e Cancelamento do Registro de Produtos Médicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 de outubro de 2001. Disponível em: <http://www.ANVISA.gov.br/ANVISAlegis/resol/2001/185_01rdc.htm>. Acesso em: 22 set. 2015.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº. 206, 17 de novembro de 2006. Estabelece Regulamento Técnico de Produtos para Diagnóstico de uso in vitro e seu Registro, Cadastramento, e

suas alterações, revalidações e cancelamento. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 nov. 2006.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº5, de 15 de fevereiro de 2008. Estabelece os requisitos mínimos de identidade e qualidade para as luvas cirúrgicas e luvas para procedimentos não cirúrgicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 fev. 2008. Seção 1, p. 96.

_____. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Portaria nº. 233, de 30 junho 2008. Regulamento de Avaliação da Conformidade para Luvas Cirúrgicas e Luvas para Procedimentos Não-Cirúrgico. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 03 jul. 2008. Seção 1, p. 82. Disponível em: <[http://www.aladi.org/nsfaladi/normasTecnicas.nsf/09267198f1324b64032574960062343c/31231d4e58d151d1032579e4004c7b51/\\$FILE/Portaria%20N%C2%B0%20233-2008.pdf](http://www.aladi.org/nsfaladi/normasTecnicas.nsf/09267198f1324b64032574960062343c/31231d4e58d151d1032579e4004c7b51/$FILE/Portaria%20N%C2%B0%20233-2008.pdf)>. Acesso em: 23 set. 2015.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. A regulação de luvas no Brasil. **Boletim eletrônico de Investigação em Vigilância Sanitária**, Brasília, v. 1, 2010a. Disponível em: <http://www.ANVISA.gov.br/divulga/newsletter/boletim_vigipos/02_200510.htm>. Acesso em: 8 set. 2016.

_____. Ministério do Trabalho. Portaria SIT/DSST nº 194, de 7 de dezembro de 2010. Altera a Norma Regulamentadora nº 6 (Equipamentos de Proteção Individual - EPI). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 08dez. 2010b. Disponível em: <http://www.normaslegais.com.br/legislacao/portariasit194_2010.htm>. Acesso em: 22 set. 2015 .

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº55, de 4 de novembro de 2011. Estabelece os requisitos mínimos de identidade e qualidade para as luvas cirúrgicas e luvas para procedimentos não cirúrgicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 07 nov. 2011a. Seção 1, p. 105.

_____. Conselho Nacional de Secretários de Saúde. **Vigilância em saúde**. Brasília: Conass; p .320, 2011b

_____. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Portaria nº 332, de 26 junho 2012a. Aprova a revisão dos Requisitos de Avaliação da Conformidade para Luvas Cirúrgicas e de Procedimento Não Cirúrgico de Borracha Natural, Borracha Sintética e de Misturas de Borrachas Sintéticas.

INMETRO. Disponível em:

<<http://www.INMETRO.gov.br/legislacao/rtac/pdf/rtac001862.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2017.

_____. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Portaria nº 451, de 31 de agosto de 2012b. Modifica a Portaria Inmetro nº 332, de 26 de junho de 2012. **INMETRO**. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/legislacao/rtac/pdf/RTAC001901.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2017.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 16, de 28 de março de 2013. Aprova o Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação de Produtos Médicos e Produtos para Diagnóstico de Uso *In Vitro* e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF Poder Executivo, 01 abr. 2013.

_____. Núcleo de Gestão do Sistema Nacional de Notificação e Investigação em Vigilância Sanitária Unidade de Tecnovigilância. **Alertas de tecnovigilância**: alerta 990. Disponível em: <http://www.ANVISA.gov.br/sistec/Alerta/RelatorioAlerta.asp?NomeColuna=CO_SEQ_ALERTA&Parametro=990>. Acesso em: 12 out. 2016.

_____. **Tecnovigilância**. Disponível em: <<portal.amvisa.gov.br/tecnovigilancia>>. Acesso em: 23 jan. 2018a.

BRITISH STANDARDS INSTITUTION. **BS EN 420**: protective gloves – general requirements and test methods. Reino Unido, 2003. Disponível em: <https://ec.europa.eu/growth/single-market/european-standards/harmonised-standards/personal-protective-equipment_en>. Acesso em: 05 ago. 2017.

BRUNA, C. Q.M. et al. The impact of the use of different types of gloves and bare hands for preparation of clean surgical instruments. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 24, 2016.

BRUCK, S. D. **Properties of biomaterials in the physiological environment**. EUA: CRC Press, 1980.

CANUTO, D.B.; COSTA, D.U.; SILVA, L.D. Trabalhador de enfermagem alérgico à luva de látex: um estudo sobre outras opções. **R. Enferm. UERJ**, Rio de Janeiro, v. 15, n.1, p. 125-129, 2007.

CASHINS, S. D.; ALFORD, R. A.; SKERRATT, L. F. Lethal effect of latex, nitrile, and vinyl gloves on tadpoles. **Herpetological Review**, v. 39, p. 298-301, 2008.

CRITCHLOW, J. D. et al. Quality control in an in-vitro fertilization laboratory: use of human sperm survival studies. **Human Reproduction**, v. 4, n. 5, p. 545-549, 1989.

CHAVÉZ, A. L. L., A.; CÁCERES, J. A. Q., Medidas regulatórias para importar produtos para a saúde: estudo de caso de uma microempresa Pontagrossense na importação de luvas para procedimentos não cirúrgicos de borracha natural. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ADMINISTRAÇÃO, 2017, Ponta Grossa, PR. **Anais...** Ponta Grossa, PR: ADMPG, 2017.

DÍEZ-PASCUAL, A. M.; GASCÓN, D. Carbon Nanotube Buckypaper Reinforced Acrylonitrile-Butadiene-Styrene Composites for Electronic Applications. **ACS Applied Materials and Interfaces**, n. 5, p. 1210-1219, 2013.

DOS SANTOS, R. L. et al. Evaluation of the cytotoxicity of latex and non-latex orthodontic separating elastics. **Orthodontics & Craniofacial Research**, v. 13, n. 1, p. 28-33, 2010.

DUCEL, Georges et al. **Prevention of hospital-acquired infections: a practical guide**. 2. ed. Geneva: WHO, 2002.

ECRI Institute. Surgical and Examination Gloves. Disponível em: <<https://members2.ecri.org/Components/HRC/pages/SurgAn21.aspx#appendix>>. Acesso em 22 jun. 2016.

EUROPEAN STANDARD NORME EUROPÉENNE EUROPÄISCHE NORM. **EN 455-3**: medical gloves for single use - part 3: requirements and testing for biological evaluation. Brussels, 2015.

GOMES, M. J. Hipersensibilidade ao látex. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/ Brazilian Journal of Health Research**, v. 8, n. 2, p. 66-72, 2006.

ELLIS, H. Evolution of the surgical glove. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 207, n. 6, p. 948-950, 2008.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. **Testes de reatividade biológica *in vitro***. 5. ed. São Paulo: Atheneu, v. 1, p. 312-319, 2010.

FERNADEZ, O. et al. Associação de urticária de contato e dermatite alérgica de contato com borracha. **An. Bras. Dermatol.**, v. 84, p. 177-179, 2009.

FERREIRA, A. M. et al. Conhecimento da equipe de enfermagem acerca do uso de luvas no contexto hospitalar. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 11, n. 3, p. 628-34, 2009.

GNANESWARAN, V.; MUDHUNURI, B.; BISHU, R. A study of latex and vinyl gloves: performance versus allergy protection properties. **International Journal of Industrial Ergonomics**, v. 38, n. 2, p. 171-181, 2008.

GONZALO-GARIJO, M. A. et al. Hypersensitivity reactions due to nitrile gloves. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 129, n. 2, p. 562-564, 2012.

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. **Food and Cosmetics Toxicology**, v. 11, n. 2, p. 255-263, 1973.

GRIPPA, M. et al. Prevention of latex allergy among health care workers: evaluation of the extractable latex protein content in different types of medical gloves. **Am J Ind Med**, n. 44, p. 24-31, 2003.

International Agency for Research on Cancer. IARC. DI-(2-ETHYLHEXIL) PHTHALATE monograph. In: Some Chemicals Present in Industrial and Consumer Products, Food and Drinking-water. **IARC**, França, v. 101, p. 149-284, 2013.

INTERNATIONAL STANDARZATION ORGANIZATION. **ISO 10282:2005(E)**: single sterile rubber surgical gloves – specification. Switzerland, 2005.

INTERNATIONAL STANDARZATION ORGANIZATION. **ISO 10.993-5**: biological evaluation of medical device - part: 5 tests for cytotoxicity: in vitro methods. Switzerland, 2009.

JEFFERYS, D. B. The regulation of medical devices and the role of the Medical Devices Agency. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 52, n. 3, p. 229-235, 2001.

LAI, B. et al. Comprehensive analysis of the toxic and refractory pollutants in acrylonitrile–butadiene–styrene resin manufacturing wastewater by gas chromatography spectrometry with a mass or flame ionization detector. **Journal of Chromatography A**, v. 1244, p. 161-167, 2012.

LIMA, P. M. Tópicos em Biomateriais. **Informativo da área de ciências e engenharia dos materiais**, n. 1, 2006.

LÖNNROTH, E. C. Toxicity of medical glove materials: a pilot study. **International Journal of Occupational Safety and Ergonomics**, v. 11, n. 2, p. 131-139, 2005.

LUCHESE, G. **Globalização e regulação sanitária**: os rumos da vigilância sanitária no Brasil. Brasília: ANVISA; 356 p. 2008.

MACEDO, L. P. **Comportamento de luvas no pós mercado**: uma abordagem da Tecnovigilância. 2013. 56 f. Monografia (Graduação em Saúde Coletiva) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

MARTINS, L.E.A.M.; REIS, V. M. S. Imunopatologia da dermatite de contato alérgica. **An Bras Dermatol**, v. 86, n. 3, p. 419-433, 2011.

MARTINS F. L. et al. Aspectos regulatórios e normativos sobre luvas de látex cirúrgicas e de procedimento. **Braz. J. Allergy Immunol**, v.3, n. 1, p. 7-12, 2015.

MELLSTRÖM, G. A.; BOMAN, A. Protective gloves. In: **CONDENSED Handbook of Occupational Dermatology**. New York: Springer Berlin Heidelberg, 2004. p. 247-257.

MENDONÇA, K. R. **Análise de desempenho de filtragem biomecânica derivada de biomaterial látex aplicada em sistema de aquisição, exibição e análise de sinais eletromiográficos**. 2016.170 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

MINISTÉRIO DAS FINANÇAS, GOVERNO DA MALÁSIA. **Relatório econômico 2004 / 2005**. Kuala Lumpur: New Straits Times, 2004. 24 p.

MORAIS, L. S.; GUIMARÃES, G. S.; ELIAS, C. N. Liberação de íons por biomateriais metálicos. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 12, n. 6, p. 48-53, 2007.

MORALES, M. Métodos alternativos à utilização de animais em pesquisa científica: mito ou realidade? **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 2, p. 33-36, 2008.

MOTTA, A. et al. Dermatite de contato. **Rev Bras Alerg Immunopatol**, v. 34, n. 3, p. 73-82, 2011.

MUSKENS, I. S. et al. Introduction of Novel Medical Devices in Surgery: Ethical Challenges of Current Oversight and Regulation. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 225, n. 4, p. 558-565, 2017.

NEMES, Z. et al. The pharmacological relevance of vital staining with neutral red. **Experientia**, v. 35, n. 11, p. 1475-1476, 1979.

OLIVEIRA, H. R.; ALCHORNE, A. O. A. Fundamentals of the knowledge about chemical additives present in rubber. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 5, p. 911-916, 2011.

ONTARIO AGENCY FOR HEALTH PROTECTION AND PROMOTION, PROVINCIAL INFECTIOUS DISEASES ADVISORY COMMITTEE. **Routine Practices and Additional Precautions in All Health Care Settings**. 3. ed. Toronto, ON: Queen's Printer for Ontario; November 2012.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Guideline 432 in vitro 3T3 nru phototoxicity test (original guideline, adopted 13th April 2004). **OECD guidelines for the testing of chemicals**. (ISSN 1607-310X). Disponível em: <http://caliban.sourceoecd.org/vl%48942027/cl%411/nw%41/rpsv/periodical/p15_about.htm?jnlissn%41607310x>. Acesso em: 15 jan. 2018.

OSHIMA, H; NAKAMURA, M. A study on reference standard for cytotoxicity assay of biomaterials. **Bio-medical materials and engineering**, v. 4, n. 4, p. 327-332, 1994.

OWNBY, D. R. A history of latex allergy. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 110, n. 2, p. S27-S32, 2002.

PAOLHORIES G - Reducing proteins in latex gloves: the industrial approach. **Clin Rev Allergy**, v, 11, p. 11:391-402, 1993.

PARIENTE, J. L. et al. Cytotoxicity assessment of latex urinary catheters on cultured human urothelial cells. **European urology**, v. 38, n. 5, p. 640-643, 2000.

PARK, J. B.; BRONZINO, J. D. **Biomaterials**: principles and applications. Taylor & Francis, 2002.

PARK, J.; LAKES, R.S. **Biomaterials**: an introduction. Springer, 2007.

PINA, E. O Uso de luvas na prestação de cuidados de saúde. **Revista Nursing**, p. 29-33, 2006.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.

PITHON *et al.* Avaliação da citotoxicidade de luvas de procedimentos. **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac**, v. 9, n. 3, 2009.

POWER, S.; GALLAGHER, J.; MEANEY, S. Quality of life in health care workers with latex allergy. **Occupational Medicine**, v. 60, n. 1, p. 62-65, 2010.

PRATT, R. J. et al. National evidence-based guidelines for preventing healthcare-associated infections in NHS hospitals in England. **Journal of Hospital infection**, v. 65, p. S1-S59, 2007.

PROCEDIMENTO operacional padronizado: ensaio de citotoxicidade in vitro-método de difusão em agar. In: INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Manual da Qualidade nº 65.3330.010**. Rio de Janeiro, 2017.

RANTA, P. M.; OWNBY, D. R. A review of natural-rubber latex allergy in health care workers. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 2, p. 252-256, 2004.

RATNER, B. D. et al. **Biomaterials science a multidisciplinary endeavor, in biomaterials science: an introduction to materials in medicine.** Elsevier Science, 2004.

REGO, A.; ROLEY, L. In-use barrier integrity of gloves: latex and nitrile superior to vinyl. **American Journal of Infection Control**, v. 27, n. 5, p. 405-410, 1999.

REIS, M. C. **Sistema indutor de neoformação tecidual para pé diabético com circuito emissor de luz de LEDs e utilização do látex natural.** 2013. 163 f. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

REPETTO, G.; DEL PESO, A.; ZURITA, J. L. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. **Nature Protocols**, v. 3, n. 7, p. 1125-1131, 2008.

RIPPEL, M. M.; GALEMBECK, F. Nanostructures and adhesion in natural rubber: new era for a classic-J. **Braz.Chem. Soc.**, v. 3, n. 6, p.1042-1030, 2009.

RISENGA, S. M. et al. Latex allergy and its clinical features among healthcare workers at Mankweng Hospital, Limpopo Province, South Africa. **SAMJ: South African Medical Journal**, v. 103, n. 6, p. 390-394, 2013.

RISENGA, S. M., SAMUEL, M. A historical perspective of latex allergy studies: review article. **Current Allergy & Clinical Immunology**, v. 27, n. 4, p. 285-289, 2014.

ROSA, S. S. R. F. et al. Use of Natural Latex as a Biomaterial for the Treatment of Diabetic Foot - A New Approach to Treating Symptoms of Diabetes Mellitus. **Topics in Public Health, InTech.**, p.213-248, 2015.

ROSE, R. F. et al. A review of the materials and allergens in protective gloves. **Contact Dermatitis**, v. 61, n. 3, p. 129-137, 2009.

ROSMANINHO, I.; MOREIRA, A.; SILVA, J. P. M. Dermatite de contacto: revisão da literatura. **Revista Portuguesa de Imunoalergologia**, v. 24, n. 4, p. 197-209, 2016.

RUSSELL-FELL, R. W. Evitar problemas: seleção de luvas médicas com base na evidência. **Rev. Nursing**, v. 12, n. 148, p. 18-24, 2000.

RUTKOW, I. M. The surgeon's glove. **Archives of Surgery**, v. 134, n. 2, p. 223-223, 1999.

SCHLICH, T. Why were surgical gloves not used earlier? **The Lancet**, v. 386, n. 10000, p. 1234-1235, 2015.

SCHMITT, M. D. *et al.* Análise das notificações de queixas técnicas em tecnovigilância em hospital universitário público. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 4, n. 3, p. 35-41, 2016.

SHAH, A. R.; GOYAL, R. K. Current status of the regulation for medical devices. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 70, n. 6, p. 695, 2008.

SUKEKAVA, F.; SELL, A. M. Caracterização da hipersensibilidade a luvas de látex em profissionais da odontologia. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v. 29, n. 1, p. 39-44, 2007. DOI: 10.4025/actascihealthsci.v29i1.103.

SUURONEN, K. *et al.* Triphenylphosphite, a new allergen in polyvinylchloride gloves. **Contact dermatitis**, v. 68, n. 1, p. 42-49, 2013.

BIOLOGICAL reactivity tests, in vitro: agar diffusion test. In: THE UNITED States Pharmacopeia 39. National Formulary 34. Rockville: U.S. Pharmacopeial, 2016.

THE WILLIAMS dictionary of biomaterials. Liverpool University Press, 1999.

TRINDADE, E. *et al.* A importância da tecnovigilância no processo regulatório de luvas no Brasil. **BIT: Boletim Informativo de Tecnovigilância**, n. 2, 2011. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/boletim_tecno/boletim_tecno_Junho_2011/PDF/A%20import%C3%A2ncia%20da%20Tecnovigil%C3%A2ncia%20no%20processo%20regulat%C3%B3rio%20de%20luvas%20no%20Brasil.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2017.

VERDOLIN, B. A., BOAS, W. W. V., GOMEZ, R. S. Alergia ao látex: diagnóstico accidental após procedimento urológico. Relato de caso. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 53, p.496-500,2003.

VICENTE, M. G. Vigilância pós-comercialização de produtos para a saúde: a Tecnovigilância como uma prática de Saúde Pública. **Boletim Informativo de Tecnovigilância**, Brasília, n. 3, 2012.

VIDAL, M. N. P. *et al.* Evaluation of Brazilian medical devices using agar diffusion cytotoxicity assay. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 2, p. 84-87, 2009.

VIDAL, M. N. P.; GRANJEIRO, J. M. Cytotoxicity Tests for Evaluating Medical Devices: An Alert for the Development of Biotechnology Health Products. **Journal of Biomedical Science and Engineering**, v. 10, n. 09, p. 431, 2017.

VILLANTA, D. *et al.* Are always nitril gloves natural rubber protein free? **Allergy**, v. 55, p.153, 2000. Supl. 63.

WALCZAK, D. A. *et al.* Surgical Gloves—Do they Really Protect Us? **Polish Journal of Surgery**, v. 86, n. 5, p. 238-243, 2014.

WANG, J. *et al.* Cytotoxicity of fig fruit latex against human cancer cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 3, p. 1025-1033, 2008.

WILSON, J.; ELIZABETH J. A.; CANELAS, M. R. **Controlo de infecção na Prática Clínica**. 2003.

WINCKLER, J. Vital staining of lysosomes and other cell organelles of the rat with neutral red (author's transl). **Progress in Histochemistry and Cytochemistry**, v. 6, n. 3, p. 1, 1974.

WONG, J. Y.; BRONZINO, J. D. **Biomaterials**. Taylor & Francis, 2007.

WOODS, J. A. *et al.* Surgical glove lubricants: from toxicity to opportunity. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 15, n. 2, p. 209-220, 1997.

APÊNDICE A - Tabela 1: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de difusão em Agar**CONTROLES:**

MATERIAL: Controle negativo (Plástico atóxico)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Valores médios (cm)	0,0000				0,0000			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,0000/GC: 0							
MATERIAL: Controle positivo (garrote de látex)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,80	9,37	10,76	11,04	11,48	8,26	10,82	10,89
Valores médios (cm)	0,9993				1,0363			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	1,0178/GC: 4							
AMOSTRAS DE LÁTEX:								
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A1)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	5,24	4,87	5,49	6,55	4,69	6,62	7,03	6,97
Valores médios (cm)	0,5538				0,6328			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,5933/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A2)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	5,77	5,77	5,92	6,55	7,05	7,26	7,65	7,79
Valores médios (cm)	0,6003				0,7438			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,6720/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A3)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,46	6,07	5,80	5,80	6,21	5,05	4,21	5,12
Valores médios (cm)	0,6283				0,5148			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,5715/GC: 3							

APÊNDICE A - Tabela 1: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de difusão em Agar (continuação)

AMOSTRAS DE LÁTEX:

MATERIAL: Luva Látex com Pó (A5)								
Extensão da área descorada (mm)	Cultura 1				Cultura 2			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,00	7,82	8,29	8,55	7,05	8,71	7,65	7,81
Valores médios (cm)	0,8165				0,7805			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7985/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A6)								
Extensão da área descorada (mm)	Cultura 1				Cultura 2			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,66	7,27	7,23	7,17	8,09	7,85	7,87	7,76
Valores médios (cm)	0,7333				0,7893			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7613/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A7)								
Extensão da área descorada (mm)	Cultura 1				Cultura 2			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,11	7,20	7,24	5,86	6,56	6,69	6,95	6,58
Valores médios (cm)	0,6853				0,6695			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,6774/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A8)								
Extensão da área descorada (mm)	Cultura 1				Cultura 2			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	6,17	6,08	6,64	6,96	6,96	7,22	7,37	8,50
Valores médios (cm)	0,6463				0,7513			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,6988/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A9)								
Extensão da área descorada (mm)	Cultura 1				Cultura 2			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	5,60	5,92	5,32	4,41	4,92	3,60	6,40	4,70
Valores médios (cm)	0,5313				0,4905			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,5109/GC: 3							

Ensaio de Citotoxicidade *in vitro* – Método de Difusão em Agar, continuação

AMOSTRAS DE LÁTEX:

MATERIAL: Luva Látex com Pó (A10)								
Extensão da área descorada (mm)	Cultura 1				Cultura 2			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,60	6,94	6,75	6,83	6,98	7,01	6,93	7,04
Valores médios (cm)	0,7030				0,6990			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7010/GC: 3							

APÊNDICE A - Tabela 1: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de difusão em Agar (continuação)

AMOSTRAS DE LÁTEX:								
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A13)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	5,83	7,24	5,97	5,22	5,26	6,69	5,69	4,40
Valores médios (cm)	0,6065				0,5510			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,5788/GC:3							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A16)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	6,83	7,13	7,83	5,36	6,23	7,18	8,64	7,31
Valores médios (cm)	0,6788				0,7340			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7064/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A18)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,38	8,52	8,35	9,42	7,42	8,60	8,62	8,67
Valores médios (cm)	0,8918				0,8328			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,8623/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A19)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,36	6,49	5,91	5,63	6,28	6,21	6,20	6,55
Valores médios (cm)	0,6348				0,6310			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,6329/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A21)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,10	8,65	7,07	6,35	7,58	7,98	8,13	8,21
Valores médios (cm)	0,7543				0,7975			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7759/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A22)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,89	8,06	8,79	8,79	8,77	9,34	8,10	8,02
Valores médios (cm)	0,8633				0,8558			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,8595/GC: 3							

APÊNDICE A - Tabela 1: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de difusão em Agar (continuação)

AMOSTRAS DE LÁTEX:								
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A23)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,65	7,47	8,00	7,54	7,47	7,59	7,85	7,84
Valores médios (cm)	0,7665				0,7688			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7676/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A24)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,24	6,91	6,81	6,82	7,03	7,69	7,65	6,93
Valores médios (cm)	0,6945				0,7325			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7135/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A25)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,79	7,79	7,98	6,51	7,59	6,84	6,89	7,78
Valores médios (cm)	0,7518				0,7275			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7396/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A26)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,39	7,92	7,39	7,39	7,91	7,91	7,92	8,33
Valores médios (cm)	0,7523				0,8018			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7770/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A27)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,38	7,24	7,33	7,33	7,89	7,56	7,34	7,29
Valores médios (cm)	0,7320				0,7520			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7420/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A28)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	6,19	7,90	6,09	7,95	5,07	7,37	7,74	6,66
Valores médios (cm)	0,7033				0,6710			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,6871/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A29)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,56	7,64	7,59	7,36	6,60	9,96	7,91	7,25
Valores médios (cm)	0,7538				0,7930			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7734/GC: 3							

APÊNDICE A - Tabela 1: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de difusão em Agar (continuação)

AMOSTRAS DE LÁTEX:								
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A31)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,13	7,33	7,34	7,54	7,82	8,86	9,12	8,04
Valores médios (cm)	0,7835				0,8460			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,8148/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A32)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	10,15	10,09	7,48	8,75	8,12	8,23	8,54	10,47
Valores médios (cm)	0,9118				0,8840			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,8979/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A33)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,12	8,59	7,35	7,30	7,20	7,13	8,19	8,24
Valores médios (cm)	0,7590				0,7690			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,7640/GC:3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A34)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada em mm	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,84	8,08	11,08	8,03	8,39	7,47	9,52	8,37
Valores médios(cm)	0,8758				0,8438			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,8598/GC: 3							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A35)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,39	9,68	6,91	7,72	9,20	9,46	7,17	7,35
Valores médios (cm)	0,8175				0,8295			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,8235/GC: 3							
AMOSTRAS DE NITRILA E VINILA:								
MATERIAL: Luva Nitrila sem Pó (A4)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	3,61	3,14	3,47	3,52	3,68	3,20	3,39	2,75
Valores médios (cm)	0,3435				0,3255			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,3345/GC: 2							
MATERIAL: Luva Vinila sem Pó (A11)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	4,25	3,20	2,73	2,68	3,80	3,94	3,61	4,84
Valores médios (cm)	0,3215				0,4048			
Média final(cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,3631/GC: 2							

APÊNDICE A - Tabela 1: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de difusão em agar (continuação)

AMOSTRAS DE NITRILA E VINILA:								
MATERIAL: Luva Nitrila sem Pó (A15)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	3,45	3,14	3,99	3,68	5,39	4,95	4,02	4,41
Valores médios (cm)	0,3565				0,4693			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,4129/GC: 2							
MATERIAL: Luva Vinila sem Pó (A17)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	2,20	1,88	1,77	1,80	3,05	5,23	3,22	2,74
Valores médios (cm)	0,1913				0,3560			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,2736/GC: 2							
MATERIAL: Luva Vinila sem Pó (A20)	Cultura 1				Cultura 2			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	5,84	5,80	5,71	7,79	7,43	6,95	5,91	7,95
Valores médios (cm)	0,6285				0,7060			
Média final (cm)/Grau de Citotoxicidade (GC):	0,6673/GC: 3							

Fonte: (Do autor, 2018).

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto

CONTROLES:

MATERIAL: Controle negativo (Plástico atóxico)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4																
Extensão da área descorada (mm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Valores médios (cm)	0,000				0,000				0,000				0,000				0,000				0,000			
Média (cm):	0,000								0,000								0,000							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,0000/CG: 0																							
MATERIAL: Controle Positivo (Garrote de Látex)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4																
Extensão da área descorada (mm)	10,7	11,27	11,92	11,73	11,86	11,01	10,95	11,65	11,95	12,03	11,54	11,73	12,05	11,73	11,96	10,73	10,73	13,01	13,03	12,05	11,48	9,26	9,82	10,89
Valores médios (cm)	1,0745				1,1385				1,1792				1,1810				1,2202				1,0362			
Média final (cm):	1,1433								1,1801								1,1282							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	1,1507/CG: 4																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto (continuação)

AMOSTRAS DE LÁTEX:

MATERIAL: Luva Látex com Pó (A01)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
Extensão da área descorada (mm)	9,02	9,78	9,97	7,64	9,74	6,45	7,15	4,95	11,03	8,59	8,33	9,30	10,46	10,75	8,64	12,45	7,24	6,87	5,49	6,55	6,69	8,62	5,03	5,97
Valores médios (cm)	0,9103				0,7073				0,9313				1,0575				0,6538				0,6578			
Média (cm):	0,8088								0,9944								0,6558							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8196/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A02)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
Extensão da área descorada (mm)	6,36	7,45	7,66	9,84	7,74	5,88	7,46	7,49	8,45	11,05	10,29	12,66	9,65	8,54	10,23	8,75	7,77	8,77	5,92	7,55	9,05	5,26	8,65	7,79
Valores médios (cm)	0,7828				0,7143				1,0613				0,9293				0,7503				0,7688			
Média final (cm):	0,7485								0,9953								0,7595							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8344/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A03)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
Extensão da área descorada (mm)	9,06	9,98	10,44	8,25	8,04	10,35	9,10	8,36	8,86	10,76	6,49	8,73	9,54	10,76	9,54	9,88	7,05	8,34	7,35	5,40	7,52	7,54	8,98	10,02
Valores médios (cm)	0,9433				0,8963				0,871				0,993				0,7035				0,8515			
Média (cm):	0,9198								0,932								0,7775							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8764/GC: 3																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto (continuação)

MATERIAL: Luva Látex com Pó (A05)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
		9,35	11,29	8,76	9,25	9,80	8,47	9,69	7,65	7,89	8,45	8,52	9,02	8,45	7,92	8,65	8,53	10,01	4,12	3,45	9,83	9,85	4,69	5,86
Valores médios (cm)	0,9663				0,8903				0,847				0,8388				0,6853				0,7605			
Média (cm):	0,9283								0,8429								0,7229							
Média final dos 3 Ensaio (cm) / Grau de citotoxicidade (GC)	0,8313/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A06)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,97	9,47	9,09	9,91	8,49	9,92	10,38	9,72	9,71	8,39	7,52	9,85	8,35	8,52	9,50	9,83	9,35	5,97	5,77	9,44	7,32	5,94	5,94	7,59
Valores médios (cm)	0,936				0,9628				0,8868				0,905				0,7633				0,6698			
Média (cm):	0,9494								0,8959								0,7165							
Média final dos 3 Ensaio (cm) / Grau de citotoxicidade (GC)	0,8539/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A07)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,79	8,53	8,43	7,15	9,53	10,21	6,93	7,56	8,92	8,95	7,51	7,50	7,38	9,37	9,75	8,26	5,56	5,73	6,98	7,47	8,69	8,65	7,65	5,32
Valores médios (cm)	0,8225				0,8558				0,822				0,869				0,6435				0,7578			
Média (cm):	0,8391								0,8455								0,7006							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,7951/GC: 3																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto. (continuação)

MATERIAL: Luva Látex com Pó (A08)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,33	8,56	6,83	6,76	8,35	8,3	8,8	7,68	6,98	9,01	8,93	8,54	8,06	9,34	8,83	9,24	5,82	7,38	7,25	5,69	5,65	6,47	12,02	5,39
Valores médios (cm)	0,787				0,8283				0,8365				0,8868				0,6535				0,7383			
Média (cm):	0,8076								0,8616								0,6959							
Média final dos 3 Ensaio (cm) / Grau de citotoxicidade (GC)	0,7884/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A09)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,08	6,49	7,08	10,35	7,15	5,97	5,86	11,16	7,79	7,98	7,59	9,51	7,89	7,56	7,52	8,29	5,47	5,93	10,06	5,85	5,75	5,92	10,16	5,58
Valores médios (cm)	0,775				0,7535				0,8218				0,7815				0,6828				0,6853			
Média (cm):	0,7643								0,8016								0,6840							
Média final dos 3 Ensaio (cm) / Grau de citotoxicidade (GC)	0,7500/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A10)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,48	9,14	8,55	9,05	6,32	7,58	7,98	8,49	7,65	8,00	7,54	7,47	8,63	7,85	7,76	7,54	6,73	5,98	6,75	7,86	5,80	7,57	7,91	5,76
Valores médios (cm)	0,8805				0,7593				0,7665				0,7945				0,683				0,676			
Média (cm):	0,8199								0,7805								0,6795							
Média final dos 3 Ensaio(cm) / Grau de citotoxicidade (GC)	0,7600/GC: 3																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto (continuação)

MATERIAL: Luva Látex com Pó (A13)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,41	9,06	6,71	10,78	8,85	5,45	6,23	8,47	8,63	8,99	8,43	8,30	8,99	8,61	8,09	7,85	3,84	6,89	10,52	5,75	8,78	9,62	3,95	7,51
Valores médios (cm)	0,874				0,725				0,8588				0,8385				0,675				0,7465			
Média (cm):	0,7995								0,8486								0,7108							
Média final dos 3 Ensaio(cm) /Grau de citotoxicidade (GC)	0,7863/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A16)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,62	7,78	6,45	6,76	7,82	9,37	9,42	6,36	7,03	7,89	8,91	8,55	7,24	6,91	6,81	7,82	5,95	3,96	6,37	9,87	12,01	9,57	3,55	5,45
Valores médios (cm)	0,7653				0,8243				0,8095				0,7195				0,6538				0,7645			
Média (cm):	0,7948								0,7645								0,7091							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,7561/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A18)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,07	6,47	5,88	7,88	7,88	6,35	7,29	6,08	6,94	7,53	7,85	6,93	7,39	7,92	8,54	8,55	6,78	10,17	4,97	4,69	5,62	5,75	7,51	4,89
Valores médios (cm)	0,7075				0,69				0,7313				0,81				0,6653				0,5943			
Média (cm):	0,6988								0,7706								0,6298							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,6997/GC: 3																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto (continuação)

MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A19)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4												
		7,26	6,71	6,63	5,2	8,54	8,17	7,57	5,77	6,51	7,79	6,64	6,69	7,59	7,82	6,89	6,52	6,79	5,77	5,66	5,53	5,47	4,45	5,78
Valores médios (cm)	0,645				0,7513				0,6908				0,7205				0,5938				0,5165			
Média (cm):	0,6981								0,7056								0,5551							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,6530/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A21)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4												
	8,12	8,17	7,69	7,17	10,36	8,88	8,83	7,19	7,38	8,52	8,93	7,53	7,56	7,56	7,29	8,54	6,96	5,63	10,78	8,35	5,95	10,25	7,98	7,59
Valores médios (cm)	0,7788				0,8815				0,809				0,7738				0,793				0,7943			
Média (cm):	0,8301								0,7914								0,7936							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8050/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A22)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4												
	7,58	6,46	8,50	8,96	9,46	7,77	6,42	6,99	7,54	7,83	8,52	8,55	8,94	8,94	8,55	7,32	5,79	9,47	5,75	8,80	8,69	7,87	5,75	7,01
Valores médios (cm)	0,7875				0,766				0,811				0,8438				0,7453				0,733			
Média (cm):	0,7768								0,8274								0,7391							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,7811/GC: 3																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto (continuação)

MATERIAL: Luva Látex com Pó (A23)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,34	7,98	6,57	8,18	8,71	5,75	5,57	6,46	7,54	7,57	8,32	8,94	5,08	5,56	7,92	8,33	7,69	6,81	8,67	7,18	7,75	7,83	8,09	6,25
Valores médios (cm)	0,7518				0,6623				0,8093				0,6723				0,7588				0,7480			
Média (cm):	0,707								0,7408								0,7534							
Média final dos 3 Ensaio (cm) / Grau de citotoxicidade (GC)	0,7337/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A24)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,06	4,97	8,19	7,47	7,08	8,21	8,66	7,45	7,29	5,42	8,99	8,39	8,89	8,79	9,55	8,56	9,77	6,67	9,75	6,7	9,76	6,36	7,62	7,25
Valores médios (cm)	0,7423				0,785				0,7523				0,8948				0,8223				0,7748			
Média (cm):	0,707								0,7408								0,7534							
Média final dos 3 Ensaio (cm) / Grau de citotoxicidade (GC)	0,7952 /GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A25)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,23	10,00	7,33	7,20	9,67	6,36	6,96	8,34	8,85	7,98	7,67	8,25	8,85	9,59	8,77	9,34	5,80	6,11	7,25	9,77	6,58	9,75	9,79	6,47
Valores médios (cm)	0,819				0,7833				0,8188				0,9138				0,7233				0,8148			
Média (cm):	0,8011								0,8663								0,769							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8121/GC: 3																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto (continuação)

MATERIAL: Luva Látex com Pó (A26)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,84	5,27	7,56	8,96	8,47	8,78	6,85	7,34	7,82	7,79	8,76	7,25	8,42	7,29	8,71	8,75	5,75	8,84	7,62	4,25	8,85	8,71	5,25	8,85
Valores médios (cm)	0,7658				0,786				0,7905				0,8293				0,6615				0,7915			
Média (cm):	0,7759								0,8099								0,7265							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,7708/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A27)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,30	9,31	7,06	6,92	7,61	9,36	6,68	7,34	8,85	8,84	9,29	8,73	7,65	9,48	9,83	9,40	8,87	8,08	7,75	5,95	7,05	5,89	6,76	7,25
Valores médios (cm)	0,8148				0,7748				0,8928				0,909				0,7663				0,6738			
Média (cm):	0,7948								0,9009								0,72							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8052/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A28)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,53	8,54	9,41	6,93	7,31	6,93	11,17	7,88	9,77	9,95	8,10	9,02	9,81	10,29	9,59	8,85	6,14	7,43	8,33	6,75	5,80	12,08	11,05	6,75
Valores médios (cm)	0,8603				0,8323				0,921				0,9635				0,7163				0,892			
Média (cm):	0,8463								0,9423								0,8041							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8642/GC: 3																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto (continuação)

MATERIAL: Luva Látex com Pó (A29)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
		8,31	8,23	8,4	8,14	9,22	8,36	8,36	9,55	9,65	8,47	8,54	8,65	8,84	8,59	8,47	8,29	10,03	9,99	9,43	4,85	8,74	7,85	8,27
Valores médios (cm)	0,827				0,8873				0,8828				0,8548				0,8575				0,8463			
Média (cm):	0,8571								0,8688								0,8519							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8593/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A30)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	8,50	6,91	8,00	8,48	8,56	9,29	9,60	9,27	8,75	8,25	7,29	8,61	8,76	7,71	7,85	8,67	10,06	8,75	7,93	10,20	7,83	8,39	7,25	8,82
Valores médios (cm)	0,7973				0,918				0,8225				0,8248				0,9235				0,8073			
Média (cm):	0,8576								0,8236								0,8654							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8489/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A31)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,17	11,40	7,16	8,15	8,20	8,37	8,69	8,53	9,27	8,23	10,17	8,25	8,66	8,09	9,87	9,76	7,92	11,05	10,12	8,95	6,92	6,82	5,25	9,83
Valores médios (cm)	0,897				0,8448				0,898				0,9095				0,951				0,7205			
Média (cm):	0,8709								0,9038								0,8358							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8701/GC: 3																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto (continuação)

MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A32)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,92	9,29	10,51	8,94	10,42	10,15	9,03	7,78	8,75	8,81	9,05	10,17	8,65	9,47	10,06	8,34	8,94	8,93	7,75	10,15	6,83	8,91	8,25	6,80
Valores médios (cm)	0,9665				0,9345				0,9195				0,913				0,8943				0,7698			
Média (cm):	0,9505								0,9163								0,832							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8996/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex com Pó (A31)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,17	11,40	7,16	8,15	8,20	8,37	8,69	8,53	9,27	8,23	10,17	8,25	8,66	8,09	9,87	9,76	7,92	11,05	10,12	8,95	6,92	6,82	5,25	9,83
Valores médios (cm)	0,897				0,8448				0,898				0,9095				0,951				0,7205			
Média (cm):	0,8709								0,9038								0,8358							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8701/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Látex sem Pó (A32)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	9,92	9,29	10,51	8,94	10,42	10,15	9,03	7,78	8,75	8,81	9,05	10,17	8,65	9,47	10,06	8,34	8,94	8,93	7,75	10,15	6,83	8,91	8,25	6,80
Valores médios (cm)	0,9665				0,9345				0,9195				0,913				0,8943				0,7698			
Média (cm):	0,9505								0,9163								0,832							
Média final dos 3 Ensaio(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8996/GC: 3																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto (continuação)

AMOSTRAS DE NITRILA E VINILA:

MATERIAL: Luva Nitrila sem Pó (A04)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,56	8,73	8,10	7,40	9,05	8,27	8,67	9,36	8,79	9,56	9,75	10,73	8,95	9,89	10,54	8,03	5,74	8,58	6,33	7,92	6,34	7,25	5,12	4,99
Valores médios (cm)	0,7948				0,8838				0,9709				0,9353				0,7143				0,5925			
Média (cm):	0,8393								0,953								0,6534							
Média final dos 3 Ensaios(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,8152/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Vinila sem Pó (A11)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	10,61	8,82	9,39	7,09	8,00	6,75	6,17	6,97	8,89	8,06	8,77	9,34	8,71	7,05	7,47	7,59	5,68	4,82	6,98	9,86	5,97	5,76	8,39	5,84
Valores médios (cm)	0,8978				0,6973				0,8765				0,7705				0,6835				0,649			
Média (cm):	0,7975								0,8235								0,6663							
Média final dos 3 Ensaios(cm)/Grau de citotoxicidade (GC)	0,7624/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Nitrila sem Pó (A14)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
	7,57	7,48	8,96	6,48	6,94	5,25	4,82	6,12	7,59	7,69	8,63	8,99	7,73	7,65	8,63	8,40	9,97	7,25	5,59	7,85	8,58	5,98	7,49	5,55
Valores médios (cm)	0,7623				0,5783				0,8225				0,8103				0,7665				0,69			
Média (cm):	0,6703								0,8164								0,7283							
Média final dos 3 Ensaios(cm) /Grau de citotoxicidade (GC)	0,7383/GC: 3																							

APÊNDICE B - Tabela 3: ensaio de citotoxicidade *in vitro* – método de contato direto (continuação)

MATERIAL: Luva Nitrila sem Pó (A15)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4																				
	8,16	4,00	4,03	5,23	6,19	5,77	7,79	6,68	8,10	7,86	8,95	8,99	7,66	7,25	7,21	7,17	5,65	5,54	4,47	4,77	7,83	5,56	7,89	5,93
Valores médios (cm)	0,5355				0,6608				0,8475				0,7323				0,5108				0,6803			
Média (cm):	0,5981								0,7899								0,5955							
Média final dos 3 Ensaios(cm) /Grau de citotoxicidade (GC)	0,6612/GC: 3																							
MATERIAL: Luva Vinila sem Pó (A20)	Cultura 1 (Ensaio 1)				Cultura 2 (Ensaio 1)				Cultura 1 (Ensaio 2)				Cultura 2 (Ensaio 2)				Cultura 1 (Ensaio 3)				Cultura 2 (Ensaio 3)			
Extensão da área descorada (mm)	Q1	Q2	Q3	Q4																				
	8,02	6,71	6,60	6,59	7,24	6,45	6,59	5,55	7,89	7,56	8,52	7,56	7,34	7,29	6,51	6,12	5,99	6,43	6,30	9,52	7,78	7,25	5,63	7,53
Valores médios (cm)	0,698				0,6458				0,7883				0,6815				0,706				0,7048			
Média (cm):	0,6719								0,7349								0,7054							
Média final dos 3 Ensaios(cm) /Grau de citotoxicidade (GC)	0,7040/GC: 3																							

Fonte: (Do autor, 2018).