

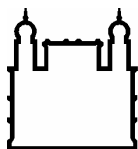
INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS

Mestrado em Tecnologia de Imunobiológicos

CONTROLE ESTATÍSTICO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DA
SUSPENSÃO VIRAL DA VACINA CONTRA FEBRE AMARELA
FABRICADA POR BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ

RICARDO DE CARVALHO

Rio de Janeiro
2005



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS
Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular
Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos

RICARDO DE CARVALHO

**CONTROLE ESTATÍSTICO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DA
SUSPENSÃO VIRAL DA VACINA CONTRA FEBRE AMARELA
FABRICADA POR BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Tecnologia de Imunobiológicos

RIO DE JANEIRO

2005

Ficha Catalográfica na Fonte

CICT/FIOCRUZ

Biblioteca de Manguinhos - Setor de Processamento Técnico de Monografias/Multimeios

Carvalho, Ricardo de.

Controle estatístico de processo da produção da suspensão viral da vacina contra a febre amarela fabricada por Bio-Manguinhos/FIOCRUZ/ Ricardo de Carvalho.

– Rio de Janeiro; 2005.

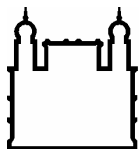
82 p.

Mestrado Profissional (Dissertação em Tecnologia de Imunobiológicos) – Instituto Oswaldo Cruz, em parceria com o Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos.

1. VACINA CONTRA FEBRE AMARELA 2. PROCESSO DE PRODUÇÃO
3. ESTATÍSTICA I.Título

CDD 614.49

Trabalho realizado no Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, no Departamento Produção, sob a orientação do Prof. Dr. Maurício Bezerra de Souza Jr. e Prof.^a Dr.^a Verônica Maria de Araújo Calado.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS
Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular
Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos

RICARDO DE CARVALHO

**CONTROLE ESTATÍSTICO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DA
SUSPENSÃO VIRAL DA VACINA CONTRA FEBRE AMARELA
FABRICADA POR BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Maurício Bezerra de Souza Jr.
Prof.^a Dr.^a Verônica Maria de Araújo Calado.

Aprovada em: 02/06/2005

EXAMINADORES:

Prof. Dr.^a Ana Gloria Godoi Vasconcelos - Presidente
Prof. Dr.^a Erika Christina Ashton Nunes Chrisman
Prof. Dr. Anderson Wilson da Silva Henriques

Rio de Janeiro, 02 de junho de 2005

DEDICATÓRIA

À minha esposa Carmem Silvia, pela
paciência e apoio.

Aos meus filhos Gabriel e Julia, pela
compreensão nos momentos da
minha ausência.

A meus pais Valdir e Niva, responsáveis
pela minha orientação na vida.

AGRADECIMENTOS

À Bio-Manguinhos, pela oportunidade e apoio para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Akira Homma, diretor de Bio-Manguinhos pelo inestimável apoio.

À Dr.^a Maria da Luz Fernandes pelo imensurável incentivo e apoio em todos os momentos.

A coordenação do curso de pós-graduação, especialmente a Dr.^a Sheila Farage, sempre presente, orientando e apoiando em todos os momentos.

Às funcionárias Zaira Prado e Soraya Morezi, pela grande dedicação e contribuição.

Aos meus colegas da turma MPTI-1, pelos momentos de agradável convivência.

Aos professores do curso de pós-graduação, que diretamente contribuíram para minha formação.

Aos professores Dr. Maurício Bezerra de Souza Jr. e a Dr.^a Verônica Maria de Araújo Calado, pela valiosa orientação recebida.

Ao professor Maulori C. Cabral, pelo incentivo e colaboração.

Ao meu amigo João Souza de Oliveira, pelo valioso incentivo e apoio (autor das fotos da produção).

Ao amigo Carlos Alberto Frota, pelo apoio e estímulo para a conclusão deste trabalho.

Aos colegas, Jaqueline das Graças, Valdemar de Paula, Ivone Cristina e Antônio Isaias pelo inestimável apoio.

Aos colegas do Laboratório de Produção de Vacina Contra Febre Amarela (LAFAM), pela compreensão e apoio.

Aos colegas do Departamento de Informática.

Ao grande pesquisador, Dr. Oscar Sebastião de Souza Lopes, “in memoriam” e ao Dr. Alberto Romeu Nicolau, com quem tive o prazer de trabalhar.

A todos os colegas da Unidade que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

DEDICATÓRIA	iv
AGRADECIMENTOS	v
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xvi
1. INTRODUÇÃO	
1.1 - Considerações iniciais.....	1
1.2 - Justificativa da pesquisa.....	2
1.3 - Objetivos do trabalho.....	3
1.4 - Organização do trabalho.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	
2.1 – O Vírus e a origem da doença.....	4
2.2 – Período de transmissão e imunidade.....	5
2.3 – Epidemiologia.....	5
2.3.1 – Febre Amarela na África e nas Américas.....	6
2.3.2 – Febre Amarela no Brasil.....	7
2.3.3 – Áreas epidemiológicas de febre amarela no Brasil.....	7
2.4 – Modelo Animal.....	8
2.5 – A Pesquisa de uma vacina no Brasil.....	8
2.6 – A Vacina.....	9
2.7 – Desenvolvimento da vacina: cepas 17D e 17DD no Brasil.....	10
2.8 – Sistema Lote Semente.....	11
2.9 – Produção da vacina utilizando embrião de galinha (<i>egg passage</i>).....	11
2.10 – Ovos para a produção.....	12
2.10.1 – Estrutura e composição do ovo.....	12
2.10.2 – A casca do ovo.....	13
2.10.3 – A cutícula.....	13
2.10.4 – Os poros.....	14
2.10.5 – As membranas da casca.....	14
2.10.6 – O albúmen.....	14
2.10.7 – A gema.....	15
2.10.8 – Interferências que afetam as funções e a qualidade da casca.....	15
2.10.9 – Intervalo entre a postura e a incubação.....	16
2.10.10 – Anexos embrionários.....	16
2.11 – Avanços tecnológicos e melhorias na qualidade.....	18
2.12 – A produção hoje	20
2.13 – Fundamentos do CEP.....	22
2.13.1 – Conceito de processo.....	23
2.13.2 – Características da qualidade.....	23
2.13.3 – Qualidade do produto.....	24

2.13.4 – Conceito de controle de processo.....	24
2.14 – Ferramentas do CEP.....	26
2.14.1 – Variação.....	26
2.14.2 – Limites de controle.....	27
2.14.3 – Limites de especificação.....	29
2.14.4 – Capacidade do processo.....	29
2.14.5 – Escolha e interpretação dos gráficos.....	31
3. METODOLOGIA	
3.1 – Área de aplicação do estudo.....	32
3.2 – Etapas do processo de produção da SV.....	33
3.2.1 – Aquisição dos ovos.....	33
3.2.2 – Seleção e incubação dos ovos.....	33
3.2.3 – Ovoscopia pré-inoculação.....	34
3.2.4 – Inoculação do vírus.....	35
3.2.5 – Ovoscopia pré-coleta.....	36
3.2.6 – Coleta e trituração dos embriões.....	37
3.2.7 – Centrifugação.....	38
3.2.8 – Preparo da suspensão viral.....	38
3.2.9 – Congelamento e estocagem.....	39
3.2.10 – Controle da suspensão viral.....	40
3.3 – Seleção dos pontos de aplicação do CEP.....	42
3.4 – Definição das características de qualidade dos processos.....	42
3.5 – Sistema de coleta de dados.....	45
3.6 – Preparação dos gráficos de controle.....	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4.1 – Introdução.....	47
4.2 – Resultados da variável "perdas no transporte".....	47
4.3 – Resultados da variável "ovos não embrionados".....	52
4.4 – Resultados da variável "embriões mortos na primeira incubação".....	57
4.5 – Resultados da variável "perdas na inoculação".....	60
4.6 – Resultados da variável "embriões mortos na segunda incubação".....	63
4.7 – Resultados da variável "perdas na coleta de embriões".....	68
4.8 – Resultados da variável "rendimento na coleta de embriões".....	71
5. CONCLUSÕES	
5.1 – Conclusões.....	74
5.2 – Sugestões	75
APÊNDICE.....	76
Apêndice I - Gráficos da Distribuição Normal referentes aos processos de produção.....	76
Apêndice II - Dados referentes a origem dos ovos SPF.....	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79

RESUMO

Esta dissertação investiga a aplicação do Controle Estatístico de Processo (CEP) nas principais fases da produção da suspensão viral (SV) da vacina contra febre amarela produzida em Bio-Manguinhos/FIOCRUZ, Brasil. Empregada na formulação do produto final, a SV é preparada em várias etapas, utilizando a tecnologia aperfeiçoada no Brasil (*egg passage*), desde 1937. O sistema de CEP implantado está baseado em recursos computacionais, perfeitamente adaptados à realidade da Instituição. Os gráficos de controle foram a principal ferramenta estatística empregada. Sete variáveis relativas às etapas da produção da SV foram estudadas: perdas de ovos no transporte; ovos não embrionados; embriões mortos na primeira incubação; perdas na inoculação; embriões mortos na segunda incubação; perdas na coleta de embriões e rendimento na coleta de embriões. Dentre as variáveis investigadas, perdas por transporte e fertilidade dos ovos não sofrem interferência direta da produção, porém são de fundamental importância para as fases seguintes e, por esse motivo, foram estudadas. Os resultados mostraram que seis variáveis, das sete analisadas, apresentaram resultados sob controle, ainda que duas delas não tenham atendido a uma das regras sensibilizantes estabelecidas: ovos não embrionados e perdas na coleta. A variável rendimento ficou caracterizada como não controlada. Em relação à capacidade, os processos de transporte de ovos e ovos não embrionados foram classificados como processos incapazes ($Cpk < 1,00$). Os processos com as variáveis embriões mortos na primeira incubação e perdas na inoculação foram considerados como relativamente capazes ($1,00 \leq Cpk < 1,33$) e, finalmente, os processos com variáveis embriões mortos na segunda incubação e perdas na coleta foram considerados capazes ($Cpk \geq 1,33$). Pela análise do conjunto, os resultados indicam a necessidade de ajustes, intensificação e controle contínuo dos processos que estão sendo praticados.

ABSTRACT

This work deals with the application of Statistical Control Process (SCP) to the main parts of the production of Viral Suspension (VS) of the yellow fever vaccine manufactured by Bio-Manguinhos/FIOCRUZ, Brazil. The VS is used in the formulation of the final product and is prepared in several steps, using a technology (egg passage), which has been being improved in Brazil since 1937. The SCP system used is based on computational resources that are well adapted to the Institution reality. Control graphs were the main statistical tools employed. Seven variables related to the production of the VS were investigated: transporting losses of eggs; non-germinated eggs; dead embryos during the first incubation; losses during inoculation; dead embryos during the second incubation; losses during embryo collect and efficiency in collecting embryo. Among the studied variables, transporting losses and fertility of eggs do not relate directly to the production, but are of fundamental importance for the subsequent steps, and were also studied for this reason. The results showed that six out of seven analyzed variables were under control, although two of them did not attend one of the established sensitivity rules: non germinated eggs and losses in collecting. Efficiency ended up characterized as a non-controlled variable. As far as capacity is concerned, transporting of eggs and non-germinated eggs were classified as incapable processes ($Cpk < 1,00$). Dead embryos during the first incubation and losses during inoculation were considered as relatively capable processes ($1,00 \leq Cpk < 1,33$). Finally, dead embryos during the second incubation and losses in collecting embryo were considered capable processes ($Cpk \geq 1,33$). The results, thus, show a necessity of adjustments, intensification and continuous control of the currently used processes.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGP	Precipitação em Agar gel
Bio-Manguinhos	Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos
CEP	Controle estatístico de processo
Cp	Índice de capacidade potencial do processo
Cpk	Índice de capacidade real do processo
DTP	Difteria, Tétano e Pertuce
EIA	Ensaio Imuno Enzimático
EUA	Estados Unidos da América
FACTA	Fundação Apinco de ciência e tecnologia avícolas
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
HI	Inibição de Hemaglutinação
Hib	<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b
IA	Isolamento do agente
LAFAM	Laboratório de Produção de Vacinas contra Febre Amarela
LC	Linha central
LIC	Limite inferior de controle
LIE	Limite inferior de especificação
LSC	Limite superior de controle
LSE	Limite superior de especificação
MEC	Membrana externa da casca
MIC	Membrana interna da casca
MS	Ministério da saúde
OC	Observação clínica
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
PFU	Unidade formadora de placa, do inglês "plaque forming unit"
R	Amplitude amostral
SAP	Soroaglutinação em placa
SAT	Soroaglutinação em tubo
SN	Soroneutralização
SPF	Livres de agentes infecciosos específicos, do inglês "Specific Pathogen Free"

UNICEF

Fundo das Nações Unidas para a Infância

X

Valor individual de uma medida em uma carta de controle

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1:	Áreas de risco de febre amarela silvestre redefinidas.....	7
Figura 2.2:	Esquema do ovo embrionado de galinha.....	17
Figura 2.3:	Mapa da localização dos países que adquiriram a vacina contra febre amarela, fabricada em Bio-Manguinhos em 2004.....	21
Figura 2.4:	Gráfico de controle mostrando as zonas de controle.....	28
Figura 3.1:	Castelo Mourisco.....	32
Figura 3.2:	Pavilhão Henrique Aragão (LAFAM).....	33
Figura 3.3:	Vista interna da Incubadora.....	34
Figura 3.4:	Realização da ovoscopia.....	34
Figura 3.5:	Processo de carbonização da casca dos ovos.....	35
Figura 3.6:	Perfuração da casca dos ovos.....	35
Figura 3.7:	Inoculação do ovo.....	36
Figura 3.8:	Vedação do orifício de inoculação.....	36
Figura 3.9:	Colocação da bandeja de ovos inoculados no carrinho da incubadora.....	36
Figura 3.10:	Anel de carbonização produzido com a chama de um maçarico.....	37
Figura 3.11:	Rebatimento da calota realizado com auxílio de espátula.....	37
Figura 3.12:	Remoção do embrião do ovo.....	37
Figura 3.13:	Adição de diluente à câmara de trituração.....	37
Figura 3.14:	Trituração dos embriões em banho de gelo.....	38
Figura 3.15:	Transferência do conteúdo de duas câmaras trituradoras para frasco de centrifugação.....	38
Figura 3.16:	Material centrifugado.....	38
Figura 3.17:	Aspiração do sobrenadante.....	39
Figura 3.18:	Retirada das amostras.....	39
Figura 3.19:	Congelamento da suspensão viral.....	40
Figura 3.20:	Estocagem dos frascos.....	40
Figura 3.21:	Placas de lise do vírus vacinal de febre amarela em células Vero.....	41
Figura 3.22:	Fluxograma do processo de produção da suspensão viral, identificando os pontos de coleta de informações para o CEP (Fluxograma I).....	43
Figura 3.23:	Fluxograma do processo de produção da suspensão viral, identificando os pontos de coleta de informações para o CEP (Fluxograma II).....	44
Figura 4.1:	Perdas no transporte: gráfico de controle para amplitude móvel.....	48
Figura 4.2:	Perdas no transporte: gráfico de controle para observações individuais.....	48

Figura 4.3:	Perdas no transporte: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção de novas medidas.....	49
Figura 4.4:	Perdas no transporte: gráfico de controle para observações individuais, com inserção de novas medidas.....	49
Figura 4.5:	Perdas no transporte: gráfico de controle para amplitude móvel , causa especial removida.....	50
Figura 4.6:	Perdas no transporte: gráfico de controle para observações individuais, causas especiais removidas.....	50
Figura 4.7:	Perdas no transporte: gráfico de controle para amplitude móvel, processo sob controle estatístico.....	51
Figura 4.8:	Perdas no transporte: gráfico de controle para observações individuais, processo sob controle estatístico.....	51
Figura 4.9:	Perdas no transporte: Histograma de Capacidade.....	52
Figura 4.10:	Ovos não embrionados: gráfico de controle para amplitude móvel	52
Figura 4.11:	Ovos não embrionados: gráfico de controle para observações individuais.	53
Figura 4.12:	Ovos não embrionados: gráfico de controle para amplitude móvel, causa especial referente a informação da remessa 25 removida.....	53
Figura 4.13:	Ovos não embrionados: gráfico de controle para observações individuais, causa especial referente a informação da remessa 25 removida.....	54
Figura 4.14:	Ovos não embrionados: gráfico de controle para amplitude móvel, causas especiais referentes as informações das remessas 9 e 10 removidas.....	54
Figura 4.15:	Ovos não embrionados: gráfico de controle para observações individuais, causas especiais referentes as informações das remessas 9 e 10 removidas.....	55
Figura 4.16:	Ovos não embrionados: gráfico de controle para amplitude móvel, processo sob controle estatístico.....	55
Figura 4.17:	Ovos não embrionados: gráfico de controle para observações individuais, processo sob controle estatístico.....	56
Figura 4.18:	Ovos não embrionados: Histograma de Capacidade.....	56
Figura 4.19:	Embriões mortos na primeira incubação: gráfico de controle para amplitude móvel.....	57
Figura 4.20:	Embriões mortos na primeira incubação: gráfico de controle para observações individuais.....	57
Figura 4.21:	Embriões mortos na primeira incubação: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção das informações das remessas 27 a 37.....	58

Figura 4.22: Embriões mortos na primeira incubação: gráfico de controle para observações individuais, com inserção das informações das remessas 27 a 37.....	59
Figura 4.23: Embriões mortos na primeira incubação: Histograma de Capacidade.....	59
Figura 4.24: Inoculação: gráfico de controle para amplitude móvel.....	60
Figura 4.25: Inoculação: gráfico de controle para observações individuais	60
Figura 4.26: Inoculação: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção das informações referentes às remessas 27 a 37.....	61
Figura 4.27: Inoculação: gráfico de controle para observações individuais, com inserção das informações referentes às remessas 27 a 37.....	62
Figura 4.28: Perda na inoculação: Histograma de Capacidade.....	62
Figura 4.29: Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para amplitude móvel.....	63
Figura 4.30: Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para observações individuais.....	63
Figura 4.31: Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para amplitude móvel, causas especiais relativas as remessas 1 a 8 e 11, removidas, e inserção das informações relativas às remessas 27 a 29.....	64
Figura 4.32: Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para observações individuais, causas especiais relativas as remessas 1 a 8 e 11, removidas, e inserção das informações relativas às remessas 27 a 29.....	64
Figura 4.33: Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para amplitude móvel , com informações referentes às remessas 30 a 37.....	65
Figura 4.34: Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para observações individuais, com informações referentes às remessas 30 a 37	65
Figura 4.35: Embriões mortos na segunda incubação: processo sob controle estatístico.....	66
Figura 4.36: Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para observações individuais, : processo sob controle estatístico.....	67
Figura 4.37: Embriões mortos na segunda incubação: Histograma de Capacidade.....	67
Figura 4.38: Coleta de embriões: gráfico de controle para amplitude móvel.....	68
Figura 4.39: Coleta de embriões: gráfico de controle para observações individuais.....	68
Figura 4.40: Coleta de embriões: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção das informações das remessas 27 a 37.....	69

Figura 4.41: Coleta de embriões: gráfico de controle para observações individuais, com inserção das informações referentes às remessas 27 a 37.....	69
Figura 4.42: Coleta de embriões: Histograma de Capacidade.....	70
Figura 4.43: Rendimento na coleta de embriões: gráfico de controle para amplitude móvel	71
Figura 4.44: Rendimento no processo de coleta de embriões: gráfico de controle para observações individuais	71
Figura 4.45: Rendimento no processo de coleta de embriões: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção das informações referentes às remessas 27 a 37.....	72
Figura 4.46: Rendimento no processo de coleta de embriões: gráfico de controle para observações individuais, com inserção das informações referentes às remessas 27 a 37.....	73
Figura A.1: Gráfico de Probabilidade Normal no Transporte.....	76
Figura A.2: Gráfico de Probabilidade Normal para ovos Não Embrionados.....	76
Figura A.3: Gráfico de Probabilidade Normal Embriões Mortos 1ª Incubação.....	76
Figura A.4: Gráfico de Probabilidade Normal Inoculação de ovos Embrionados.....	76
Figura A.5: Gráfico de Probabilidade Normal Embriões Mortos 2ª Incubação.....	76
Figura A.6: Gráfico de Probabilidade Normal Coleta de Embriões.....	76
Figura A.7: Gráfico de Probabilidade Normal Rendimento na Coleta de Embriões....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1:	Resumo dos Componentes do Ovo.....	12
Tabela 2.2:	Características Físicas Gerais do Ovo.....	12
Tabela 2.3:	Pesos Relativos.....	13
Tabela 2.4:	Percentual de Elementos na Casca, Albúmen e Gema.....	13
Tabela 2.5:	Teste de Qualidade dos Ovos SPF.....	19
Tabela 2.6:	Classificação da Capacidade de Processos Cpk.....	30
Tabela 3.1:	Perdas no Processo de Produção da Suspensão Viral.....	45
Tabela 3.2:	Dados Relativos ao Processamento das Remessas 1 a 37 do ano 2004	46
Tabela 4.1:	Limites de Controle para Perdas no Transporte de Ovos.....	50
Tabela 4.2:	Limites de Controle para Ovos Não Embrionados.....	55
Tabela 4.3:	Limites de Controle para Embriões Mortos na Primeira Incubação.....	58
Tabela 4.4:	Limites de Controle para Perdas no Processo de Inoculação.....	61
Tabela 4.5:	Limites de Controle Embriões Mortos na Segunda Incubação.....	65
Tabela 4.6:	Limites de Controle para Perdas no Processo de Coleta.....	69
Tabela 4.7:	Limites de Controle para Rendimento do Processo.....	72
Tabela 4.8:	Resultados dos Estudos da Capacidade dos Processos.....	73
Tabela AII:	Dados referentes a origem dos ovos SPF.....	78

1. INTRODUÇÃO

1.1 - Considerações iniciais

O Laboratório de Produção de Vacina contra Febre Amarela (LAFAM) de Bio-Manguinhos/FIOCRUZ é uma Unidade reconhecida internacionalmente como fabricante da vacina antiamarílica. Outros laboratórios qualificados pela OMS, como produtores desse tipo de vacina, estão localizados na França, Reino Unido e Senegal (WHO, 2005).

No LAFAM, as preparações vacinais são obtidas a partir de embriões de galinha infectados com vírus da cepa 17D ou seus derivados e constituem o produto mais indicado para prevenir casos de febre amarela silvestre ou estabelecer, rapidamente, o estado imune numa população urbana, em situação de risco epidêmico.

Os processos de fabricação realizados pelos diferentes laboratórios geram resultados que, naturalmente, apresentam variações. Essas variações são atribuídas, principalmente, ao tipo de equipamento utilizado, às metodologias adotadas nas diversas etapas da produção e aos técnicos que as executam.

Para melhor compreender os efeitos dessas variações no produto vacinal elaborado no LAFAM desenvolvemos este trabalho de tese de mestrado, fazendo uso de um instrumento de análise chamado "Controle Estatístico de Processo (CEP)", que permite avaliar, detalhadamente, a execução de cada etapa do processo de produção que adotamos.

O CEP é uma estratégia da qualidade e uma clássica e importante ferramenta de análise de resultados, comprovada de modo prático. Quando o CEP é aplicado e analisado pela gerência de qualquer tipo de organização, sempre resulta em melhorias dos níveis de qualidade da produção.

Desde que foi desenvolvido em 1920, por Shewhart, como uma carta de controle para a empresa Bell Telephone Laboratories, o CEP tem sido aplicado nos mais diferentes tipos de processos ou situações, em várias partes do mundo e, por isso, é considerado o alicerce da moderna tecnologia de controle de qualidade (Werkema, 1995).

A implementação do CEP é realizada numa seqüência cíclica de etapas. A primeira etapa do ciclo é a coleta de dados de cada fase importante. Na segunda etapa é verificado se o processo está sob controle estatístico (monitoramento), e os resultados podem ser representados sob a forma de gráficos. A análise dos gráficos possibilita a identificação de interferências ("causas especiais"). A etapa seguinte consiste em eliminar os obstáculos identificados, até estabelecer a nova dinâmica do processo, agora sob controle. Finalmente,

realizam-se as análises de capacidade dos processos controlados e propõem-se novas melhorias. Esse estado de evolução permanente é a meta que busca a Qualidade Total.

1.2 - Justificativa da pesquisa

Desde 1937, a Fundação Oswaldo Cruz, através de seus laboratórios, produz a vacina contra febre amarela.

Em 1996 foram dados os primeiros passos em busca do controle das variáveis nos processos de produção dessa vacina. O trabalho coordenado por um estatístico, Professor Manoel Antônio da Fonseca Costa Filho, foi de grande significado para a conscientização dos técnicos de Bio-Manguinhos, pois instaurou os primeiros embasamentos teóricos de âmbito estatístico.

Atualmente, com o aumento da produção, destinada à exportação, e com a ampliação das estratégias de Controles de Qualidade, grande parte das atenções está direcionada ao controle dos processos da produção.

A utilização dos recursos da informática é uma tendência que está sendo ampliada. Os investimentos realizados na aquisição de computadores e aplicativos possibilitaram ao LAFAM utilizar as técnicas do CEP. Na primeira fase foi melhorado o gerenciamento completo do processo. Na segunda fase foi possível compartilhar, com os técnicos operadores, a responsabilidade das atividades de controle da qualidade e de ajuste do processo.

O CEP viabiliza o monitoramento das variáveis características do processo de produção, sinalizando o momento de adotar ações corretivas que proporcionam o pronto redirecionamento das operações para dentro dos limites preestabelecidos. Reduzindo a variabilidade dos processos, contribui para a melhoria da produtividade, aumento da confiabilidade e redução dos custos de produção.

O principal objetivo do CEP é propiciar o controle efetivo, realizado pós-implantação, pelos próprios técnicos-operadores, envolvendo assim o comprometimento de todos com a qualidade do produto fabricado.

Não há na literatura disponível para pesquisa, qualquer trabalho relacionado especificamente à aplicação do CEP nas áreas de produção de vacinas. Uma exceção é um pioneiro trabalho do próprio grupo de pesquisa ao qual este trabalho está vinculado. Trata-se do trabalho de Alonso (2005), a qual aplicou o CEP à produção de vacina contra *Haemophilus Influenza tipo B-Hib*, dessa forma não foi possível estabelecer comparações quanto a metodologia desenvolvida neste trabalho.

1.3 - Objetivos do trabalho

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver e avaliar o controle estatístico de processo (CEP) das fases da produção da suspensão viral.

Os objetivos específicos constaram de:

1. Elaborar Fluxograma de todo o processo;
2. Definir as fases da produção a serem estudadas;
3. Definir o sistema para coleta de dados;
4. Elaborar os gráficos de controle para cada etapa do processo de produção;
5. Avaliar, nos gráficos de controle, os fatores das causas especiais;
6. Avaliar a capacidade, a partir da estabilidade do processo;
7. Sugerir mudanças que possam contribuir para melhorar os pontos negativos do processo de produção.

1.4 - Organização do trabalho

Este trabalho está organizado em tópicos. O primeiro tópico consta da introdução do trabalho, apresentando seus objetivos, organização e sua importância para melhoria da qualidade na produção.

O segundo tópico é uma revisão da literatura e apresenta os conceitos teóricos sobre a febre amarela, descrevendo a implantação e a evolução da produção da vacina no Brasil. Também estão representadas nesse tópico, a importância das características dos ovos para o controle de qualidade da produção da vacina contra febre amarela e os fundamentos e as ferramentas do CEP.

Por sua vez, o terceiro tópico apresenta a metodologia de produção da suspensão viral, assim como os aspectos metodológicos de aplicação do CEP ao processo.

O quarto tópico apresenta os resultados e a discussão de todo o processo de controle estatístico, a avaliação dos gráficos de controle e a determinação dos índices de capacidade.

Finalmente, as conclusões do trabalho e sugestões para melhoria dos processos são apresentadas no quinto tópico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Neste tópico, procedem-se — entre os itens 2.1 a 2.8 — revisões sobre a doença febre amarela e o desenvolvimento da vacina contra a mesma. O processo utilizando embrião de galinha (*egg passage*) é destacado no item 2.9, sendo as características dos ovos revistas no item 2.10. Avanços tecnológicos no processo de produção da vacina são descritos nos itens 2.11 e 2.12. Finalmente, os fundamentos e as ferramentas do controle estatístico de processos (CEP) são apresentados nos itens 2.13 e 2.14, respectivamente.

2.1 - O vírus e a origem da doença

O Vírus da febre amarela pertence ao gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae* (do latim *flavus* = amarelo) (Westaway, 1985). Possuindo apenas um sorotipo reconhecido, seu genoma é constituído de RNA de fita simples, não segmentada. Em análise por microscopia eletrônica, apresentam-se esféricos, com diâmetro médio em torno de 45 a 50 nm, possuindo um envelope lipídico de origem celular (Rice, 1985; Chambers, 1990).

Não existem relatos de doença semelhante à febre amarela ocorrida na Europa, antes da descoberta das Américas, embora de origem indefinida, a doença foi reconhecida pela primeira vez, por volta de 1647 a 1649, quando das epidemias de Barbados, Cuba, Guadalupe e México (Brès, 1986).

Em 1750, no livro "Natural History of Barbados", escrito por Griffin Hughes, ocorreu a primeira menção literária do termo febre amarela (Warren, 1951).

Dentre muitas hipóteses existentes, acreditava-se que a transmissão da febre amarela se fazia através de miasmas ou do desenvolvimento espontâneo da doença nos navios negreiros. Alguns médicos sugeriam que o mosquito era o agente causador da doença; dentre esses, destacavam-se Louis Daniel Beaupérthuy em 1854 e o médico cubano Carlos Finlay em 1881. Em 1900, Walter Reed comprovou a hipótese de transmissão da doença homem a homem pelo *Aedes aegypti*. Em 1901, Reed e Carrol descobriram que o agente etiológico era um vírus filtrável (Kruif, 1956).

Baseado nos trabalhos de Reed e colaboradores, William C. Gorgas organizou um bem sucedido trabalho de eliminação do vetor da doença em Cuba e Panamá, conseqüentemente, eliminando-a (Kruif, 1956).

Em 1903, Oswaldo Cruz utilizou as mesmas estratégias empregadas por Gorgas em Cuba, organizando as brigadas sanitárias — conhecidas como brigadas "mata mosquitos" — que fumegavam com vapores de enxofre as residências ou qualquer local onde poderia haver a presença do vetor, além de quebrarem os recipientes com água contendo as larvas. A campanha de Oswaldo Cruz conseguiu assim erradicar, em 1908, o mosquito *Aedes aegypti* no Rio de Janeiro e, dessa forma, eliminar a febre amarela urbana na cidade pelos vinte anos seguintes (Homma, 2002).

O *Aedes aegypti* foi considerado erradicado no Brasil em 1955 e 1973, porém foi reintroduzido em 1967 e 1976 (FUNASA, 1999).

2.2 - Período de transmissão e imunidade

O período de transmissão é restrito ao pico da viremia, iniciada um dia antes dos primeiros sintomas, persistindo até o terceiro ou quarto dia de doença. Nessa fase, os vírus podem ser detectados no sangue do doente. A doença não é transmitida por contato direto e confere imunidade ativa natural e permanente, não se conhecendo recidivas.

A vacina confere imunidade ativa artificial por período mínimo de dez anos. Lactentes filhos de mães imunes podem apresentar imunidade passiva até o sexto mês de vida (FUNASA, 1999).

2.3 – Epidemiologia

Epidemiologicamente, a febre amarela apresenta-se em dois ambientes: a forma silvestre e a urbana. Não existem diferenças sob o ponto de vista etiológico, fisiopatológico, imunológico e clínico entre as formas de transmissão. As diferenças estão definidas pela localização geográfica da ocorrência, pelo vetor responsável pela transmissão e pelo hospedeiro.

No ciclo de transmissão silvestre, a virose acomete os macacos que, no período de viremia, ao serem picados pelos mosquitos silvestres lhes repassam novos vírus. O homem susceptível infecta-se ao penetrar na mata e ser picado por mosquitos infectados; completa-se então o ciclo de transmissão: macaco, mosquito silvestre e homem (FUNASA, 1999).

Em relação aos mosquitos vetores, os do gênero *Haemagogus* (*H. albomaculatus* e *H. janthinomys*) e os do gênero *Sabethes* são os mais importantes na América Latina e os dos gêneros *Aedes*, particularmente o *Aedes africanus* e o *Aedes simpsoni*, são os mais importantes para o continente africano.

O ciclo silvestre é em potencial mais perigoso para as populações rurais e é um risco para os centros urbanos próximos.

É observado que, em intervalos periódicos (entre cinco a sete anos), o ciclo silvestre pode reaparecer em surtos em macacos, os quais são os principais hospedeiros do vírus, especialmente os macacos do gênero *Cebus* (macaco prego), *Alouatta* (guariba), *Ateles* (macaco aranha) e *Callithrix* (sagüi) (FUNASA, 1999). Nestes animais, a virose manifesta-se em um intervalo suficiente para o surgimento de novas populações suscetíveis, após cada epizootia (Amaral e Tauil, 1983).

Quando não há disponibilidade de hospedeiros primatas, a virose acontece em outras espécies, podendo ser destacados os marsupiais e alguns roedores que funcionam como mantenedores temporários da virose na natureza. Estudos sorológicos em áreas endêmicas têm mostrado a participação do gambá, porco espinho e do morcego no ciclo silvestre da doença, porém a importância epidêmica desses animais na manutenção da doença ainda não é bem conhecida (FUNASA, 1999).

Na população humana, as epidemias não são registradas regularmente devido a fatores que interferem na susceptibilidade dos vetores silvestres infectados e também ao bom nível de cobertura vacinal da população exposta (Amaral e Tauil, 1983).

Em relação ao ciclo urbano, a virose é introduzida nas cidades pelo homem em período de viremia. Este ao ser picado pelo *Aedes aegypti*, transmite a infecção para o artrópode, que, após um período de incubação (PI), chamado de PI extrínseca, irá transmitir o vírus a outras pessoas suscetíveis, iniciando o ciclo de transmissão: homem, mosquito e homem (FUNASA, 1999).

Em qualquer dos continentes, os elementos envolvidos são os mesmos: vírus, *A. aegypti*, e o homem. Os animais domésticos não parecem ser suscetíveis a infecção amarílica. Experimentos realizados com cães mostraram baixo nível de susceptibilidade, embora desenvolvessem resposta febril após inoculação periférica.

2.3.1 - Febre amarela na África e nas Américas

A situação do controle da febre amarela no continente africano e sul-americano é delicada. Nas últimas décadas ocorreu um aumento significativo do número de casos e de epidemias.

Segundo a Organização Mundial de Saúde, 90% dos casos ocorrem no continente africano, atingindo diretamente 33 países. Na América do Sul e Caribe, dez países estão na zona endêmica (WER, 2003).

2.3.2 - Febre amarela no Brasil

O Brasil possui a maior área enzoótica de febre amarela do mundo, aproximadamente cinco milhões de quilômetros quadrados, correspondentes às regiões Norte, Centro-Oeste e a área amazônica do Maranhão. Registram-se casos esporádicos também na região Sudeste, em algumas áreas do estado de Minas Gerais, porém é na região Norte que ocorrem com mais frequência (FUNASA, 1999).

O registro da primeira epidemia de febre amarela urbana no Brasil foi em 1685 e ocorreu na cidade do Recife, capital do estado de Pernambuco. Durante o início do século XX, a doença era endêmica em centros urbanos; no Rio de Janeiro, registrou-se uma grande epidemia entre os anos de 1929 e 1930, ocasionando centenas de mortes.

Os últimos registros de casos de febre amarela urbana ocorreram em 1942, no município de Sena Madureira, estado do Acre (Franco, 1969).

O ciclo urbano está sob controle, graças ao incremento do combate ao vetor urbano e ao uso sistemático da vacina produzida em Bio-Manguinhos.

2.3.3 - Áreas epidemiológicas de febre amarela no Brasil

Estudos tornaram possível a delimitação de quatro áreas epidemiológicas distintas no país, conforme ilustra a Figura 2.1.



Figura 2.1 – Áreas de risco de febre amarela silvestre redefinidas.

Fonte: Secretaria de Vigilância em Saúde/MS.

- Área enzoótica ou endêmica: É limitada pela área onde a virose ocorre entre os vertebrados naturais (macacos, marsupiais e outros). o homem é infectado de forma acidental pela presença de vetores silvestres;
- Área epizootica ou de transição: Corresponde à área onde no início do século havia intensa ocorrência da virose entre os animais silvestres. Devido a grandes alterações ecológicas, principalmente desmatamentos, estão sendo realizados estudos para melhor definição desta área;
- Área indene: Corresponde à área onde não há descrição de casos de febre amarela.

2.4- Modelo animal

Em 1927, na África, Mahaffy e Bauer, pesquisadores da Fundação Rockefeller, conseguiram estabelecer, a partir do sangue de um doente de 28 anos chamado Asibi, pela primeira vez, a propagação experimental dos vírus da febre amarela.

O macaco inoculado com esse sangue morreu após quatro dias, apresentando sintomas característicos de febre amarela. O sangue desse macaco foi inoculado em outro macaco Rhesus, que também desenvolveu a doença. Observou-se que a transmissão da doença entre macacos também podia ocorrer pela picada do mosquito *A. aegypti*. Estes, uma vez infectados, permaneciam assim por toda a vida (Stokes *et al.*, 1928 a, b).

Theiler fez outra importante descoberta: encontrou um novo modelo, que utilizava animais mais baratos do que os macacos Rhesus, o camundongo branco, que se mostrou susceptível à infecção pelos vírus da febre amarela, quando inoculados por via intracerebral (Theiler, 1928).

2.5 - A pesquisa de uma vacina no Brasil

No Brasil, por volta de 1928, destacavam-se trabalhos no Instituto Oswaldo Cruz e no Instituto Butantã realizados respectivamente, por Henrique Aragão e Lemos Monteiro. A vacina idealizada por estes pesquisadores era feita a partir de tecidos do fígado e baço de macacos, contendo vírus da febre amarela. Na preparação, os tecidos eram macerados, filtrados e inativados com formaldeído/fenol. Em 1929 mais de 25.000 pessoas receberam este tipo de vacina, mas os resultados não foram satisfatórios, uma vez que 25 indivíduos vacinados contraíram a doença (Aragão, 1928).

2.6 - A vacina

Após o estabelecimento da cepa Asibi por Stokes, Bauer e Hudson (53 passagens do vírus Asibi), importantes pesquisas foram iniciadas (Stokes *et al.*, 1928 b).

Utilizando-se da técnica de passagens sucessivas pela via intracerebral de camundongos, de uma amostra de vírus isolado por pesquisadores do Instituto Pasteur de Dakar, Theiler conseguiu obter uma preparação viral, cuja infecção em macacos Rhesus se dava de forma atenuada, sem lesões viscerais, porém comprometia com maior facilidade, o sistema nervoso central. Esta cepa dita atenuada, foi então denominada “cepa neurotrópica francesa” (Homma, 2002).

A mistura desse tipo de vírus com soro de animal imune foi utilizada pela primeira vez em 1931 – por Sawyer, Kitchen e Loyde – para o preparo de imunizante contra a febre amarela, em pesquisadores da Fundação Rockefeller sediados no Brasil, Colômbia e Argentina. Esta foi considerada a primeira descrição de uma vacina contra a febre amarela constituída por preparação infecciosa de vírus (Sawyer *et al.*, 1932).

Ainda na década de 1930, outra evolução que colaborou no estabelecimento de uma vacina foi o desenvolvimento de técnicas de cultura de tecidos de animais em sistema "in vitro".

Em 1934, Loyd, Theiler e Ricci, utilizando culturas de células de embrião de camundongos, conseguiram selecionar a cepa Asibi que representava a 17^a série de propagação nas culturas de células de embrião de camundongos (Loyd *et al.*, 1936). Pelo seu baixo vicerotropismo e neurotropismo da infecção em macacos, as amostras virais da série 17E foram escolhidas para serem utilizadas como vacina em humanos, desde que fossem aplicadas, simultaneamente, com soro de animal imune.

Estabelecida a cepa 17E, Loyd e colaboradores substituíram a cultura de tecido embrionário de camundongo pela de embrião de galinha. Após várias passagens nesse sistema, a propagação viral passou a ser feita em culturas preparadas com parte muscular dos embriões de galinha, ou seja, sem o tecido do sistema nervoso central. As preparações obtidas destas propagações foram denominadas 17D.

Em 1936, Theiler e Smith detectaram que a infecção em macacos com essa amostra viral, não evoluía com lesões neurotrópicas ou vicerotrópicas, os animais se recuperavam apresentando níveis detectáveis de anticorpos reativos com os vírus da febre amarela (Theiler e Smith, 1937).

Em novembro de 1936, na 227^a passagem, foram vacinados funcionários da Fundação Rockefeller. Os resultados foram animadores, sobretudo pela não utilização do soro imune, obtendo-se baixa reatogenicidade e alta imunogenicidade (Theiler e Smith, 1937).

Duas subcepas de 17D foram obtidas de forma independente: uma, da passagem 195, passou a ser denominada 17DD; a outra, ao nível da 204^a passagem, recebeu a denominação de 17D-204.

Theiller e Smith são considerados os desenvolvedores da cepa 17D utilizada na vacina contra a febre amarela.

2.7 - Desenvolvimento da vacina: cepas 17D e 17DD no Brasil

Em 1937, com a chegada ao Brasil das cepas 17D e 17DD, trazidas pelo Dr. H. Smith (Bica, 1988), teve início o processo de aperfeiçoamento dos procedimentos de produção. Os amplos estudos no campo contribuíram significativamente para o conhecimento da vacina e das técnicas empregadas na vacinação em grande escala.

A cepa 17D foi a primeira a ser utilizada, aos níveis das passagens 150^a até a 243^a, contudo foi descrito que – embora os resultados fossem favoráveis em relação à proteção oferecida e à pouca reatogenicidade – era muito difícil manter-se a consistência na produção.

A cultura de tecidos de embrião de galinha "in vitro" era de difícil operação; além de lenta, a produção era de baixo rendimento. H. Penna modificou essa etapa do processo, estabelecendo que a última passagem do vírus ocorresse diretamente em ovos embrionados de galinha com seis dias de incubação; esses ovos após inoculação eram novamente incubados por mais dois dias. Depois desse período, os embriões eram coletados, macerados e homogeneizados, obtendo-se a suspensão do vírus, que era filtrada e formulada com a adição de soro humano normal. O envasamento era realizado em ampolas, que depois de congeladas e dessecadas em vácuo eram fechadas com maçarico e, por fim, armazenadas entre 2°C a 4°C.

Uma parcela de cada lote produzido era reservada para ser utilizada como semente do próximo lote. As primeiras vacinações ocorreram no Rio de Janeiro, onde 200 pessoas foram vacinadas. Estudos realizados com parte desse grupo, de 45 pessoas vacinadas, confirmaram, pelo teste de soro neutralização, que 95% delas havia convertido sorologicamente, logo consideradas efetivamente protegidos. A seguir, em junho de 1937, teve início a vacinação em grande escala, começando pela cidade de Varginha, Minas Gerais, e se estendendo por outras áreas do país, contabilizando cerca de 38.000 pessoas vacinadas, com reações adversas benignas.

Com os resultados alcançados, após 60.000 doses aplicadas, Smith, Penna e Paoliello concluíram que a vacina era segura, eficiente e que poderia ser utilizada em larga escala (Smith *et al.*, 1938).

A adição do soro humano na vacina continuou até 1940, quando foi suprimido, devido à apresentação de vários casos de hepatite pós-vacinal.

2.8 - Sistema Lote-Semente

Na produção da vacina foram estabelecidas as passagens sucessivas da cepa vacinal, isto é, para cada lote produzido, uma parte era reservada para a produção do próximo lote. Nesse contexto foram feitas vacinas até a 519^a passagem. Não havia evidências que inúmeras passagens pudessem selecionar vírus mutantes e conseqüentemente ocorrer perda da imunogenicidade. Entretanto, esse fato foi evidenciado ao se preparar um lote com a amostra da 386^a passagem. Foi conseguido apenas 20% de soroconversão, o que determinou a revisão dos procedimentos de produção com o estabelecimento do sistema de lote-semente que limita o número de passagens em todos os lotes de vacina produzidos, tornando-os mais uniformes e, por conseguinte, diminuindo o risco de mutações genéticas nos vírus.

O sistema de lote-semente foi, portanto, estabelecido em 1942 por Fox, Kossobudzki e Fonseca da Cunha. Este sistema - que serve de fonte para a produção das vacinas - é preparado a partir da propagação de um lote fonte, que da origem ao lote primário e este com outra passagem ao lote secundário (Fox *et al.*, 1943). Esse sistema passou a ser adotado na produção da vacina contra a febre amarela produzida em Bio-Manguinhos desde 1944 (Nicolau, 1988).

2.9 - Produção da vacina utilizando embrião de galinha (*egg passage*)

Em 1943, o processo foi modificado, procedendo-se à inoculação diretamente na cavidade amniótica do embrião de galinha com seis dias de incubação, em vez do uso da polpa de embrião de galinha. O embrião infectado, depois de três dias de incubação, é coletado e macerado, sem a cabeça e membros. O suco embrionário, que é obtido após o processo de maceração, é filtrado e centrifugado, e passa a ser matéria-prima para a vacina. Este procedimento aumentou o rendimento da produção, permitindo o aumento da escala de produção da vacina. Esta metodologia, conhecida como *egg passage* passou a ser adotada (Homma, 2002).

2.10 - Ovos para a produção

Os ovos fertilizados adquiridos para a produção da vacina contra a febre amarela são oriundos de planteis de galinhas SPF (*Specific Pathogen Free*). Os ovos contêm o embrião em fase inicial de desenvolvimento, por isso, a partir da postura, somente poderão receber influências favoráveis ao crescimento, depois de incubados, quando tem início o desenvolvimento do embrião.

Devido à influência dos ovos embrionados de galinha para o controle de qualidade do processo de produção da vacina contra febre amarela, é pertinente apresentar algumas das características desses ovos, baseado em: Nascimento & Salle, 2003 e Gonzales & Cesário, 2003.

2.10.1 - Estrutura e composição do ovo

É constituído essencialmente de uma grande célula reprodutiva individual que está circundada por uma quantidade significativa de material nutricional, a gema e o albúmen. A Tabela 2.1 apresenta os componentes do ovo; a Tabela 2.2 dá as suas características físicas gerais; a Tabela 2.3, os pesos relativos e a Tabela 2.4 a constituição dos componentes.

Tabela 2.1 - Resumo dos Componentes do Ovo

Nome	Nome específico
Casca	Membrana da casca
	Casca
	Cutícula
Clara	Albúmen
Gema	Ovo (Fértil)
	Óvulo (Infértil)

Tabela 2.2 - Características Físicas Gerais do Ovo

Peso Médio	58g
Eixo vertical (Central)	5,7 cm
Circunferência (Equador)	15,7 cm
Gravidade específica	1,095
Volume	53 cm ³

Tabela 2.3 - Pesos Relativos

Componente	Sólidos(g)	Água (g)	Total (g)
Albúmen	3,8	29,4	33,2
Gema	9,9	9,1	19,0
Casca	5,7	0,1	5,8
Ovo Total	19,4	38,6	58,0

Tabela 2.4 - Percentual de Elementos na Casca, Albúmen e Gema

Elementos (%)	Casca	Albúmen	Gema
Água	1	88,5	47,5
Proteínas	4	10,5	17,4
Lipídeos	-	-	33,0
Carboidratos	-	0,5	0,2
Íons inorgânicos	95	0,5	1,1
Outros	-	-	0,8

2.10.2 - A casca do ovo

O ovo possui uma estrutura externa rígida e lisa, constituída basicamente por carbonato de cálcio (CaCO_3), sua principal função é a proteção do embrião. Está conectada a mais externa das duas membranas que a compõe e possui espessura compreendida entre 241 a 371 μm , atua na difusão de gases respiratórios e na conservação de água.

2.10.3 - A cutícula

A cutícula é uma camada protéica, de espessura entre 0,5 a 12,8 μm , que cobre externamente a superfície da casca e os canais dos poros, conferindo-lhes resistência à água. Possui composição química constituída de fósforo, magnésio, cloro, potássio, sódio e enxofre.

A temperatura inadequada de armazenamento dos ovos e a utilização de abrasivos e substâncias químicas, provocam a diminuição da espessura cuticular, aumentando o número de rachaduras e diminuindo a resistência dessa camada, facilitando a penetração de bactérias através da casca.

2.10.4 - Os poros

A casca do ovo possui entre 7.000 e 17.000 perfurações, que são chamadas de poros. A concentração de poros na superfície da casca é maior nas regiões do equador e da câmara de ar. Teoricamente cada poro está parcialmente coberto pelo tampão cuticular, que serve para bloquear a entrada de água. A falta desse tampão propicia o contato direto do conteúdo do ovo com o meio externo, possibilitando o ingresso de bactérias no ovo.

Não existe uma correlação comprovada entre a porosidade da casca e a penetração bacteriana, muitos pesquisadores têm tentado estabelecer essa correlação, porém os resultados são variados e inconclusivos.

2.10.5 - As membranas da casca

As membranas são constituídas de um duplo envelope fibroso que realiza a contenção do albúmen. Possuem em conjunto uma espessura de 70 µm, são fortemente aderidas exceto na região da câmara de ar, onde se separam para formar essa estrutura.

A membrana interna da casca (MIC) possui duas camadas de fibras e encontra-se imediatamente acima do albúmen, enquanto que a membrana externa da casca (MEC) possui três camadas de fibras e está conectada diretamente à casca verdadeira. Em relação à penetração bacteriana, as membranas agem como um filtro, sendo a MIC mais impermeável do que a própria casca. A resistência das membranas pode ser vencida especialmente quando os ovos são mantidos a 37°C.

2.10.6 - O albúmen

O albúmen pesa aproximadamente 32,2 g. Seu pH pode variar entre 7,6 a 8,5 em um ovo recém posto; possui a consistência viscosa, e da fração sólida (11%) de que é constituído, a proteína corresponde a 92% (ovoalbumina, ovotransferrina, ovomucoide, ovomucina, dentre outros), alguns desses componentes possuem função antimicrobiana.

Em relação aos principais elementos químicos presentes no albúmen, pode-se destacar: sódio (48,8 mg), potássio (46,5 mg), enxofre (65,0 mg), cloro (42,2 mg) além do cálcio, magnésio, ferro, e fósforo em concentrações mais baixas.

2.10.7 - A gema

A gema é uma esfera suavemente alongada, circundada pela membrana vitelínica. A gema pode ser dividida em duas partes bem diferenciadas:

— Gema branca - corresponde até 2% da massa total da gema. No seu conteúdo encontram-se o disco geminal, o núcleo de Panter e a látebra;

— Gema amarela - é uma emulsão óleo-água com pouco mais de 50 % de seus componentes sólidos, desse total 99,2 % são de proteínas e outros constituintes, como lipídeos, carboidratos, matéria inorgânica, aminoácidos, pigmentos, vitaminas, enzimas dentre outras.

A calaza é a responsável por manter a gema em posição central no ovo, consiste em duas tiras retorcidas de ovomucina (lado oposto à câmara de ar) e uma tira também retorcida ao lado correspondente à câmara de ar.

2.11.8 - Interferências que afetam as funções e a qualidade da casca

Segundo Nascimento & Salle (2003), vários fatores afetam a composição do ovo e a qualidade da casca, como por exemplo, a linhagem e a idade da ave, a posição do ovo na seqüência de postura, as condições ambientais, a estação do ano, a disponibilidade e qualidade do alimento, entre outros.

Cascas mais finas são mais suscetíveis à quebra do que as mais espessas e a correlação entre a espessura da casca e sua quebra é maior do que a correlação entre outras estimativas de resistência e a ocorrência de danos à casca.

Também há indicativos de que a resistência a impactos, a gravidade específica do ovo e a incidência de anormalidades na camada mamilar possuem correlação bem significativa com o índice de ovos quebrados.

Pode-se afirmar com segurança que a qualidade da casca está diretamente relacionada com a idade da ave, inclusive quanto à resistência a quebras, pois as aves mais velhas possuem habilidade decrescente em absorver cálcio.

Durante a armazenagem, os ovos perdem peso por causa da perda de água e dióxido de carbono (CO₂). À medida que isso ocorre, aumenta o espaço da câmara de ar, mudando as propriedades físico-químicas do albúmen, tornando-o mais claro, menos viscoso e de pH mais elevado.

Muitos testes têm sido desenvolvidos para avaliar a qualidade da casca dentre os mais utilizados estão a gravidade específica, deformação não destrutiva, avaliação ultra-estrutural por microscopia eletrônica de varredura e a ovoscopia, que é utilizada pelo LAFAM.

2.10.9 - Intervalo entre a postura e a incubação

O embrião nas primeiras fases de seu desenvolvimento sofre influência considerável do meio ambiente. Após a postura, o ovo, que estava submetido a uma temperatura corporal da ave entre 40 e 41° C, sofre um resfriamento.

Se a temperatura estiver abaixo de 24°C, o desenvolvimento embrionário é bastante reduzido, esta temperatura é denominada zero fisiológico.

O armazenamento de ovos para posterior incubação deve ser realizado em ambientes em que a temperatura seja inferior ao zero fisiológico. Só dessa forma é assegurada a completa paralisação no desenvolvimento embrionário até o momento do início da incubação. É importante também controlar a umidade relativa (70%) e a ventilação.

2.10.10 - Anexos embrionários

O embrião das aves possui quatro diferentes membranas: o saco vitelino, o alantóide, o âmnio e o córion ou serosa, conforme ilustrado na Figura 2.2.

Saco vitelino

O endoderme, combinado com o mesoderme esplâncnico, estende-se periféricamente do embrião para a área extra-embrionária, circundando o material vitelino onde se encontra o blastodisco. Essa estrutura forma o saco vitelino, que contém o vitelo que alimenta o embrião.

O material nutritivo é degradado em substâncias digeridas pelas enzimas presentes no endoderme do saco vitelino, ocorrendo a absorção pelos capilares da área vascular, transportadas pelas veias vitelínicas à veia onfalomesentérica e, depois de passar pelo fígado e coração, são distribuídas para todas as partes do embrião e tecidos extra-embrionários.

Enquanto o embrião cresce, o saco vitelino regride e vai sendo interiorizado na linha do intestino médio do embrião.

Alantóide

O alantóide está presente após 72 horas de incubação e tem a função de estocar as substâncias excretadas durante o desenvolvimento embrionário. A circulação alantóidea também absorve o cálcio da casca que será utilizado na formação do esqueleto do embrião, dessa forma enfraquece a casca.

Âmnio

O âmnio está presente com 33 horas de incubação. É uma bolsa que envolve o embrião e faz a proteção do contato com o meio ambiente. Entre o embrião e o âmnio existe um espaço chamado de cavidade amniótica, que contém um líquido salino chamado líquido amniótico.

Córion

O córion é uma membrana que se desenvolve externamente ao saco vitelino e a alantóide, envolvendo-os completamente ao final da segunda semana. Está ligada ao alantóide, formando, depois de alguns dias de incubação, uma membrana denominada cório-alantóide.

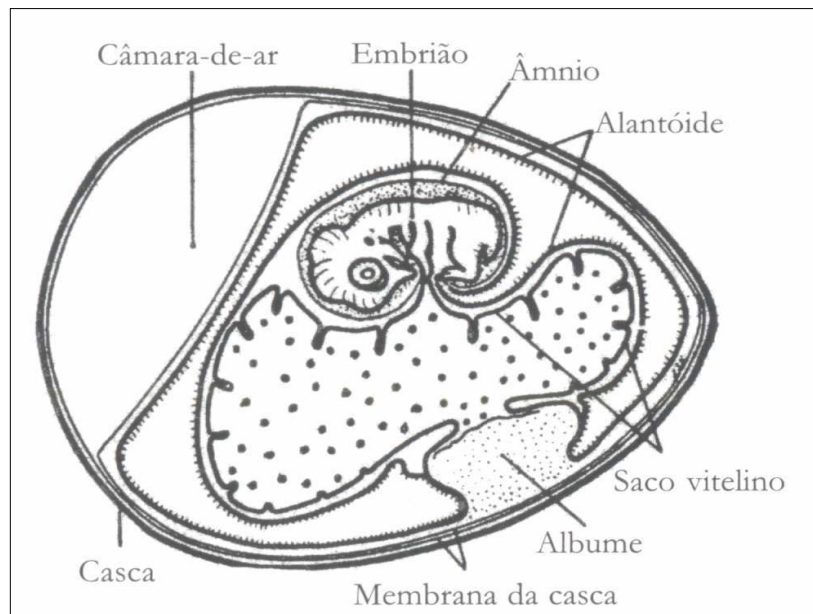


Figura 2.2 - Esquema do ovo embrionado de galinha.

Fonte: Gonzales & Cesario, 2003

O desenvolvimento do embrião no período que se segue às condições favoráveis de incubação é muito rápido, ocorrendo alterações a cada hora. Para a produção da vacina, é de interesse o desenvolvimento embrionário do nono dia (inoculação) e décimo segundo dia (coleta de embriões).

O desenvolvimento nestes dias é tal que aos nove dias o embrião começa a ter aparência própria da espécie, o bico, os apêndices superior e inferior estão bastante diferenciados. Por sua vez, aos doze dias, os dedos estão completamente formados, as unhas dos pés começam a se formar. Completa-se o empenamento e está terminada a utilização do albume.

A temperatura é um dos principais fatores que afetam o desenvolvimento embrionário. A ocorrência de temperaturas baixas provoca o atraso no desenvolvimento e de altas propicia o aumento no desenvolvimento.

Outro fator que merece ser apreciado é a viragem dos ovos. O movimento é importante para o embrião não se aderir à casca, além disso, este movimento, propicia o crescimento adequado das membranas e mantém o equilíbrio dos fluidos embrionários aumentando o intercâmbio de nutrientes do albume para o embrião.

2.11 - Avanços tecnológicos e melhorias na qualidade

Em 1961, experimentos realizados pelo Dr. Alberto Romeu Nicolau, na Fiocruz - Bio-Manguinhos, propiciaram melhoria do processo produtivo. A via de inoculação utilizada no ovo embrionado de galinha era a amniótica, esta via provocava uma perda de aproximadamente 25 %, em razão das lesões ocasionadas no ato de inoculação. A inoculação foi então alterada para a via vitelina, o que resultou em uma redução na mortalidade para 8 %, obtendo-se potência similar (Nicolau, 1988).

No década de 1980, vários acontecimentos impulsionaram o LAFAM, permitindo o aumento e a melhoria da qualidade na produção da vacina contra febre amarela.

Em 1980, foi estabelecido pelo Dr. Oscar Sebastião de Souza Lopez, a padronização do método para determinação da potência da vacina em células Vero. Pela alta sensibilidade e reprodutibilidade de resultados, este método, já utilizado em outros centros de ciência, proporcionou a redução em 1/3 do tempo necessário à obtenção dos resultados das potências das suspensões virais e dos lotes de produto final produzidos.

Em 1982, ocorreu a mudança definitiva na origem dos ovos utilizados na produção. A partir deste ano, todas as remessas de ovos utilizadas na produção passaram a ser oriundas de ovos de galinha de plantel SPF (*Specific Pathogen Free*), garantidos por testes específicos, descritos na Tabela 2.5.

Essa modificação obrigou a unidade a incorporar técnicas para a detecção de contaminantes endógenos nesta matéria prima, além de propiciar a produção de uma vacina livre da leucose aviária.

Tabela 2.5 - Teste de Qualidade dos Ovos SPF

Agentes aviários	Antígenos	Testes
Adenovírus Grupo I	Sorotipos I - XII	AGP/SN
Adenovírus Grupo II (HEV)	Domermuth	AGP
Adenovírus Grupo III (EDS)	CLKK115D	HI
Anemia Infecciosa das Galinhas	---	EIA
Bouba Aviária	Conn	AGP/OC
Bronquite Infecciosa das Galinhas	Ark 99	HI/SN
Bronquite Infecciosa das Galinhas	Conn A5968	HI/SN
Bronquite Infecciosa das Galinhas	JMK	HI/SN
Bronquite Infecciosa das Galinhas	Mass 66579	HI/SN
Doença de Gumboro	M4040 (2512)	AGP/SN
Doença de Marek (Sorotipos 1, 2 e 3)	SB-1	AGP
Doença de Newcastle	LaSota	AGP/HI
Encefalomielite Aviária	Van Roekel	AGP/SN
<i>Haemophilus paragallinarum</i>	---	OC
Influenza Aviária (tipo A)	T/W/66	AGP/HI
Laringotraqueite Infecciosa	Cover	AGP
Grupo Leucose/Sarcoma(Ac)	RSV A e B	EIA
Grupo Leucose/Sarcoma(Ag)	A,B,C,D,E,J	EIA
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	A5969	SAP/HI
<i>Mycoplasma meleagridis</i>	Yamamoto 529	SAP
<i>Mycoplasma synoviae</i>	WVU 1853	SAP/HI
Paramixovírus tipo 2	Yucaipa	HI
Paramixovírus tipo 3	61/PMV/WIS/68	HI
Reovírus	S1113	AGP/SN
Reticuloendoteliose	ATCC 770 (T)	AGP
Rinotraqueíte dos Perus	SG761/88	SN
Rotavírus	Ch-2	AGP
<i>Salmonella pullorum/S. gallinarum</i>	H 95	SAP/SAT/IA
<i>Salmonella sp.</i>	---	IA

Fonte: Sadia S/A, 2005

Em 1983, foram substituídos os liofilizadores de "cacho", que tinham capacidade para aproximadamente 1.000 ampolas e apresentação de 100 e 200 doses, por um sistema de liofilização em frascos que permitiu a produção de lotes com 4.000 frascos, correspondendo a 200.000 doses (apresentação de 50 doses).

Em 1984, baseados nos estudos do Dr. Oscar Sebastião de Souza Lopes, foi incorporado o primeiro termo-estabilizador à vacina, melhorando substancialmente a sua qualidade, fazendo com que a mesma suportasse temperaturas desfavoráveis de conservação (37°C, por duas semanas), mantendo a potência mínima requerida pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Nessa nova condição, as equipes de vacinação no campo, em lugares remotos, sem condições de armazenamento adequados, trabalhavam com maior segurança.

Em 1998, o processo de produção da suspensão viral foi otimizado. A etapa de centrifugação da polpa embrionária, que era realizada no momento da formulação do produto final, foi antecipada, sendo realizada imediatamente após a coleta dos embriões. O sobrenadante (resultado da centrifugação) é recolhido e estabilizado, sendo congelado e armazenado, aguardando os resultados dos controles (esterilidade, micobactéria e potência). Dessa forma o estoque de suspensões virais aprovados, representa integralmente, o volume disponível para utilização nas formulações de lotes de vacinas na apresentação de 50 doses.

Em 1999, o grupo coordenado pelo Dr. Marcos da Silva Freire, estabeleceu a nova formulação de 5 doses. Esta formulação melhorou sensivelmente a termo-estabilidade do produto final, possibilitando a Bio-Manguinhos competir, com outros produtores, em concorrências internacionais para o fornecimento desse imunobiológico para programas de imunização patrocinados pelas Agências das Nações Unidas, principalmente para África, América Central e do Sul.

No início do ano 2000, foi estabelecido o novo lote semente de trabalho (993FB013Z SC – 286 EP - 43). Este lote foi aprovado em todos os testes recomendados pelas normas da Organização Mundial de Saúde (OMS) e está sendo utilizado na produção das suspensões virais empregadas nas formulações de todos os lotes de vacinas (FA) fabricados por Bio-Manguinhos.

2.12 - A produção hoje

Desde o início da produção da vacina até a presente data foram produzidas no LAFAM mais de 600.000.000 de doses, que foram utilizadas principalmente para atender a demanda do Programa Nacional de Imunização (PNI).

Bio-Manguinhos sempre procurou manter suas unidades de produção e controle em um bom nível tecnológico. Nessa condição, seu conjunto de laboratórios foi inspecionado e certificado por técnicos da Organização Mundial de Saúde (OMS). Como resultado da aprovação, foi recebido o credenciamento necessário a produzir e comercializar a vacina contra a febre amarela a nível mundial. Com esta qualificação, em 2004, já foram comercializados ao nível de exportações mais de 25.000.000 de doses, para 52 países — conforme informa a Figura 2.3 — com expectativas de aumento desses valores para 2005.



Figura 2.3 - Mapa da localização dos países que adquiriram a vacina contra febre amarela, fabricada por Bio-Manguinhos em 2004.

Fonte: Divisão Comercial da Unidade.

O laboratório de produção de matéria prima, localizado no Pavilhão Henrique Aragão, tem capacidade para operar semanalmente 8.000 ovos embrionados.

O período necessário para a produção e controle desta vacina é de 6 a 8 meses, desde a encomenda de ovos a granja até a liberação da vacina para uso pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS). Logo, é importantíssimo que exista um estoque estratégico de matéria prima, aprovada e pronta para ser formulada e liofilizada. Adotando-se este procedimento, em caso de uma demanda urgente, a vacina pode ser disponibilizada em

menos de 20 dias. Neste sentido, o laboratório vem gradativamente elevando a sua capacidade de estocagem de matéria prima.

Bio-Manguinhos possui um laboratório dedicado exclusivamente ao envase e liofilização da vacina contra a febre amarela (LALIO). Este setor dispõe de dois equipamentos com capacidade para liofilizar 40.000 frascos/5 doses. Pode ainda utilizar, em regime especial, mais dois equipamentos existentes na planta industrial, cada um com a capacidade de 72.000 frascos / 5 doses.

Estudos demonstraram a grande eficácia (acima de 95 %) desta vacina de vírus atenuado cepa 17DD, tanto em controlar como em prevenir epidemias (Lopes *et al.*, 1988).

Via de regra, os efeitos colaterais são leves e de curta duração. Até 5 % dos vacinados apresentam reações locais e sistêmicas leves, entre o 5º e o 10º dia pós-vacinação. Efeitos colaterais mais sérios são relacionados à hipersensibilidade imediata que ocorrem eventualmente com incidência < 1/1.000.000 de doses aplicadas, e à encefalite que ocorre quase que exclusivamente em crianças de baixa idade (Monath, 1999).

Reações adversas graves são raras. No entanto, seis casos de óbito secundário após a vacinação foram registrados e comprovados, ocorrendo um quadro de febre amarela vacinal. Esses casos ocorreram com ambas as cepas utilizadas no mundo, sendo um caso na Austrália, três casos nos EUA (17D-204) e dois casos no Brasil (17DD), (Martin *et al.*, 2001; Vasconcelos *et al.*, 2001).

2.13 - Fundamentos do Controle Estatístico de Processos (CEP)

A utilização de métodos estatísticos modernos para a melhoria da qualidade tem forte orientação para a engenharia e o gerenciamento.

A qualidade tornou-se uma das principais estratégias de negócios e as organizações que melhoraram a sua qualidade, aumentaram a sua produtividade e competitividade.

O Controle Estatístico de Processos (CEP) é constituído de um conjunto de técnicas e ferramentas estatísticas, organizadas de modo a proporcionar, através de suas aplicações, a manutenção e melhoria dos níveis de qualidade de um produto ou processo produtivo.

Apesar de ser uma ferramenta criada em 1920, quando Shewhart propôs a aplicação de cartas de controle na empresa de telefonia Bell Telephone Laboratories, continua sendo desenvolvida e estudada por muitas instituições e praticada por diversas outras empresas.

2.13.1 - Conceito de processo

No processo de produção o conjunto de causas é uma combinação de materiais, ferramentas, máquinas, métodos, pessoas e outras causas, que são representadas por variáveis de entrada do processo.

Dessa forma, processo pode ser definido como um conjunto de causas que têm por objetivo produzir um ou mais efeitos específicos (Campos, 1994).

Para Davenport (1994), processo é "um conjunto de atitudes estruturadas e medidas, destinadas a resultar em um produto especificado para um determinado cliente ou mercado. É uma ordenação específica das atividades de trabalho, no tempo e no espaço, tendo um início e um fim e as entradas e saídas definidas claramente".

As variáveis de entrada possuem duas classificações distintas. Podem ser: manipuladas ou não (distúrbios).

Manipuladas são aquelas sobre as quais se pode atuar, por exemplo: temperatura e umidade.

Não manipuladas (ou distúrbios) são aquelas que, conhecidas, variam independente de atuação, por exemplo: fatores ambientais.

2.13.2 - Características da qualidade

O cliente considera qualidade como sendo um conjunto de elementos presentes em um produto. Esses parâmetros são chamados de características da qualidade (Montgomery, 2004). Podem ser de diversos tipos:

- Físicos: largura, comprimento;
- Sensoriais: cor, gosto;
- Orientação temporal: durabilidade, confiabilidade.

Na aplicação da metodologia estatística, os dados inerentes às características da qualidade são classificados em variáveis e atributos. As variáveis são aquelas cujos valores podem ser expressos em termos de uma medida numérica (dimensão, peso, volume). As variáveis de atributo não podem ser representadas numericamente, nesse caso, usualmente a classificação para cada item inspecionado é "conforme" ou "não conforme" (Montgomery, 2004).

2.13.3 - Qualidade do produto

Pode-se definir qualidade de várias maneiras. A definição tradicional de qualidade é "adequação ao uso". Montgomery prefere adotar a definição moderna, que diz que "qualidade é inversamente proporcional à variabilidade" (Montgomery, 2004).

Existem dois aspectos importantes da adequação ao uso:

- Qualidade do projeto: é a variação intencional dos níveis de qualidade.
- Qualidade de ajustamento ou conformidade: é a condição do produto manufaturado em relação às especificações exigidas pelo projeto.

O conceito de produto defeituoso está relacionado com qualidade no ajustamento. O produto produzido deve possuir um valor alvo para que apresente o desempenho desejado. Uma especificação é composta de um valor nominal e uma faixa de tolerância.

Pode-se afirmar que um produto apresenta qualidade de ajustamento ou está conforme, quando os resultados das medições de uma característica da qualidade estão dentro da faixa da tolerância especificada em projeto.

2.13.4 - Conceito de controle de processo

Controle de processos consiste de um conjunto de procedimentos adotados para avaliar, manter e melhorar os padrões de qualidade em qualquer estágio de fabricação, levando em consideração o custo-benefício (Paranthaman, 1990).

Manter o processo em seu estado planejado de modo que ele continue capaz de atingir as suas metas, é outro conceito de controle de processo. Existem diversos fatores ou acontecimentos, que tendem a prejudicar a capacidade do processo de atingir estas metas. Através da ação imediata, procura-se minimizar essas interferências.

O controle visa a garantir a qualidade do produto através de um conjunto de atividades executadas sobre o processo (Juran, 1993).

O processo e o conjunto de recursos e atividades para seu controle são denominados sistemas de controle. Os sistemas de controle podem ser classificados em detectivos e preventivos (Schissatti, 1998).

Sistema de controle detectivo.

É o conjunto de atividades de monitoramento da qualidade do produto após esse ter sido produzido. A inspeção é o método utilizado, tendo como principal objetivo definir se determinado produto ou lote já produzido deve ou não ser aceito. O fluxo de controle detectivo é determinado pelas características a seguir:

- Medição do desempenho da característica da qualidade;
- Avaliação dos resultados de desempenho: comparação com valores especificados;
- Ação sob o produto: aceita ou rejeita.

Sistema de Controle Preventivo.

É o conjunto de atividades de controle das condições do processo, que visa a evitar que sejam produzidos produtos defeituosos. As técnicas mais utilizadas são o controle estatístico de processos e controle automático de processos. O fluxo de controle do processo preventivo possui as seguintes etapas:

- Medição de desempenho de uma variável do processo ou característica do produto;
- Avaliação dos resultados de desempenho: comparação com os valores especificados;
- Quando a avaliação indicar que o resultado do desempenho não foi atingido, é tomada uma ação sobre o processo, visando a corrigir suas condições de funcionamento para evitar que produtos defeituosos sejam produzidos.

O processo necessita ser controlado devido a três motivos: variabilidade, entropia e custo.

A variabilidade representa a medida da dispersão de um conjunto de valores reais apresentado por uma característica de qualidade.

O histograma é utilizado como uma ferramenta estatística para demonstrar a variabilidade do processo.

A variabilidade de um processo é representada pela variabilidade de suas saídas, isto é, pela variabilidade dos valores de uma determinada característica de qualidade, que por sua vez é função das variabilidades das variáveis de entrada. Quando essas variabilidades são significativas em relação as especificações de projetos, corre-se o risco de se ter produtos não conformes sendo este um dos motivos da existência do controle de processos.

A entropia está relacionada à tendência natural de desordem das coisas no universo. O efeito da entropia em um determinado processo pode ser explicado em um processo que produz 100% de produtos conforme, atendendo plenamente às especificações. Teoricamente, esse seria um processo ideal. Contudo, nessas condições, ele necessita ser controlado, nem que a frequência de controle seja bastante reduzida. O principal motivo é que as condições não são permanentes, podem se deteriorar com o tempo (Box, 1997). Se as fontes de variação de um processo não forem efetivamente controladas, um processo em estado de controle estatístico tende a um estado fora de controle. Segundo Box (1997), o controle reduz, mas não elimina, a influência da entropia.

Um determinado processo em uma fábrica pode estar operando em estado fora de controle, logo representa maior custo. Baseado nessa abordagem, o controle do processo é

justificável como redutor de custos (Montgomery, 1994). Logo, quanto mais produtos conformes forem produzidos, mais reduzidos serão os custos de fabricação.

2.14 - Ferramentas do CEP

O controle estatístico de processos consiste de ferramentas de resolução de problemas útil na obtenção de estabilidade do processo e na melhoria da capacidade através da redução da variabilidade e constitui-se da utilização de técnicas estatísticas para controlar um processo. O CEP surgiu com Walter A. Shewhart na década de 1920. No estudo da aleatoriedade dos processos industriais, W.A.Shewhart estabeleceu um sistema que permitiu determinar se a variabilidade de um processo era aleatória ou tinha origem em causas especiais.

A coleta, representação e análise de dados de um processo são a base das técnicas estatísticas (Owen, 1989).

Os gráficos de controle são as ferramentas mais recomendadas para o controle da qualidade de materiais, bateladas, itens etc., pois permitem avaliar se uma produção está sob controle (Feigenbaum, 1994). São classificados em cartas ou gráficos de controle para variáveis e para atributos. As primeiras se referem a aspectos como comprimento, densidade, concentração etc. e exigem medições em escala contínua. As cartas para atributos estudam o comportamento de números e proporções e caracterizam-se por apresentarem medições descontínuas como aprovado ou reprovado.

O CEP é uma metodologia que potencialmente permite conhecer o processo, mantê-lo sob estado de controle estatístico e melhorar sua capacidade.

2.14.1 - Variação

As fontes de variação são atribuídas à matéria-prima, meios de medição, máquinas, operadores, meio-ambiente e fatores gerenciais. As causas de variação podem ser exemplificadas pelo desgaste de ferramentas, matérias-primas fora das especificações, métodos de trabalho incorretos, gerenciamento inadequados e erros de operação.

As causas de variação podem ser classificadas em comuns ou especiais.

Causas comuns fazem parte da natureza do processo e são responsáveis pela variabilidade natural do processo (Graça, 1996), são difíceis de serem eliminadas pelo alto custo. Demandam ações gerenciais para a sua eliminação. Quando descobertas, devem ser logo corrigidas para não comprometer o desempenho do processo.

Em um processo, a variação natural sempre existirá e é inerente ao processo.

Causas especiais são mais claramente determinadas, são específicas, acidentais e imprevisíveis, que afetam geralmente uma operação da máquina, operador inexperiente ou período de tempo, são mais fáceis de ser identificadas e quase sempre estão no domínio do operador ou gerente.

Um processo apresenta-se sob estado de controle estatístico quando sua variabilidade é estatisticamente estável e uniforme ao longo do tempo. Esse processo apresenta apenas causas comuns de variação (Werkema, 1995).

Quando um processo apresentar uma variabilidade estatisticamente instável e não uniformemente distribuída ao longo do tempo, esse processo está fora de controle estatístico, nesse caso apresenta causas comuns e especiais de variação.

2.14.2 - Limites de controle

Qualquer que seja a distribuição da característica da qualidade, é comum determinar os limites de controle por um múltiplo do desvio padrão (σ) definido no gráfico. Normalmente o valor três-sigmas é empregado nos gráficos de controle.

Se os pontos obtidos estão entre os limites de controle LIC (limite inferior de controle) e LSC (limite superior de controle), determinados estatisticamente, e a trajetória formada pela seqüência desses pontos segue um padrão aleatório, conclui-se que o processo está sob controle, e nenhuma ação em princípio é necessária.

Quando um ponto cai fora dos limites de controle, é evidenciado que o processo está fora de controle, isto é, pode existir uma ou mais causas especiais atuando, sendo necessária a tomada de ações.

Mesmo que todos os pontos se encontrem entre os limites de controle, eles devem estar aleatoriamente distribuídos. Testes de aleatoriedade são feitos para verificar se um determinado processo pode ser considerado como sujeito à ação de causas comuns de variação, situação que o mesmo é dito estável. Por vezes, mesmo que todos os pontos do gráfico estejam dentro dos limites de controle, isso não significa, necessariamente, que não haja causas especiais atuando (Montgomery, 2004). A seguir alguns desses testes e seus respectivos critérios são apresentados, sendo a Figura 2.4 útil na interpretação dos mesmos.

- 1 - Um ou mais pontos fora dos limites de controle;
- 2 - Seqüência de pontos do mesmo lado da linha média → nove pontos consecutivos do mesmo lado da linha média ;

3 - Presença de ciclos ou tendências → seis pontos consecutivos aumentando ou diminuindo / pontos oscilando para cima ou para baixo formando ciclos;

4 - Falta de variabilidade → quatorze pontos consecutivos se alternando para cima e para baixo da linha média;

5 - Seqüência de pontos próximos dos limites de controle → dois em três pontos consecutivos bem próximos dos limites de controle superior ou inferior, zona A;

6 - Seqüência de pontos na zona B → quatro em cinco pontos consecutivos caírem na zona B ;

7 - Pontos na zona C → quinze pontos consecutivos na zona C;

8 - Oito pontos seqüenciais em ambos os lados da linha central, sem nenhum ponto na zona C.

O gráfico de controle é um artifício para descrever exatamente o que se entende por controle estatístico.

Em muitas aplicações, ele é usado para acompanhamento de processos, isto é, os dados amostrais são coletados e usados para construir o gráfico de controle. Se os valores amostrais caírem dentro dos limites de controle e não demonstrarem qualquer padrão sistemático, o processo está sob controle no nível indicado.

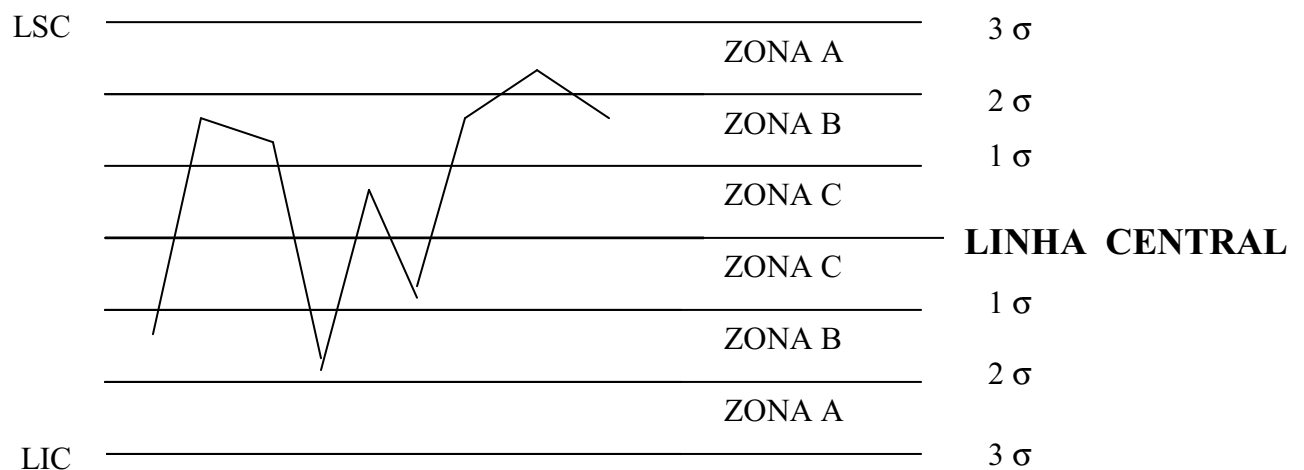


Figura 2.4 - Gráfico de controle mostrando as zonas de controle.

Se o interesse é determinar se amostras dos processos estudados indicam controle estatístico, o uso rotineiro dos gráficos de controle possibilitará a redução da variabilidade, conseqüentemente o processo será melhorado.

O desenvolvimento de um sistema eficiente na correção de causas especiais é um componente essencial de uma implementação de um CEP.

2.14.3 - Limites de especificações

As características da qualidade são geralmente avaliadas em relação às especificações. Para um produto manufaturado, as especificações são as medidas desejadas para as características de qualidade dos componentes de que se constitui o produto e que tenham os valores desejados para as características do produto ou processo. A medida que corresponde a um valor desejado para uma determinada característica de qualidade chama-se valor nominal ou valor-alvo. As medidas devem ser limitadas por um intervalo de valores bem próximos do alvo que, permanecendo neste intervalo, não causarão impacto na função ou desempenho do produto ou processo, sendo que o maior valor permitido é chamado de limite superior de especificação (LSE) e o menor valor permitido é chamado de limite inferior de especificação (LIE).

Em determinadas situações as características de qualidade têm limites de especificação apenas de um lado do alvo e podem também possuir limite superior de especificação, mas não ter um limite inferior de especificação.

Os produtos ou processo fora do padrão ou não conformes dão origem a uma não-conformidade, isto é deixam de atender a uma ou mais especificações.

Um produto não conforme não é, necessariamente, impróprio para o uso. Ele é considerado defeituoso se tem um ou mais defeitos, que não são não-conformidades sérias o bastante para afetar significativamente o uso seguro e efetivo do produto (Montgomery, 2004).

2.14.4 - Capacidade do processo

Segundo Montgomery (Montgomery, 2004), o conceito de capacidade de um processo é determinado por como a variabilidade inerente de um processo podem ser comparada com as exigências ou especificações para o produto.

Quanto à capacidade, um processo pode ser capaz ou incapaz.

O processo é chamado de capaz quando os resultados das medições das características de controle estão dentro do intervalo especificado em projeto, ou seja, estatisticamente não estão sendo produzidos produtos defeituosos.

O processo é incapaz quando os resultados das medições encontram-se fora dos limites das especificações do projeto, ou seja, estatisticamente estão sendo produzidos produtos defeituosos.

Não se faz a avaliação da capacidade do processo quando o mesmo está fora de controle estatístico; logo a capacidade de um processo só deve ser avaliada se a variação for decorrente de causas comuns.

Para a avaliação da capacidade de um processo, os cálculos dos índices de capacidade Cp e Cpk são os mais utilizados. Em um processo representando uma distribuição normal, é comum utilizar uma dispersão 6 sigmas (Montgomery, 2004). O índice de capacidade Cp, também chamado de índice de capacidade potencial do processo, é calculado pela diferença entre os limites de especificações LSE e LIE dividida por 6 sigmas, como mostra a Equação 1.

$$C_p = (LSE - LIE) / 6 \sigma \quad (1)$$

Tal que σ é o desvio padrão

Na equação (1) o numerador representa a tolerância especificada para o produto ou processo, enquanto o denominador corresponde à dispersão do processo (Variabilidade). Este índice compara apenas os tamanhos da dispersão do processo e do intervalo de tolerância do produto, não levando em consideração a posição relativa entre ambos.

Para se medir em posições relativas entre a dispersão do processo e a tolerância do produto, é utilizado o índice de capacidade real do processo, Cpk:

$$C_{pl} = (\bar{X} - LIE) / 3 \sigma \quad (2)$$

$$C_{pu} = (LSE - \bar{X}) / 3 \sigma \quad (3)$$

onde \bar{X} representa a média das observações que representam o processo.

$$C_{pk} = \min(C_{pl}, C_{pu}) \quad (4)$$

Os valores de referência de Cp e Cpk variam de uma empresa a outra, em nosso estudo utilizamos o valor de referência 1,33 — Esse valor indica que é possível trabalhar com dispersão de amplitude 8σ dentro do campo de tolerância do produto ou processo (Tabela 2.6).

Tabela 2.6 - Classificação da Capacidade de Processos Cpk

Índice	Classificação
$C_{pk} < 1,00$	Processo incapaz
$1,00 \leq C_{pk} < 1,33$	Processo relativamente capaz
$C_{pk} \geq 1,33$	Processo capaz

2.14.5 - Escolha e interpretação dos Gráficos

Os gráficos de controle representam uma das técnicas estatísticas que apoiam o controle de qualidade de um processo, fornecendo informações sobre suas variações, tanto de caráter aleatório, quanto de caráter determinístico (Toledo, 1987).

Basicamente os gráficos de controle verificam principalmente se o processo estudado é estatisticamente estável, isto é, não há atuação de causas especiais de variação, verifica também se o processo estudado permanece estável, sinalizando a necessidade de atuação sobre o mesmo e finalmente permiti o aprimoramento do processo, reduzindo sua variabilidade (Ramos, 2000).

A escolha do tipo de gráfico de controle a ser utilizado é determinada basicamente pelas características do processo a ser avaliado e podem ser empregados para análises de variáveis e atributos. Os primeiros são caracterizados por apresentarem melhor desempenho, pois necessitam de tamanhos menores de amostras e para sua obtenção é necessário algum tipo de medição (peso, resistência, comprimento, etc.). Os gráficos de controle de atributos são caracterizados por uma classificação direta, como por exemplo, aprovado ou reprovado.

Foi escolhido para desenvolvimento deste trabalho o Gráfico de Controle de Shewhart para Medidas Individuais, essa opção embora não seja a mais favorável para detectar pequenas mudanças nos processos, mostra-se adequada para situações onde são empregadas medidas individuais. Existem outras Cartas de Controle como a CUSUM - Gráfico de Controle para Soma Cumulativa - que é adequada para detectar pequenas mudanças, mas as Cartas de Shewhart são as mais largamente empregadas.

No Gráfico de Controle para Medidas Individuais qualquer deslocamento na média do processo, acarretará um ou mais pontos fora dos limites de controle. Na interpretação do Gráfico de Amplitude Móvel, deverá ser levado em consideração a relação dos deslocamentos das médias com o surgimento de picos. Montgomery afirma que, desde que haja cuidado na interpretação e se baseie primeiramente no Gráfico de Medidas Individuais, não haverá dificuldades na associação de ambos os gráficos (Montgomery, 2004).

Se ambos os gráficos exibirem padrão não aleatório, serão eliminados primeiro as causas atribuíveis no gráfico R (amplitude móvel). Na maioria dos casos, isso eliminará automaticamente o padrão não-aleatório no gráfico X (observações individuais).

3. METODOLOGIA

Neste t3pico, descreve-se cada uma das etapas envolvidas na produ33o da vacina contra febre amarela em Bio-Manguinhos. Os pontos selecionados para aplica33o do CEP s3o tamb3m identificados nos fluxogramas do processo.

3.1 – 3rea de aplica33o do estudo

Com o objetivo de apoiar a produ33o de soros e vacinas e promover as campanhas de saneamento defendidas por Oswaldo Cruz, foi criada, no ano de 1900, o Instituto Soroter3pico Federal, hoje conhecido como Funda33o Oswaldo Cruz. Essa institui33o dedica-se ao atendimento das necessidades brasileiras na 3rea da sa3de p3blica. Situada no bairro de Manguinhos, munic3pio do Rio de Janeiro, a Funda33o Oswaldo Cruz (Figura 3.1) est3 instalada em um campus de mais de 800.000 m² onde se situam a maioria de suas unidades t3cnico-cient3ficas e as unidades de apoio t3cnico-administrativas.

O cen3rio do presente trabalho 3 o Laborat3rio de produ33o da vacina contra febre amarela, conhecido pela sigla LAFAM (Figura 3.2), o qual possui 33 funcion3rios subdivididos em quatro setores, trabalhando em turno 3nico. Os seus principais clientes s3o: Minist3rio da Sa3de, OPAS e UNICEF.



Figura 3.1 - Castelo Mourisco



Figura 3. 2 - Pavilhão Henrique Aragão (LAFAM)

O LAFAM está subordinado ao Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, denominado Bio-Manguinhos, que por sua vez está voltado ao desenvolvimento tecnológico nas áreas de produção de vacinas e reativos para diagnósticos, sendo também responsável pelas produções, dentre outros imunobiológicos, das vacinas contra a Poliomielite, Difteria-Tétano-Pertussis (DTP), *Haemophilus Influenzae* tipo b (Hib), Meningite A+C, além de produzir testes para diagnósticos.

Bio-Manguinhos tem como missão: "contribuir para a melhoria dos padrões da saúde pública brasileira, por intermédio da pesquisa tecnológica e produção de imunobiológicos capazes de atender à demanda gerada pelo quadro epidemiológico do país" (Bio-Manguinhos, 2004).

3.2 - Etapas do processo de produção da SV

3.2.1 - Aquisição dos ovos

Lotes de ovos, supostamente férteis e de postura recente, são recebidos semanalmente pelo laboratório, através de fornecedor qualificado.

3.2.2 - Seleção e incubação dos ovos

Os ovos são inspecionados individualmente antes da incubação, sendo descartados ovos rachados e quebrados.

Os ovos selecionados são então arrumados em bandejas especiais e colocados nas incubadoras (Figura 3.3), nas quais a temperatura e umidade interna são controladas. Durante todo o período de incubação pré-inoculação, que é de 9 dias, os ovos dentro das incubadoras são virados por um sistema automático.



Figura 3.3 - Vista interna da incubadora.

Os ovos são arrumados em suportes plásticos nas prateleiras dos carrinhos de incubação que são posicionados dentro da incubadora.

3.2.3 - Ovoscopia pré-inoculação

No nono dia de incubação, imediatamente antes da inoculação, procede-se a ovoscopia por transiluminação no ovoscópio (Figura 3.4). Este equipamento possui um feixe de luz forte que quando acionado atravessa a casca dos ovos possibilitando a observação das estruturas internas dos mesmos, para verificação da integridade, fertilidade e viabilidade dos embriões, descartando-se os ovos não férteis ou com embriões mortos.



Figura 3.4 - Realização da ovoscopia.

3.2.4 - Inoculação do vírus

Os ovos são transferidos para um suporte especial, onde são arrumados em posição vertical, com a extremidade de maior diâmetro voltada para cima.

A parte central da casca situada acima da bolsa de ar é desinfetada. Logo a seguir, os suportes com os ovos são transferidos para a Área Limpa. Carboniza-se (Figura 3.5) uma área de aproximadamente 2 mm na região desinfetada. Para se obter o resultado desejado, é necessária uma boa regulagem na chama do maçarico, que utiliza como combustível o gás butano. Com estilete estéril, faz-se um pequeno orifício no centro da área carbonizada (Figura 3.6). Nesse processo é utilizado um estilete de ponta bem fina, que rompe a área fragilizada pela carbonização da casca, mostrada na Figura 3.5.



Figura 3.5 - Processo de carbonização da casca dos ovos.



Figura 3.6 - Perfuração da casca dos ovos.

Inocula-se diretamente na cavidade vitelina, utilizando-se seringa de tuberculina (Figura 3.7). Nesse momento é introduzida uma alíquota do vírus 17DD proveniente do lote semente de trabalho. Após a inoculação, os orifícios dos ovos são selados (Figura 3.8). É utilizada nesse processo uma cola fenolada de alta densidade que veda o orifício de inoculação.



Figura 3.7 - Inoculação do ovo.



Figura 3.8 - Vedação do orifício de inoculação.

Os ovos são, então, transferidos para suportes plásticos e incubados, durante 3 dias, a temperatura e umidade controladas. Estas incubadoras são utilizadas exclusivamente para ovos inoculados (Figura 3.9).



Figura 3.9 - Colocação da bandeja de ovos inoculados no carrinho da incubadora.

Da suspensão do inóculo, é retirada amostra para teste de esterilidade. A intervalos de 6 meses, é feito teste de potência no lote-semente de trabalho.

3.2.5 - Ovoscopia pré-coleta

Após 3 dias da inoculação, os embriões são coletados. Os ovos são retirados da incubadora e submetidos a ovoscopia, descartando-se aqueles com embriões mortos.

3.2.6 - Coleta e trituração dos embriões

Os ovos, com a bolsa de ar voltada para cima, são colocados em bandejas especiais de metal (Figura 3.10), contendo suportes circulares de borracha. Com a chama de um maçarico de oxi-acetileno, produz-se um anel de carbonização na área abaixo da câmara de ar. Levanta-se a calota dos ovos, por introdução de uma espátula (Figura 3.11). Nessa operação, o embrião fica apto a ser coletado. Com uma pinça, dente-de-rato cada embrião é coletado e colocado em uma câmara de trituração (Figura 3.12). Normalmente, agarra-se o embrião pelo pescoço ou pelas patas. Adiciona-se diluente em cada câmara de trituração onde estão recolhidos os embriões coletados (Figura 3.13). A câmara de trituração é hermeticamente fechada, acoplada em um motor elétrico e, em banho de gelo, os embriões são triturados (Figura 3.14). Após a trituração, o material é transferido para um frasco de centrifugação (Figura 3.15).



Figura 3.10- Anel de carbonização produzido com a chama de um maçarico.



Figura 3.11 - Rebatimento da calota realizado com auxílio de espátula.



Figura 3.12 – Remoção do embrião do ovo

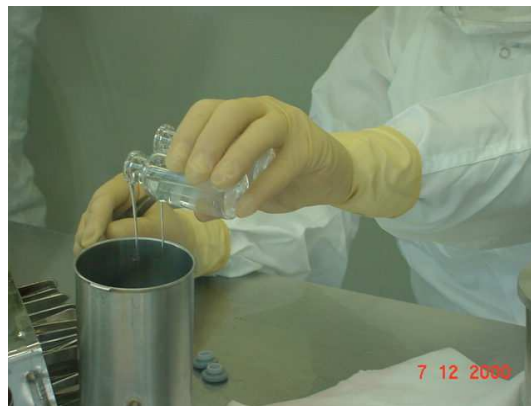


Figura 3.13 - Adição de diluente à câmara



Figura 3.14 – Trituração dos embriões em banho de gelo .



Figura 3.15 – Transferência do conteúdo de duas câmaras trituradoras para frasco de centrifugação.

3.2.7 – Centrifugação

O material é centrifugado a temperatura e velocidades controladas (Figura 3.16). Cerca de 40 % do volume inicial é constituído de resíduos sólidos.



Figura 3.16 - Material centrifugado.

3.2.8 - Preparo da suspensão viral

O sobrenadante resultante da centrifugação é aspirado (por pressão negativa) para um frasco de armazenamento (Figura 3.17), de capacidade de 1000 ml. O volume é verificado e, de acordo com a quantidade, é estabilizado.



Figura 3.17 - Aspiração do sobrenadante .

De cada frasco, são retiradas amostras em duplicata para testes de esterilidade (bacteriana e fúngica), detecção de *M. tuberculosis* e potência (Figura 3.18). Os frascos são hermeticamente fechados e identificados com um número de série.



Figura 3.18 - Retirada das amostras.

3.2.9 - Congelamento e estocagem

Após identificação, a suspensão viral é congelada (Figura 3.19). O congelamento é realizado em uma máquina "Roller", que utiliza uma mistura refrigerante preparada com álcool e dióxido de carbono. Após o congelamento, os frascos são estocados à - 70°C (Figura 3.20). Os frascos congelados são armazenados horizontalmente em equipamentos de baixa temperatura (-70°C) aguardando os resultados dos controles microbiológicos.



Figura 3.19 - Congelamento da suspensão viral



Figura 3.20 – Estocagem dos frascos

3.2.10 - Controle da suspensão viral

Teste de potência

O teste de potência (Figura 3.21) é realizado pela determinação da concentração de partículas virais na suspensão, através da formação de placas de lise em monocamada de cultivo de células VERO, método de PFU (*Plaque Forming Unit*).

O teste será válido se o título da vacina referência não variar mais do que $0,5 \log_{10}$ do título médio estabelecido.

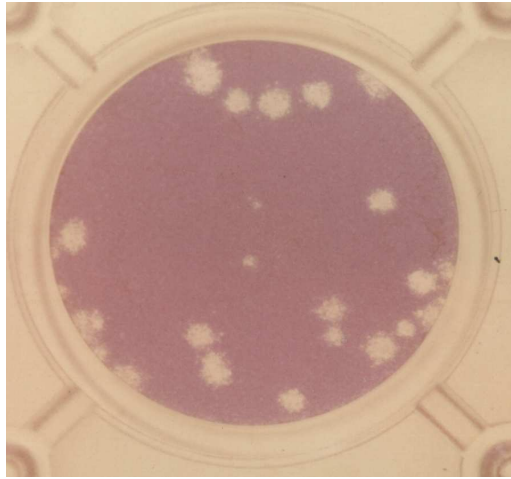


Figura 3.21 – Placas de lise do vírus vacinal de febre amarela em células Vero

Teste de esterilidade

Pelo teste de esterilidade é verificada, em amostras de cada frasco de suspensão viral, a ausência de microrganismos contaminantes (bactérias e fungos). Também são realizados testes para detecção de *Mycobacterium tuberculosis* (humanos, bovinos e aviários).

Teste de toxicidade específica

Pelo teste de toxicidade específica, é verificada a presença de agentes adventícios patogênicos na suspensão viral.

Resultados dos controles

Se os resultados forem insatisfatórios, os frascos de armazenamento correspondentes serão descartados.

Se os resultados forem satisfatórios, os frascos serão mantidos em baixa temperatura (-70 °C) até o momento de sua utilização na preparação de um lote de vacina.

3.3 - Seleção dos pontos de aplicação do CEP

- Foram selecionados os pontos considerados de maior relevância para o trabalho:
- Perdas de ovos no transporte;
 - Ovos não embrionados;
 - Embriões mortos na primeira incubação;
 - Perdas de ovos na inoculação;
 - Embriões mortos na segunda incubação;
 - Perdas na coleta de embriões;
 - Rendimento na coleta de embriões.

As Figuras 3.22 e 3.23 mostram os fluxogramas (I e II) do processo de produção da suspensão viral, identificando os pontos de coleta de informações para o CEP. O processo foi descrito no Tópico 3. Optou-se por utilizar o sistema de coleta de dados existente. Esse sistema é informatizado possuindo proteção contra invasões e rastreabilidade, só podendo ser utilizado com senha pessoal.

O programa utilizado no desenvolvimento do trabalho foi o STATISTICA da StatSoft®, versão 6, que oferece um amplo conjunto de ferramentas adequadas aos objetivos propostos. Os dados dos levantamentos efetuados foram coletados durante 11 meses da produção da suspensão viral, de fevereiro a dezembro de 2004.

Foram utilizadas 37 remessas de ovos. Cada remessa de ovos recebida para processamento deu origem a duas produções (exceto a remessa 26 que originou somente uma produção). A remessa 33 não foi processada. Os dados utilizados na preparação deste trabalho estão inseridos na Tabela 3.2.

3.4 - Definição das características de qualidade dos processos

As características de qualidade da produção a serem monitoradas pelo CEP foram definidas pelas variáveis de perdas, apresentadas na Tabela 3.1. As características selecionadas pertencem à classe de dados denominada variável. O rendimento médio da SV nesse mesmo período foi de 4,61 mL por embrião coletado. As perdas são calculadas pela relação percentual entre os dados de entrada e de saída de cada etapa do processo e os rendimentos são obtidos pela relação entre embriões coletados e o volume em mL de material (suspensão viral) obtido.

FLUXOGRAMA I

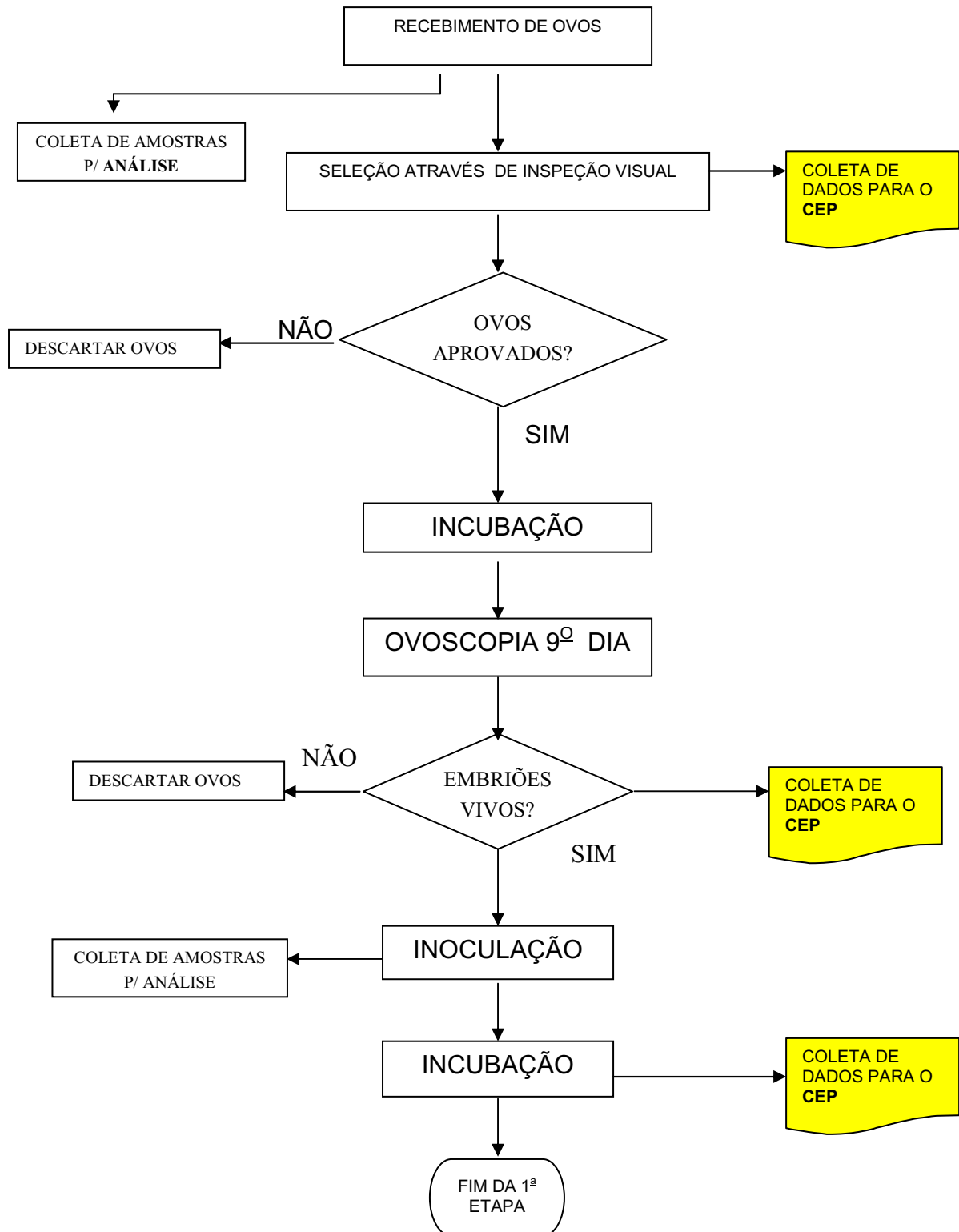


Figura 3.22 - Fluxograma do processo de produção da suspensão viral, identificando os pontos de coleta de informações para o CEP (Fluxograma I).

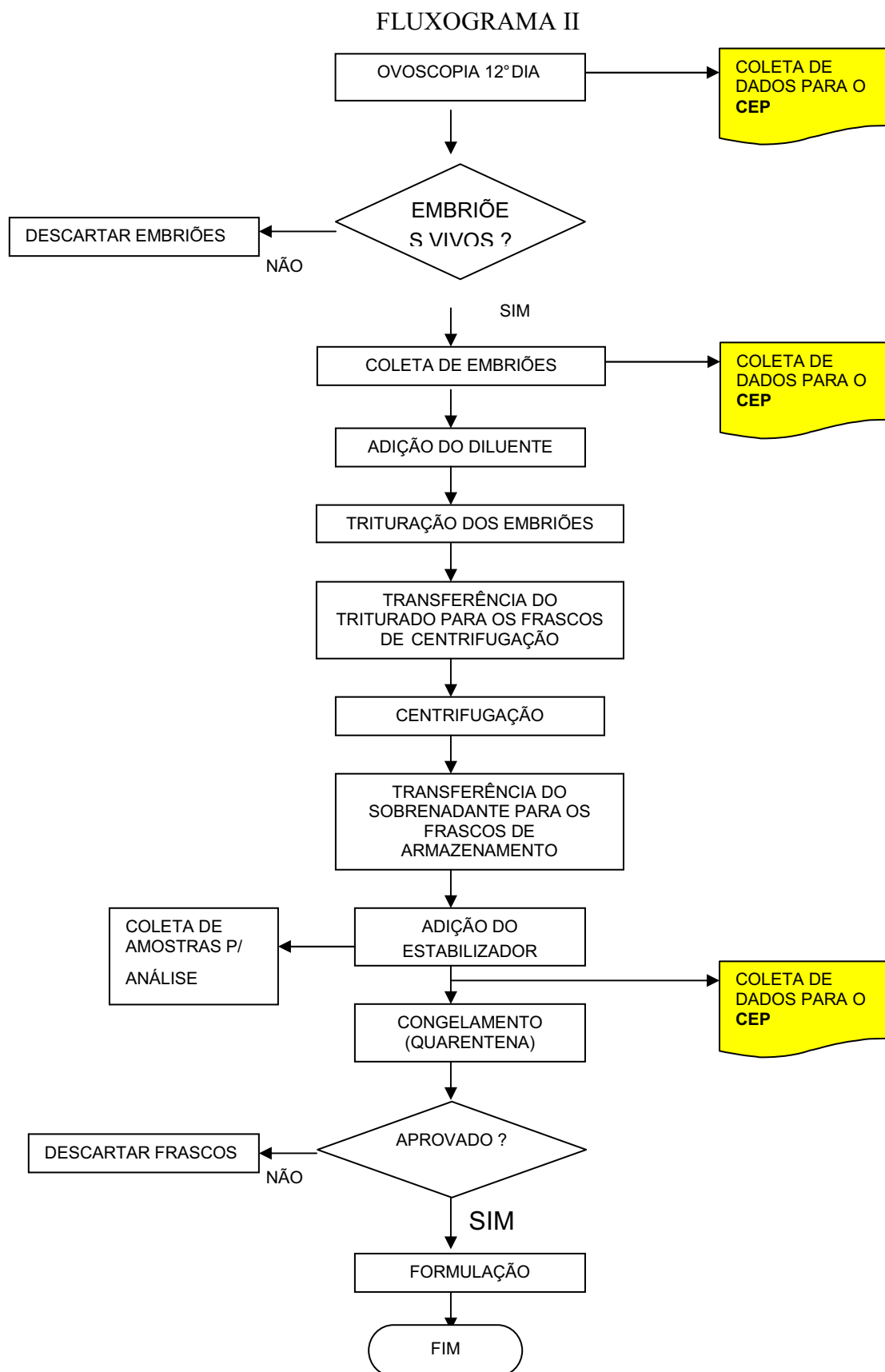


Figura 3.23- Fluxograma do processo de produção da suspensão viral, identificando os pontos de coleta de informações para o CEP (Fluxograma II).

Tabela 3.1 - Perdas no Processo de Produção da Suspensão Viral

Identificação	% de Perda Média no Processo
Ovos quebrados no transporte	0,67
Ovos não embrionados	2,18
Embriões mortos 1 ^a incubação	4,67
Inoculação	2,02
Embriões mortos 2 ^a incubação	9,27
Coleta	2,91
Perda total	21,72

3.5 - Sistema de coleta de dados

Rotineiramente todas as atividades de produção são registradas em protocolos informatizados. Os valores lançados são armazenados em um banco de dados que é protegido por um sistema de segurança. Essas informações foram utilizadas para a preparação dos gráficos e tabelas.

3.6 - Preparação dos gráficos de controle

As características de qualidade escolhidas são expressas por números em escala contínua. Os gráficos R (amplitude móvel) e X (observações individuais), que são amplamente utilizados para monitorar a média e a variabilidade de variáveis (Montgomery, 2004), foram preparados pelo software Statistica a partir dos dados coletados.

Tabela 3.2 – Dados relativos ao processamento das remessas 1 a 37 do ano 2004

Remessa	Transporte	Não Embrionados	Mortos 1a Incubação	Inoculação	Mortos 2ª Incubação	Coleta	Rendimento
1	7.222	1.800	7.150	3.797	11.423	3.649	4.137
2	0.509	2.748	5.689	1.611	9.505	3.719	4.158
3	1.088	2.296	5.355	2.836	12.313	3.191	4.283
4	0.463	1.792	4.014	1.803	13.956	3.567	4.370
5	0.355	1.856	4.215	3.874	12.437	3.048	4.101
6	0.452	1.484	4.453	1.855	11.180	3.020	4.316
7	1.944	2.315	8.032	3.353	10.936	3.133	4.110
8	2.523	2.184	5.436	3.146	12.749	2.534	4.725
9	0.324	3.534	2.704	2.216	6.960	2.390	4.754
10	1.366	1.925	5.221	1.271	9.122	1.974	4.839
11	2.269	1.963	7.381	2.905	9.843	2.592	4.483
12	0.204	1.434	3.189	1.254	5.246	1.903	4.888
13	0.111	1.793	3.432	2.165	8.371	2.714	4.697
14	0.259	1.642	4.450	1.816	7.323	2.580	5.371
15	0.259	1.934	5.090	2.107	8.121	2.574	5.333
16	0.148	1.976	4.218	1.047	7.236	3.062	4.576
17	0.296	1.487	2.421	1.635	10.785	2.479	5.095
18	0.222	1.928	2.617	1.362	8.794	4.285	4.572
19	0.130	2.352	3.452	1.315	7.595	4.054	4.492
20	0.222	1.694	4.455	2.467	9.840	3.599	4.752
21	0.185	2.148	5.209	1.763	8.228	2.368	5.063
22	0.296	2.317	4.996	1.823	10.189	3.439	4.743
23	0.259	2.791	4.083	2.033	8.377	2.406	4.487
24	0.148	2.618	3.206	0.667	7.952	2.563	4.794
25	0.222	3.721	2.202	2.267	7.331	4.268	4.176
26	0.130	2.446	4.722	3.115	9.395	2.415	4.402
27	0.111	2.636	4.911	1.324	7.567	2.574	4.342
28	0.111	2.484	4.475	2.903	7.476	2.538	4.416
29	0.241	2.221	4.803	1.065	5.590	1.908	4.594
30	0.648	1.559	4.696	1.400	6.997	2.103	4.564
31	0.241	1.736	4.845	1.407	8.116	2.447	3.994
32	0.241	2.302	3.377	1.023	7.277	2.056	3.871
34	0.167	2.675	6.849	2.465	10.071	2.886	4.949
35	0.167	2.068	4.212	1.936	10.179	2.827	4.823
36	0.247	2.833	5.411	1.459	9.261	3.978	4.696
37	0.316	1.741	7.327	2.321	15.967	4.154	4.799

Obs: A Remessa 33 não foi processada

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Introdução

A proposta inicial foi implementar um modelo simples e eficiente de controle estatístico de processo na área voltada à produção de imunobiológicos, especificamente na produção intermediária da vacina contra a febre amarela.

Os processos de produção intermediários realizados no ano de 2004 foram conceitualmente estudados e estatisticamente avaliados, possibilitando definir quais das características da qualidade eram críticas para o processo.

Foi também avaliada a necessidade de aumentar o número e a qualidade das informações coletadas. Os resultados indicam que o atual sistema é satisfatório.

Com a aplicação dos testes de Kolmogorov-Smirnov, verificou-se que os processos possuem Distribuição Normal. Os gráficos de probabilidade normal que atestam estes resultados estão inseridos no Apêndice I.

Todo o desenvolvimento do sistema CEP foi efetuado especificamente com o aplicativo Statistica®.

Os resultados são descritos a seguir.

4.2 - Resultados da variável "perdas no transporte"

Este processo está descrito no Tópico 3 (itens 3.2.1 e 3.2.2).

As Figuras 4.1 e 4.2 apresentam respectivamente o gráfico de controle para amplitudes móveis e o gráfico de controle para observações individuais, elaborado a partir das 26 informações iniciais obtidas através da diferença entre a quantidade de ovos recebidos e a quantidade de ovos descartados por quebra. Estes valores estão expressos em percentuais de ovos quebrados contidos em cada remessa, conforme se verifica na Tabela 3.2 (Item: transporte).

Em ambas as figuras, está evidenciado um ponto fora dos limites de controle (remessa 1). Constata-se também uma mudança de comportamento a partir da remessa de número 12. As causas para a citada mudança de comportamento foram avaliadas e identificadas. Identificou-se uma mudança do meio de transporte dos ovos da granja até o laboratório.

Nas primeiras 11 remessas, o transporte era realizado por via rodoviária e aérea; isto é, os ovos eram transportados da granja para o aeroporto por via rodoviária, onde eram embarcados em avião comercial até o Rio de Janeiro, seguindo por via rodoviária até o laboratório. Após a 12ª remessa, inclusive, passaram a ser transportadas exclusivamente pela via rodoviária em viatura climatizada, de propriedade da própria granja, fazendo a rota direta da granja até o laboratório. Esse novo procedimento já foi incorporado ao processo.

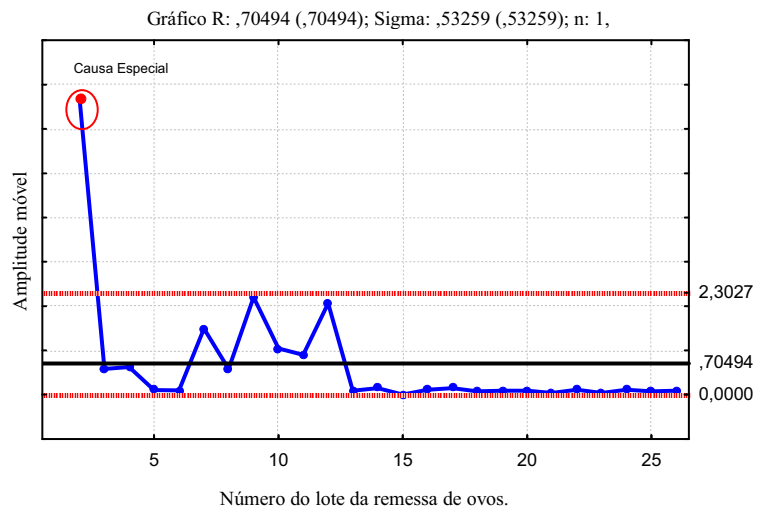


Figura 4.1 - Perdas no transporte: gráfico de controle para amplitude móvel.

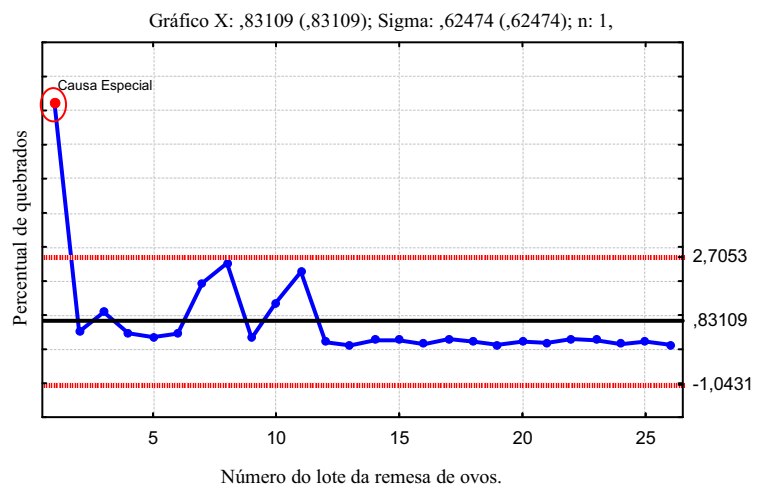


Figura 4.2 - Perdas no transporte: gráfico de controle para observações individuais.

Após a eliminação das causas especiais, foram inseridas 5 novas medidas referentes às remessas 27 a 31, Figuras 4.3 e 4.4, que apresentaram pontos fora de controle (remessa 30). Pesquisada a causa especial, através de entrevista com o condutor da viatura, atribuiu-se às más condições das ruas no trajeto a mais provável causa no aumento de ovos quebrados nessa remessa.

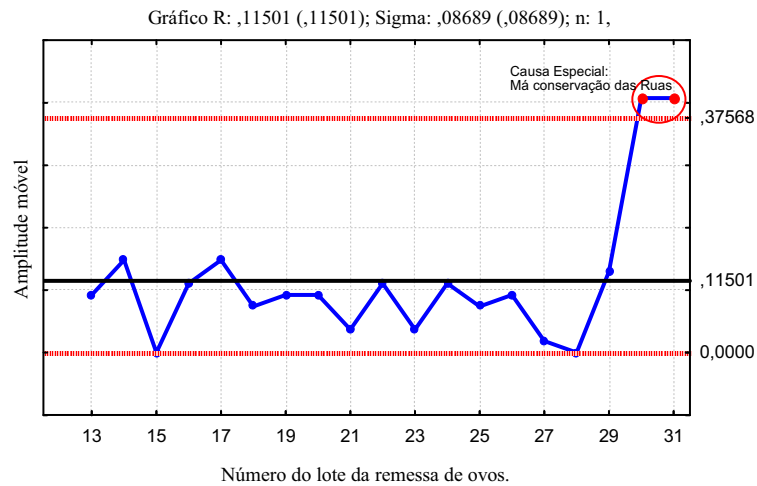


Figura 4.3 - Perda no transporte: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção de novas medidas.

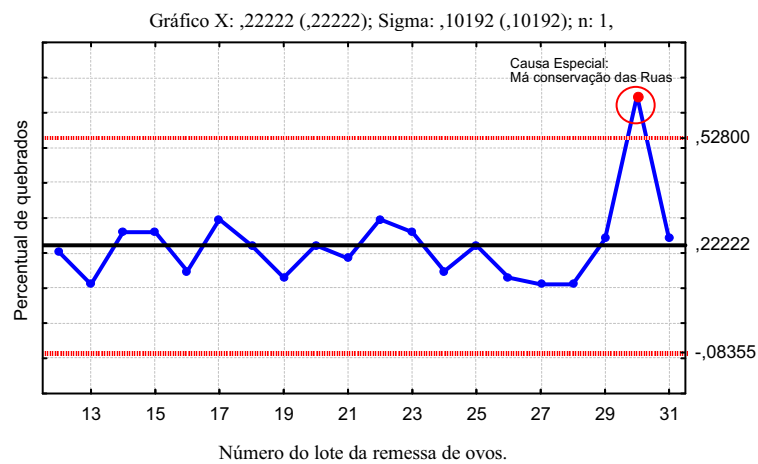


Figura 4.4 : Perdas no transporte: gráfico de controle para observações individuais, com inserção de novas medidas.

Identificada e removida a medida que resultou a causa especial (remessa 30), foi elaborado um novo gráfico de controle para amplitude móvel (Figura 4.5) e o gráfico para observações individuais (Figura 4.6).

A nova análise do processo (Figuras 4.5 e 4.6) indica que o mesmo está sob controle estatístico, uma vez que o comportamento das amostras nos dois gráficos apresentam características sob controle; logo, os limites de controle obtidos nessa análise podem ser utilizados nas avaliações do processo. Constitui-se assim a Tabela 4.1.

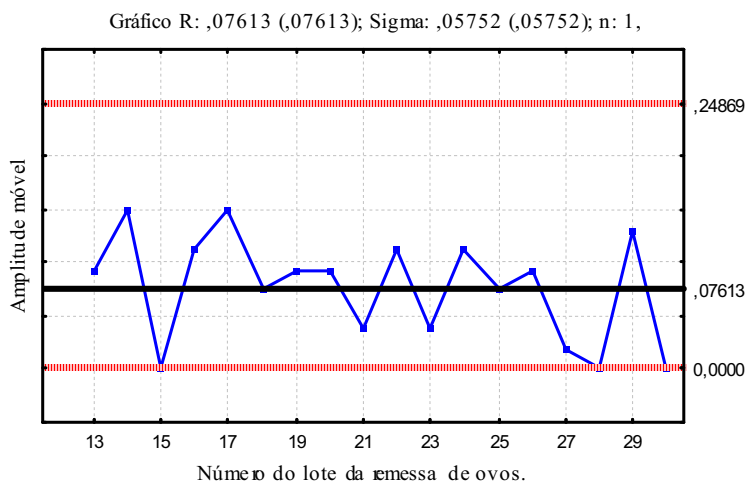


Figura 4.5 - Perdas no transporte: gráfico de controle para amplitude móvel, causa especial removida.

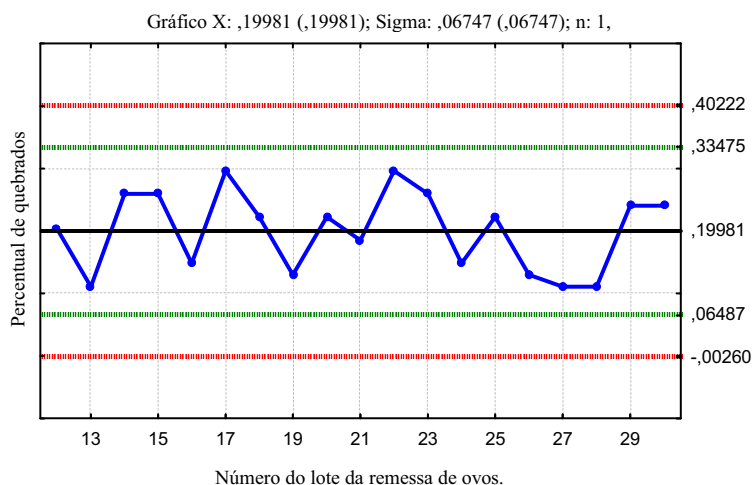


Figura 4.6 - Perdas no transporte: gráfico de controle para observações individuais, causas especiais removidas

Tabela 4.1 – Limites de Controle Para Perdas no Transporte de Ovos.

Limites de controle	Amplitudes móveis	Observações individuais
LSC	0,24869	0,40222
LC	0,07613	0,19981
LIC	0,0000	-0,00260

Fica evidenciado pelas avaliações das Figuras 4.7 e 4.8 que o processo de transporte dos ovos SPF (Detecção de ovos quebrados e ou rachados) da granja até o laboratório, após a mudança efetuada a partir da remessa 12, está sob controle estatístico, atendendo integralmente aos requisitos estabelecidos no Tópico 2 (item 2.14.2).

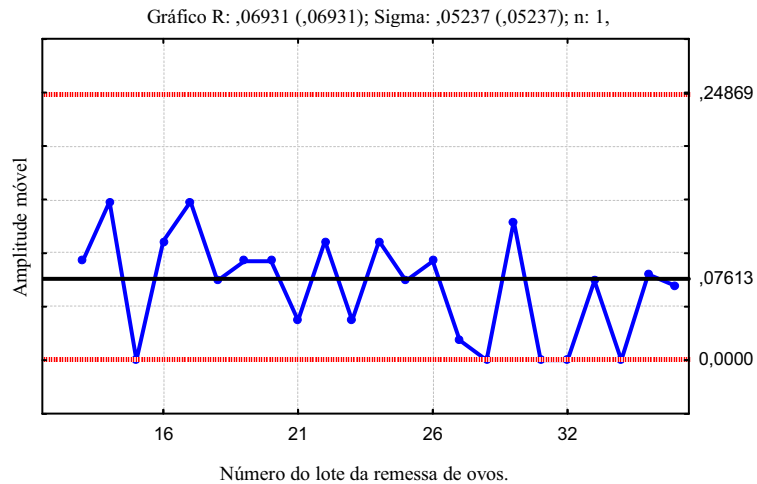


Figura 4.7 - Perdas no transporte: gráfico de controle para amplitude móvel, processo sob controle estatístico.

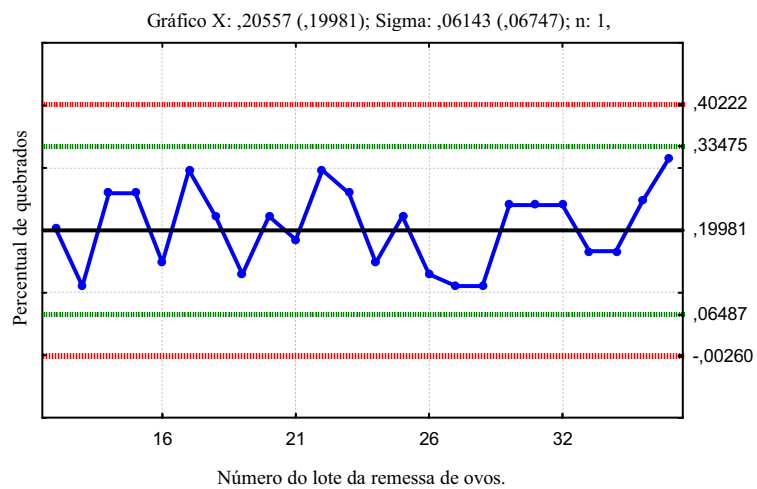


Figura 4.8 - Perdas no transporte: gráfico de controle para observações individuais, processo sob controle estatístico.

O estudo da variável "perdas no transporte" mostra que o processo está sob controle estatístico; dessa forma, foi calculada a capacidade real desse processo. Foi estabelecido pelo LAFAM, que para cada caixa de ovos (360 unidades), será aceitável como limite superior de perda, a quebra de uma unidade, que corresponde ao percentual de 0,3 % (LSE). A Figura 4.9 apresenta o resultado dessa avaliação.

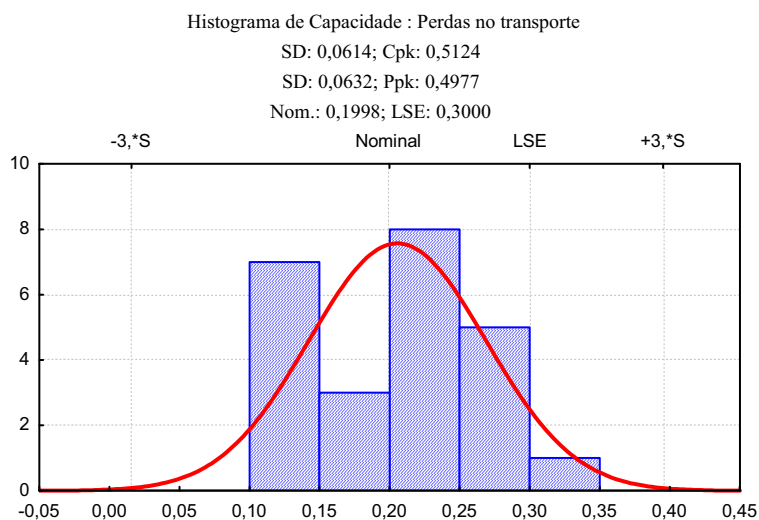


Figura 4.9 - Perdas no transporte: Histograma de Capacidade.

Pela análise da Figura 4.9 - Histograma de Capacidade, o processo de transporte de ovos (perdas) é incapaz, $Cpk = 0,51$ (valor nominal adotado = 0,1998).

4.3 - Resultados da variável "ovos não embrionados"

Este processo está descrito no Tópico 3 (item 3.2.3).

As Figuras 4.10 e 4.11 apresentam respectivamente o gráfico de controle para amplitudes móveis e o gráfico de controle para observações individuais, elaborados a partir das 26 medidas iniciais obtidas através da relação entre a quantidade de ovos recebidos e a quantidade de ovos não embrionados detectados por ovoscopia no nono dia de incubação. Estes valores estão expressos em percentuais de ovos não embrionados contidos em cada remessa, conforme se encontra na Tabela 3.2 (item: não embrionados).

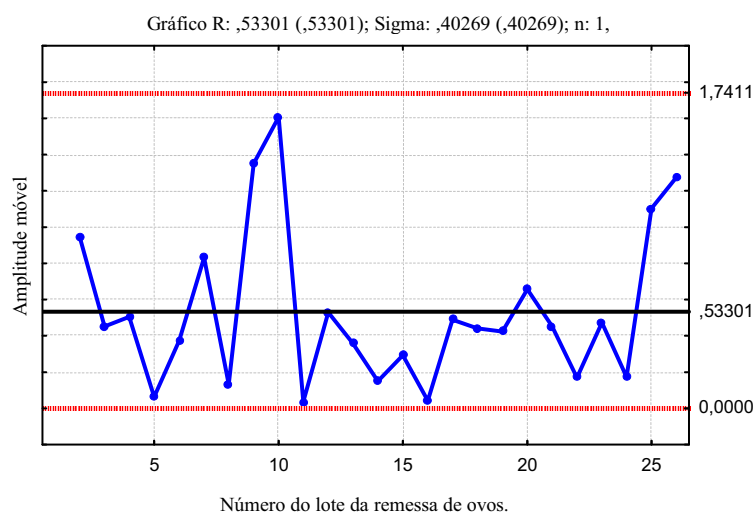


Figura 4.10 - Ovos não embrionados: gráfico de controle para amplitude móvel.

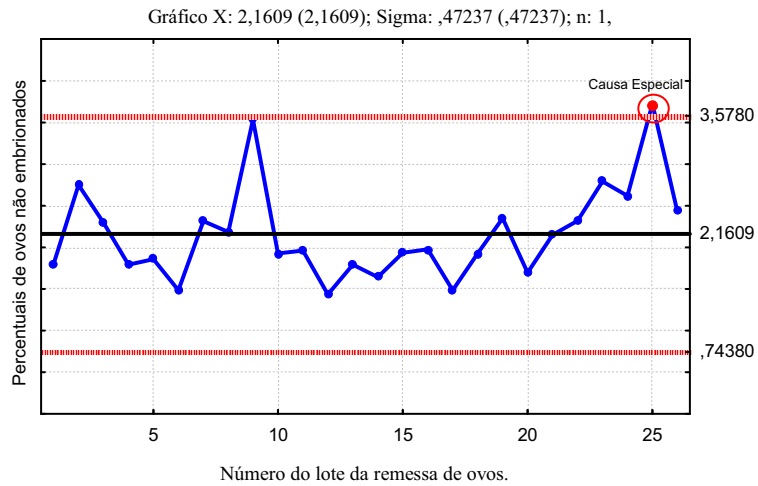


Figura 4.11 - Ovos não embrionados: gráfico de controle para observações individuais.

Avaliando a Figura 4.10 não se encontra qualquer ponto fora de controle; porém, na Figura 4.11 fica evidenciado que existe um ponto fora de controle (remessa 25).

Não é possível determinar seguramente qualquer causa especial relacionada a essa variável. Uma das causas pode ser atribuída ao processo de fertilização das galinhas.

Após a retirada da informação da remessa 25, foram obtidas as Figuras 4.12 e 4.13.

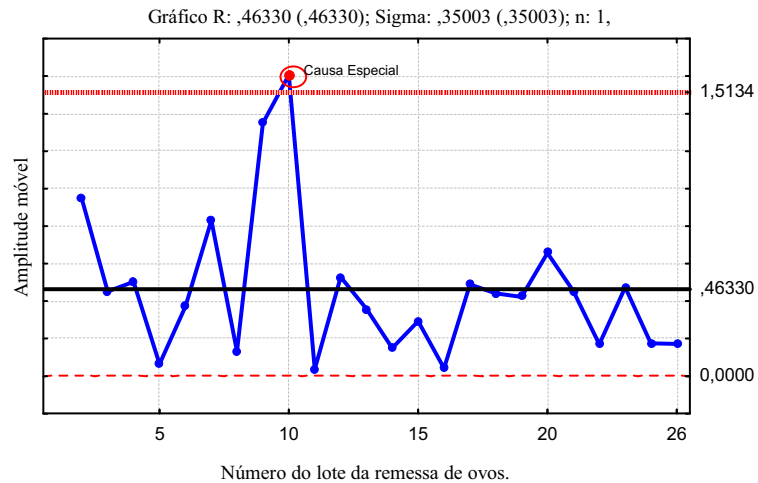


Figura 4.12 - Ovos não embrionados: gráfico de controle para amplitude móvel, causa especial referente a informação da remessa 25 removida.

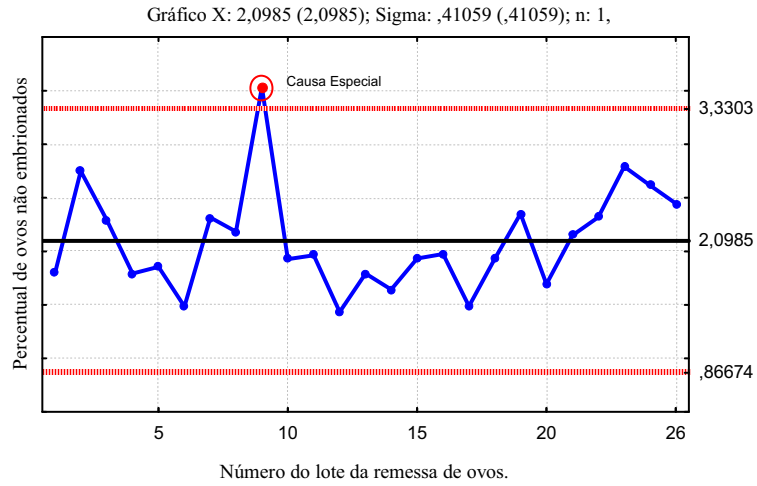


Figura 4.13 - Ovos não embrionados: gráfico de controle para observações individuais, causa especial referente a remessa 25 removida.

Observa-se que em ambas as Figuras, 4.12 e 4.13 são encontrados pontos fora dos limites de controle e, da mesma forma, não foi possível encontrar nenhuma causa especial envolvida. Optou-se também em remover as informações das remessas 9 e 10.

Após a retirada das informações das remessas 9 e 10, foram obtidas as Figuras 4.14 e 4.15.

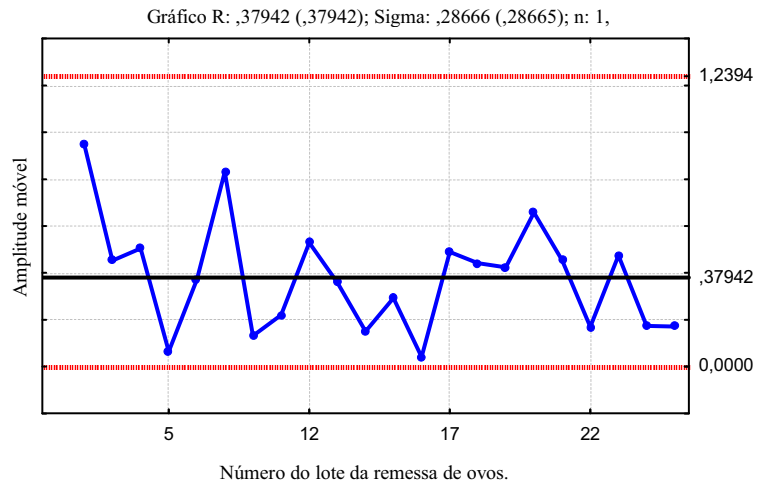


Figura 4.14 - Ovos não embrionados: gráfico de controle para amplitude móvel, causas especiais referentes as informações das remessas 9 e 10 removidas.

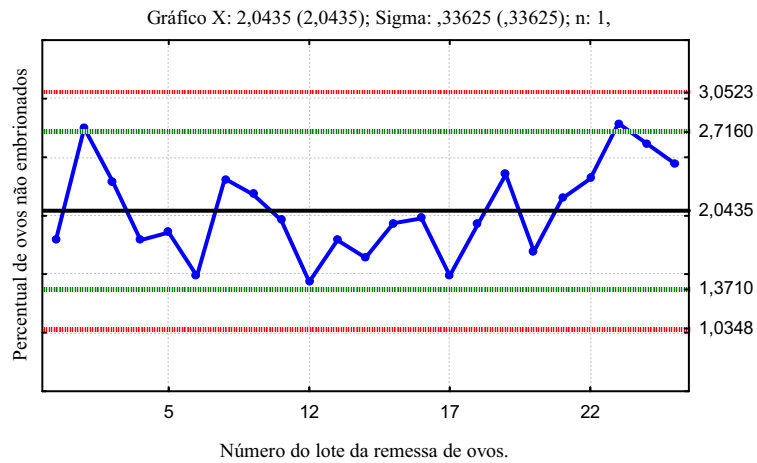


Figura 4.15 - Ovos não embrionados: gráfico de controle para observações individuais, causas especiais relativas as informações das remessas 9 e 10 removidas.

Na avaliação das Figuras 4.14 e 4.15 observa-se que não existem pontos fora dos limites de controle. Desta forma, o processo foi considerado sob controle estatístico, atendendo a todas as regras estabelecidas no Tópico 2 (item 2.14.2). Logo, os limites de controle obtidos nessa análise podem ser utilizados nas avaliações do processo (tabela 4.2).

Tabela 4.2 - Limites de Controle Para Ovos Não Embrionados.

Limites de controle	Amplitudes móveis	Observações individuais
LSC	1,2394	3,0523
LC	0,37942	2,0435
LIC	0,0000	1,0348

Foram coletadas novas informações relativas às remessas 27 a 37. Novos gráficos de controle foram feitos e são exibidos nas Figuras 4.16 e 4.17.

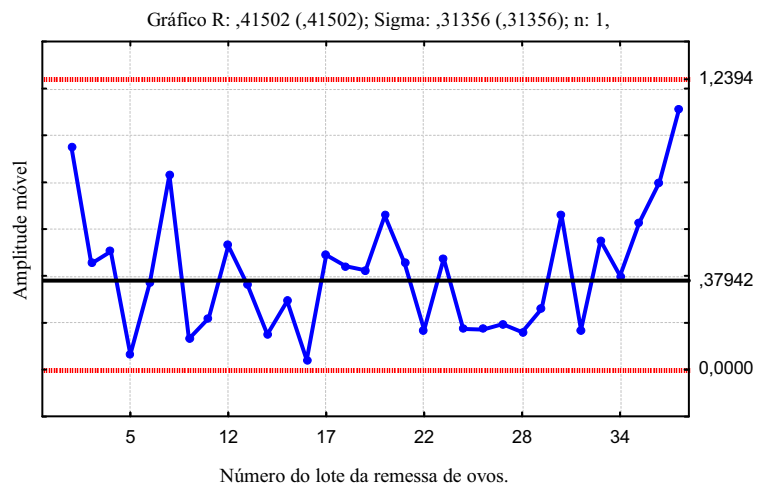


Figura 4.16 - Ovos não embrionados: gráfico de controle para amplitude móvel, processo sob controle estatístico.

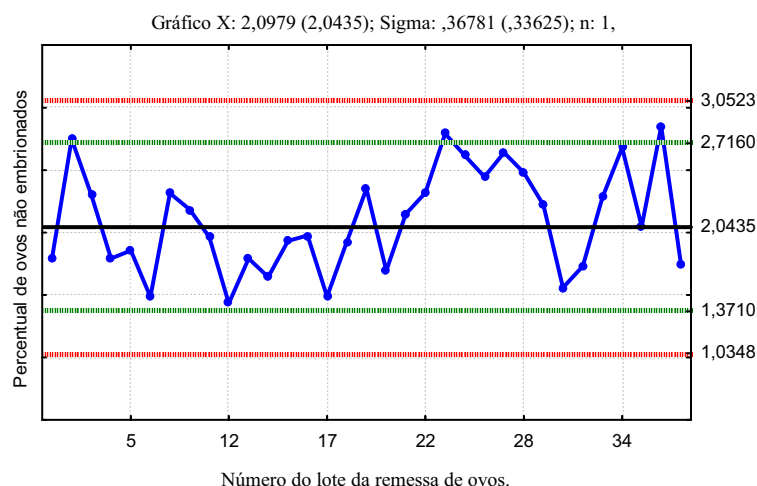


Figura 4.17 - Ovos não embrionados: gráfico de controle para observações individuais, processo sob controle estatístico.

Ao serem aplicadas as regras descritas no Tópico 2 (item 2.14.2), o critério de número 6 não foi atendido (remessas 22 a 28). Apesar disso, será considerado pelas avaliações das Figuras 4.16 e 4.17, que o processo analisado está em condições satisfatórias ou sob controle. Montgomery (2004) recomenda muito cuidado na utilização das regras sensibilizantes

Dessa forma, foi calculada a capacidade real do processo, tomando como padrão o índice de ovos não embrionados normalmente alcançados nas granjas especializadas, valores entre 3% e 4% (Macari & Gonzales, 2003). Assim foi definido pelo LAFAM o índice de 3% como sendo o percentual limite aceito (LSE). A Figura 4.18 apresenta o resultado dessa avaliação.

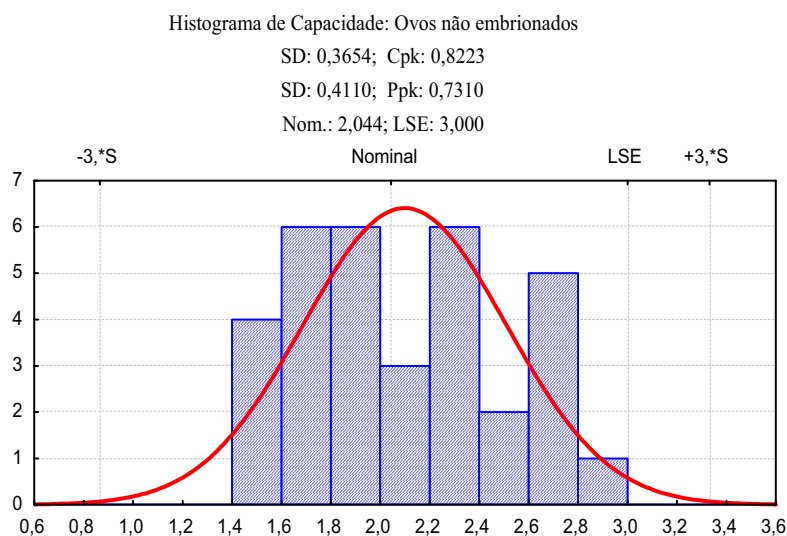


Figura 4.18 - Ovos não embrionados: Histograma de Capacidade.

Pela análise da Figura 4.18 - Histograma de Capacidade, o processo de fertilização dos ovos (ovos não embrionados), é um processo incapaz, $Cpk = 0,82$ (valor nominal = 2,044).

4.4 - Resultados da variável "embriões mortos na primeira incubação"

Este processo está descrito no Tópico 3 (itens 3.2.2 e 3.2.3).

As Figuras 4.19 e 4.20 apresentam respectivamente o gráfico de controle para amplitudes móveis e o gráfico de controle para observações individuais, elaborado a partir das 26 medidas iniciais obtidas através da relação entre a quantidade de ovos incubados e a quantidade de ovos com embriões mortos detectados por ovoscopia, após o nono dia de incubação. Esses valores estão expressos em percentuais de ovos com embriões mortos contidos em cada remessa, conforme se encontra na Tabela 3.2 (item: mortos 1ª incubação).

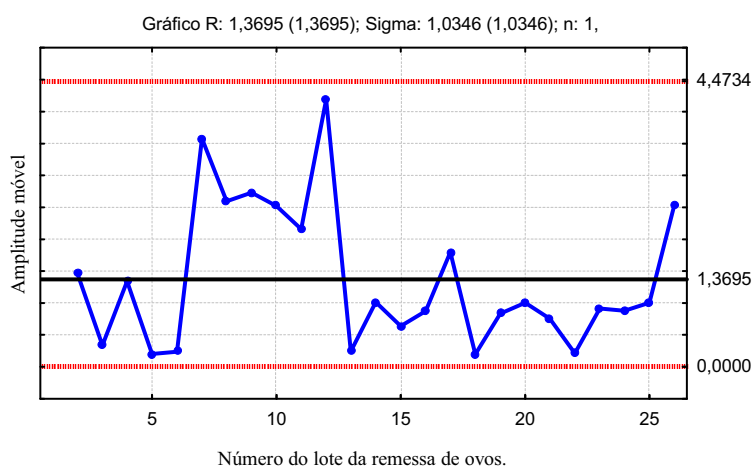


Figura 4.19 - Embriões mortos na primeira incubação: gráfico de controle para amplitude móvel.

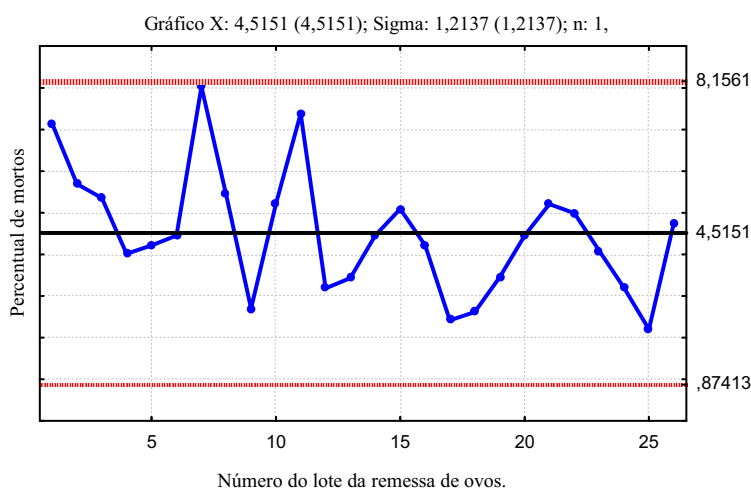


Figura 4.20 - Embriões mortos na primeira incubação: gráfico para observações individuais.

Na avaliação das Figuras 4.19 e 4.20, observa-se que não existem pontos fora dos limites de controle; dessa forma, o processo foi considerado sob controle estatístico, atendendo a todas as regras preestabelecidas no Tópico 2 (item 2.14.2). Logo, os limites de controle obtidos nessa análise podem ser utilizados nas avaliações do processo. A Tabela 4.3 foi então elaborada.

Tabela 4.3 - Limites de Controle Para Embriões Mortos na Primeira Incubação

Limites de controle	Amplitudes móveis	Observações individuais
LSC	4,4734	8,1561
LC	1,3695	4,5151
LIC	0,0000	0,87413

Foram coletadas novas informações relativas às remessas 27 a 37. Novos gráficos de controle foram feitos e são exibidos nas Figuras 4.21 e 4.22. Fica evidenciado pela avaliação dessas figuras que o processo está sob controle estatístico, atendendo integralmente aos requisitos estabelecidos no Tópico 2 (item 2.14.2).

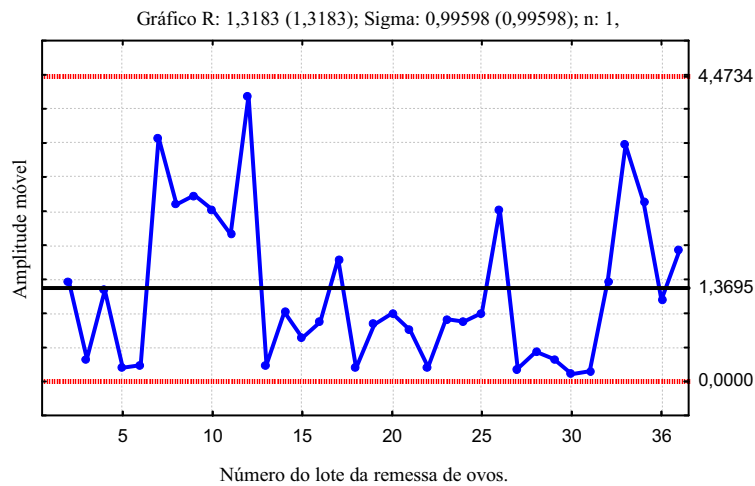


Figura 4.21 - Embriões mortos na primeira incubação: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção das informações das remessas 27 a 37.

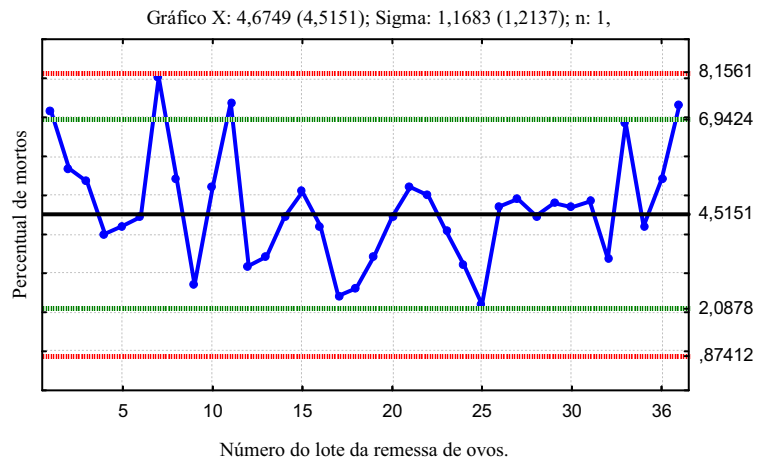


Figura 4.22 - Embrões mortos na primeira incubação: gráfico de controle para observações individuais, com inserção das informações individuais das remessas 27 a 37.

O estudo da variável "embrões mortos na primeira incubação" mostra que o processo está sob controle estatístico; dessa forma foi calculada a Capacidade real desse processo. Assim foi estabelecido pelo LAFAM que o limite máximo de perda será de 9% (LSE). A Figura 4.23 apresenta o resultado dessa avaliação.

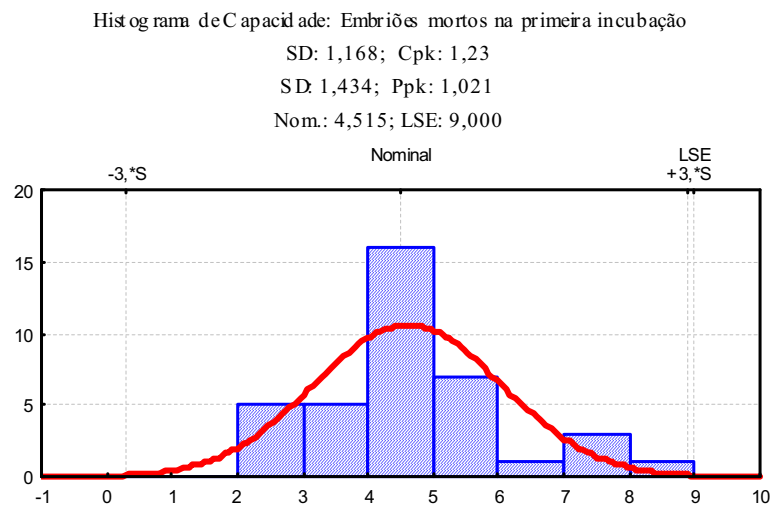


Figura 4.23 - Embrões mortos na primeira incubação: Histograma de Capacidade.

Pela análise da Figura 4.23 - Histograma da Capacidade, o processo de incubação de ovos, correspondente a variável "embrões mortos na primeira incubação" é relativamente Capaz, Cpk = 1,23 (valor nominal = 4,515).

4.5 - Resultados da variável "perdas na inoculação"

Este processo está descrito no Tópico 3 (item 3.2.4).

As Figuras 4.24 e 4.25 apresentam respectivamente o gráfico de controle para amplitudes móveis e o gráfico de controle para observações individuais, elaborados a partir das 26 informações iniciais obtidas através da relação entre a quantidade de ovos encaminhados para a inoculação e a quantidade de ovos descartados no processo de inoculação. Esses valores estão expressos em percentuais de perda contidos em cada remessa, conforme se pode apreciar na Tabela 3.2 (item: inoculação).

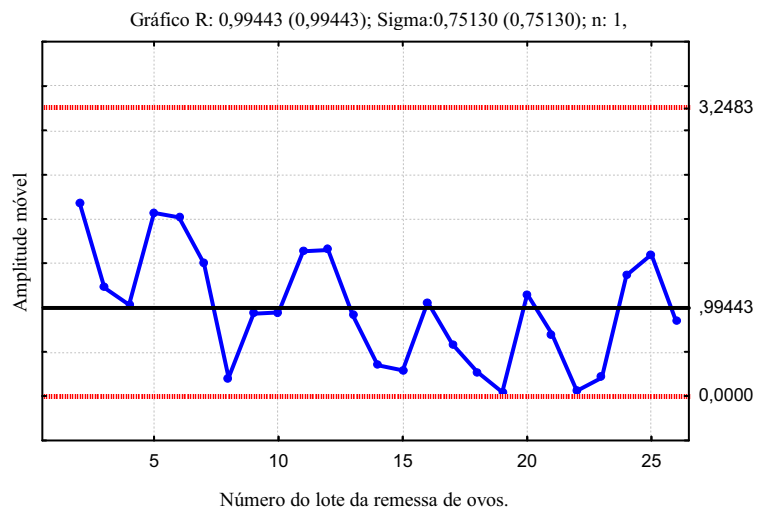


Figura 4.24 - Inoculação: gráfico de controle para amplitude móvel.

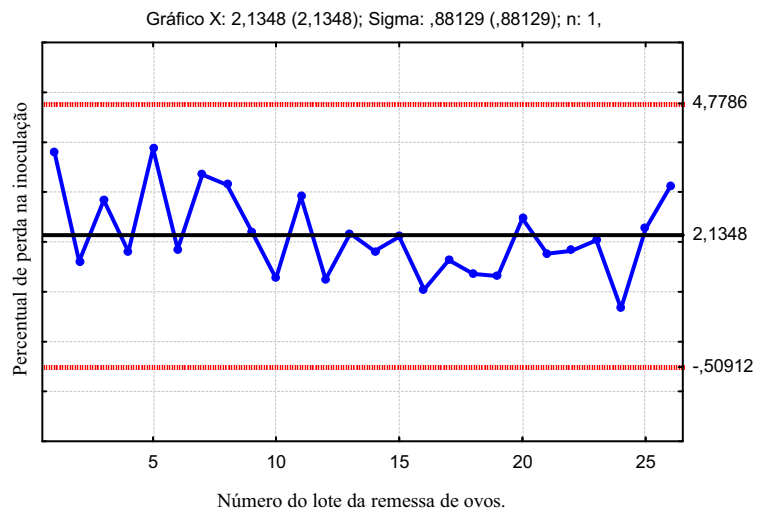


Figura 4.25 - Inoculação: gráfico de controle para observações individuais.

Na avaliação das Figuras 4.24 e 4.25, observa-se que não existem pontos fora dos limites de controle. Dessa forma, o processo foi considerado sob controle estatístico, atendendo a todas as regras preestabelecidas no Tópico 2 (item 2.14.2). Logo, os limites de controle obtidos nessa análise podem ser utilizados nas avaliações do processo. Assim, foi elaborada a Tabela 4.4.

Tabela 4.4 - Limites de Controle para Perdas no Processo de Inoculação.

Limites de controle	Amplitudes móveis	Observações individuais
LSC	3,2483	4,7786
LC	0,99443	2,1348
LIC	0,0000	-0,50912

Foram coletadas novas informações relativas às remessas 27 a 37. Novos gráficos de controle foram feitos e são exibidos nas Figuras 4.26 e 4.27. Fica evidenciado pela avaliação dessas figuras, que o processo está sob controle estatístico, atendendo integralmente aos requisitos estabelecidos no Tópico 2 (item 2.14.2).

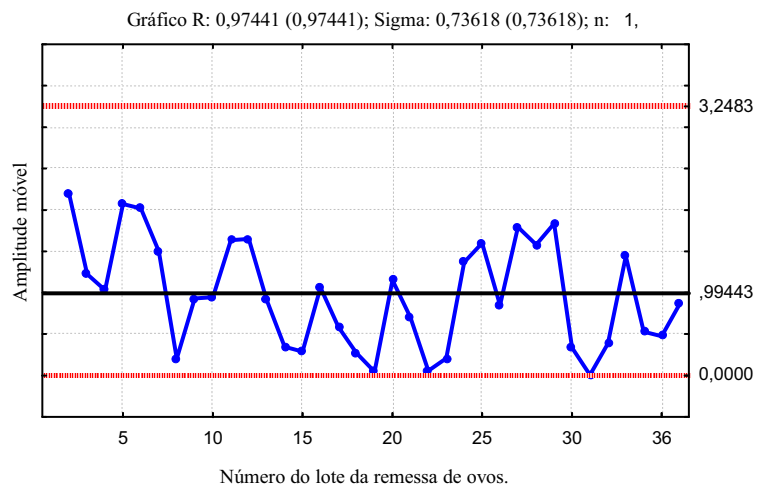


Figura 4.26 - Inoculação: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção das informações das remessas 27 a 37.

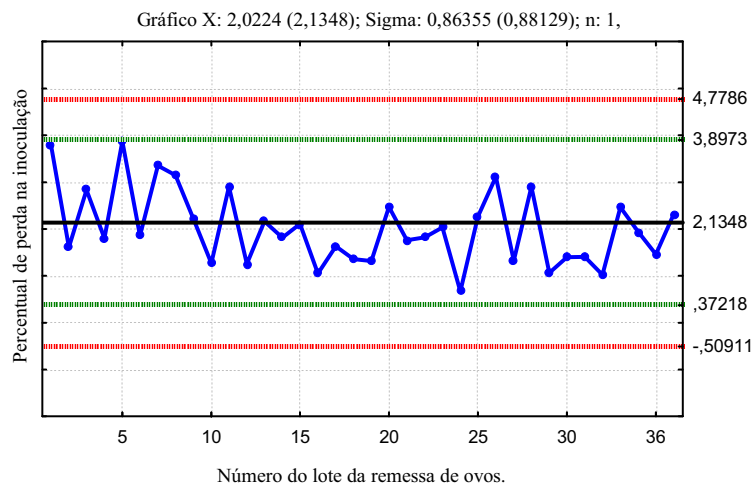


Figura 4.27 - Inoculação: gráfico de controle para observações individuais, com inserção das informações das remessas 27 a 37.

O estudo da variável "perdas na inoculação" mostra que o processo está sob controle estatístico; dessa forma, foi calculada a capacidade real do processo. Foi estabelecido pelo LAFAM que o limite máximo de perdas será de 5% (LSE). A Figura 4.28 - apresenta o resultado dessa avaliação.

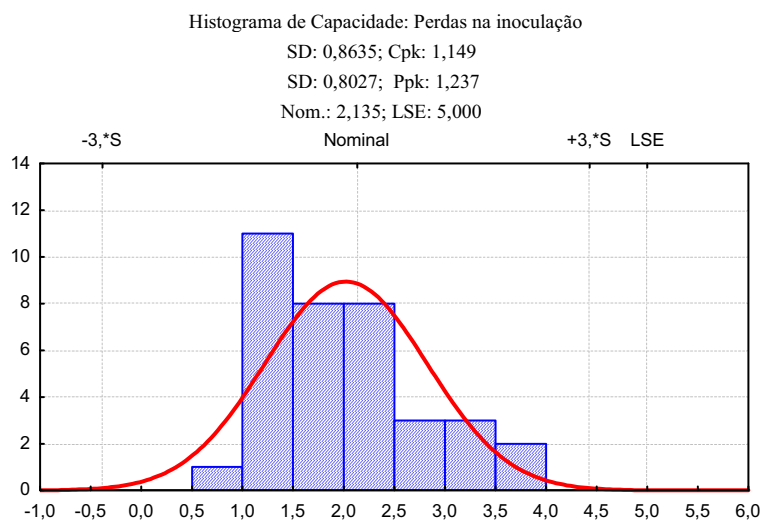


Figura 4.28 - Perdas na inoculação: Histograma de Capacidade.

Pela análise da Figura 4.28 - Histograma da Capacidade, o processo de inoculação, correspondendo a variável , perdas na inoculação é relativamente Capaz, $Cpk = 1,15$ (valor nominal = 2,135).

4.6 - Resultados da variável "embriões mortos na segunda incubação"

Este processo está descrito no Tópico 3 (Item 3.2.5).

As Figuras 4.29 e 4.30 apresentam respectivamente o gráfico de controle para amplitudes móveis e o gráfico de controle para observações individuais, elaborados a partir das 26 amostras iniciais obtidas através da relação entre a quantidade de ovos incubados pós-inoculação e a quantidade de ovos com embriões mortos detectados por ovoscopia após o décimo segundo dia de incubação. Esses valores estão expressos em percentuais de ovos com embriões mortos contidos em cada remessa, conforme se localiza na Tabela 3.2 (item: mortos 2ª incubação).

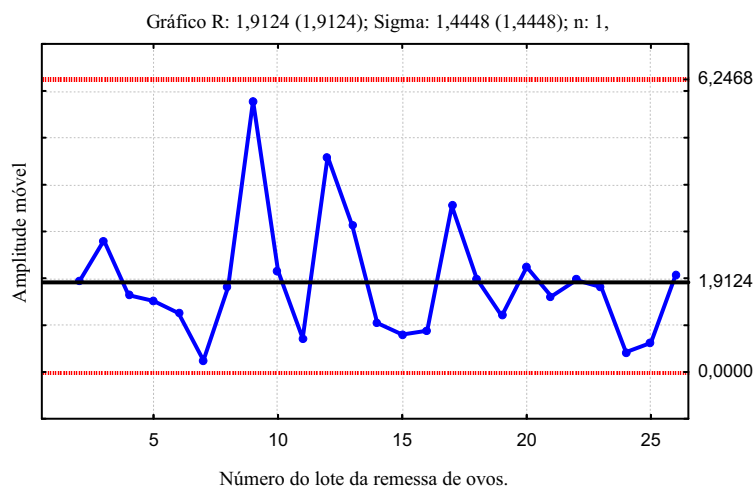


Figura 4.29 - Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para amplitude móvel.

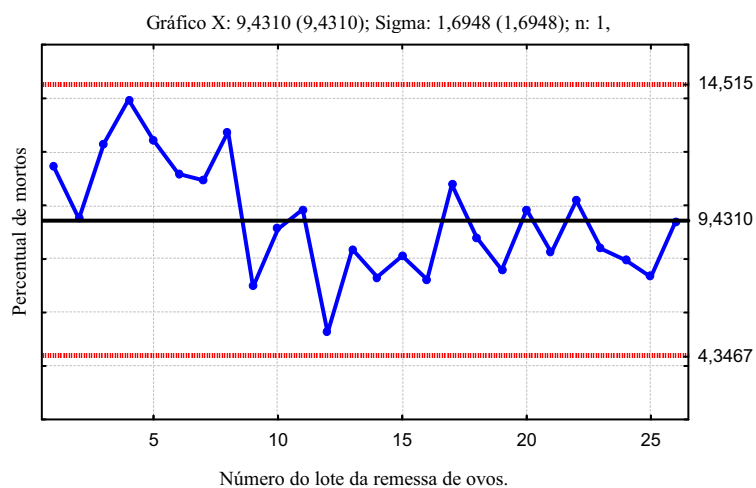


Figura 4.30 - Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para observações individuais.

Pela análise das figuras 4.29 e 4.30, observa-se que embora as amostras estejam dentro dos limites de controle, existe uma interferência no processo referente às oito primeiras remessas. Todas as informações nessa série (remessas 01 a 08) estão acima da linha média, dessa forma foi considerada a ocorrência de causa especial. Após rastreamento, identificou-se, nos dados do apêndice II (Dados referentes à origem dos ovos SPF) a existência de um fator comum pertinente a essas remessas. Esse fator é a procedência do galpão e lote das aves que realizam a postura de ovos (galpão 305, lote 0702). Após a retirada das informações referentes às remessas 01 a 08 e a remessa 11, foram inseridas as informações referentes às remessas 27 a 29. Foram obtidas as Figuras 4.31 e 4.32.

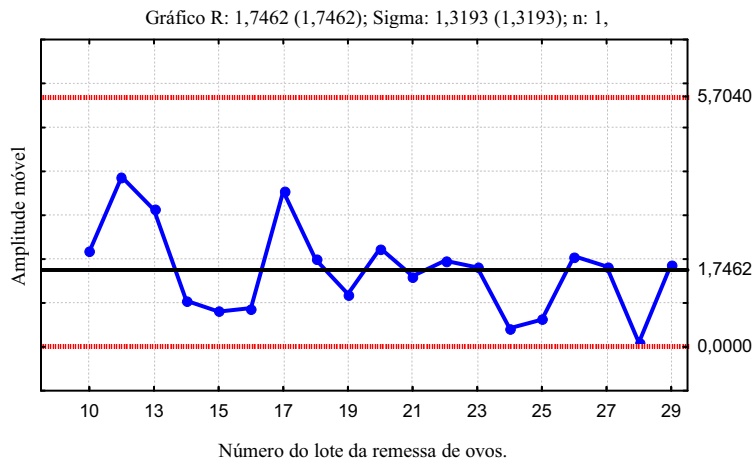


Figura 4.31 - Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para amplitude móvel, causas especiais relativas às remessas 1 a 8 e 11 removidas, e inserção das informações relativas às remessas 27 a 29.

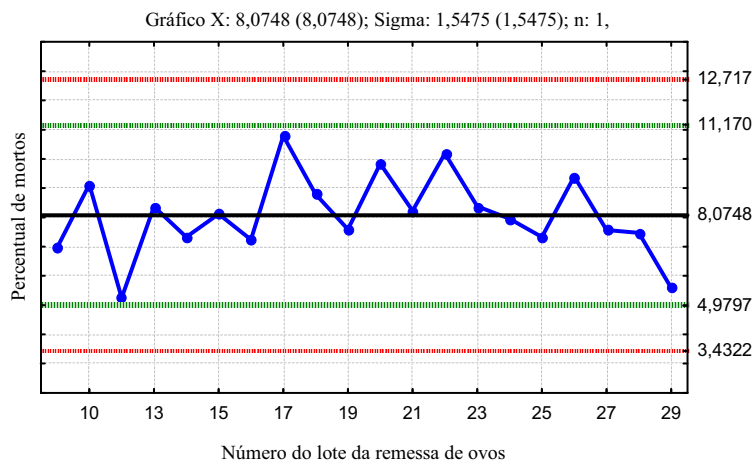


Figura 4.32 - Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para observações individuais, causas especiais relativas às remessas 1 a 8 e 11 removidas, e inserção das informações relativas às remessas 27 a 29.

Na avaliação das Figuras 4.31 e 4.32, observa-se que não existem pontos fora dos limites de controle; dessa forma, o processo foi considerado sob controle estatístico, atendendo a todas as regras estabelecidas no Tópico 2 (Item 2.12.2). Logo, os limites de

controle obtidos nesta análise podem ser utilizados nas avaliações do processo. A Tabela 4.5 foi então feita.

Tabela 4.5 - Limites de Controle para Embriões Mortos na 2^A Incubação.

Limites de controle	Amplitudes móveis	Observações individuais
LSC	5,7040	12,717
LC	1,7462	8,0748
LIC	0,0000	3,4322

Foram coletadas novas informações relativas às remessas 30 a 37. Novos gráficos de controle foram feitos e são exibidos nas Figuras 4.33 e 4.34.

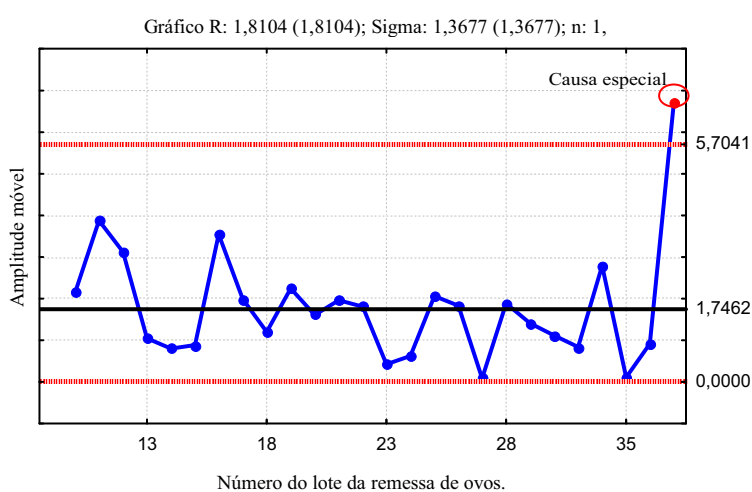


Figura 4.33 - Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção das informações referentes às remessas 30 a 37.

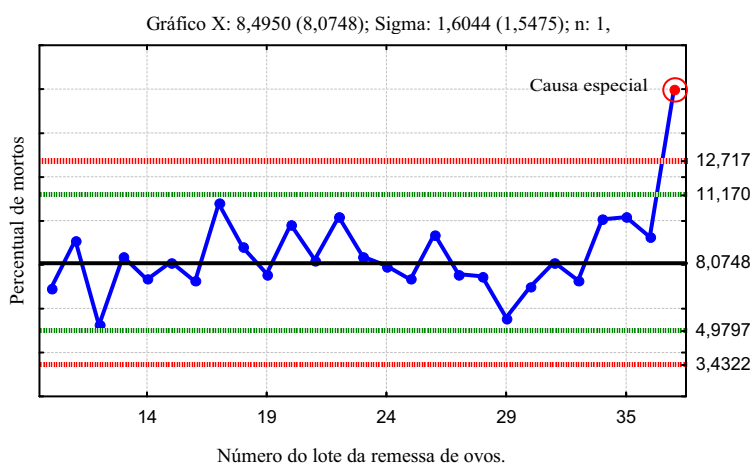


Figura 4.34 - Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para observações individuais, com inserção das informações referentes às remessas 30 a 37.

Fica evidenciado nas Figuras 4.33 e 4.34 o aparecimento de uma causa especial, referente à remessa 37, que apresentou resultado insatisfatório não atendendo integralmente aos requisitos estabelecidos no Tópico 2 (Item 2.14.2) critério número 1.

Foi pesquisada a causa e, após análise dos registros automatizados das incubadoras de ovos, nas quais o comportamento diário da temperatura e umidade é automaticamente monitorado, foi constatada uma falha no registro dos dois primeiros dias de incubação. Devido a uma oscilação momentânea no fornecimento de energia elétrica para o prédio, o sistema de monitoramento desligou; dessa forma, qualquer alteração nas variáveis, temperatura e umidade não foram registradas. Essa falha foi corrigida religando-se manualmente o equipamento. Na seqüência de monitoramento até o décimo segundo dia, não foi observado nenhuma anormalidade; as variáveis temperatura e umidade encontravam-se dentro das especificações estabelecidas. Dessa forma não foi possível confirmar a ocorrência de falhas na fase inicial do processo.

Removendo-se o ponto referente a essa remessa, constata-se que o processo encontra-se sob controle estatístico, Figuras 4.35 e 4.36.

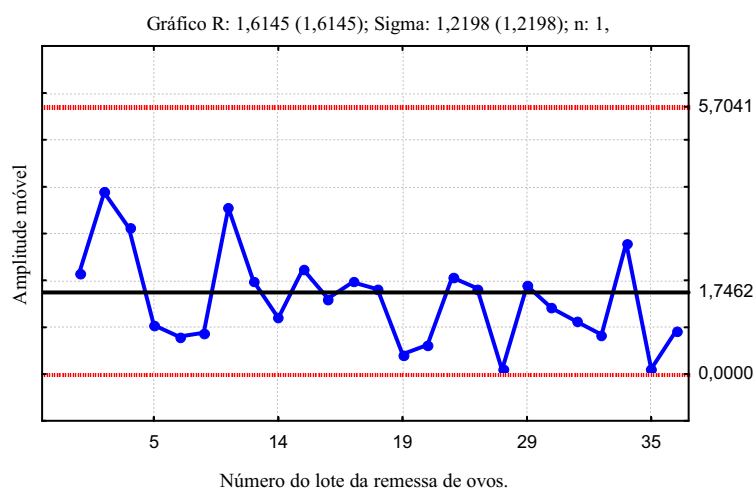


Figura 4.35 - Embrões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para amplitude móvel, processo sob controle estatístico.

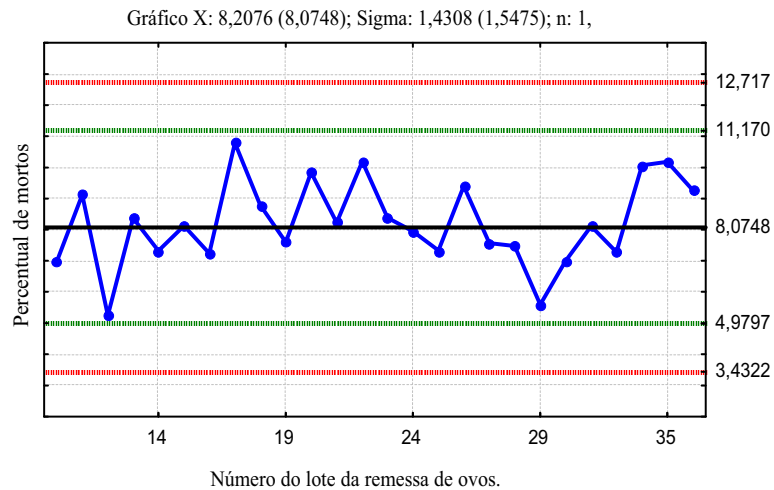


Figura 4.36 - Embriões mortos na segunda incubação: gráfico de controle para observações individuais, processo sob controle estatístico.

O estudo da variável "embriões mortos na segunda incubação" mostra que o processo está sob controle estatístico, dessa forma foi calculada a capacidade real do processo. Foi estabelecido pelo LAFAM, que o limite percentual de perda neste processo será de 14% (LSE). A Figura 4.37 apresenta o resultado dessa avaliação.

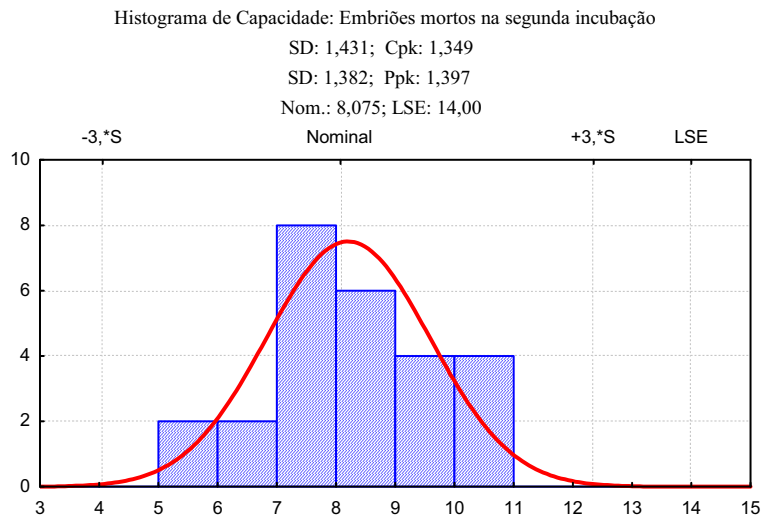


Figura 4.37 - Embriões mortos na segunda incubação: Histograma de capacidade.

Pela análise da Figura 4.37 - Histograma da Capacidade, o processo de incubação de ovos, correspondente a variável, embriões mortos na segunda fase de incubação, é Capaz, $Cpk = 1,35$ (valor nominal = 8,075).

4.6 - Resultados da variável "perdas na coleta de embriões"

Este processo está descrito no Tópico 3 (item 3.2.6)

As Figuras 4.38 e 4.39 apresentam respectivamente o gráfico de controle para amplitudes móveis e o gráfico de controle para observações individuais, elaborado a partir das 26 medidas iniciais obtidas através da relação entre a quantidade de ovos encaminhados para a coleta de embriões e a quantidade de ovos descartados no processo de coleta, esses valores estão expressos em percentuais de perda contidos em cada remessa, conforme a Tabela 3.2 (item: coleta).

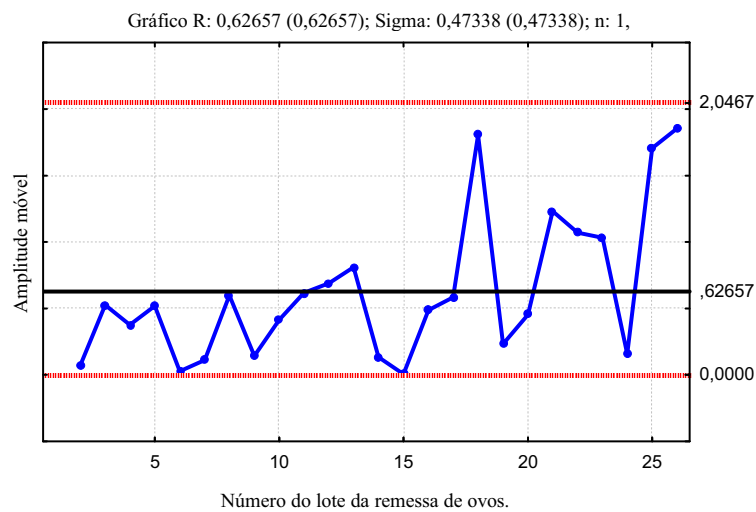


Figura 4.38 - Coleta de embriões: gráfico de controle para amplitude móvel.

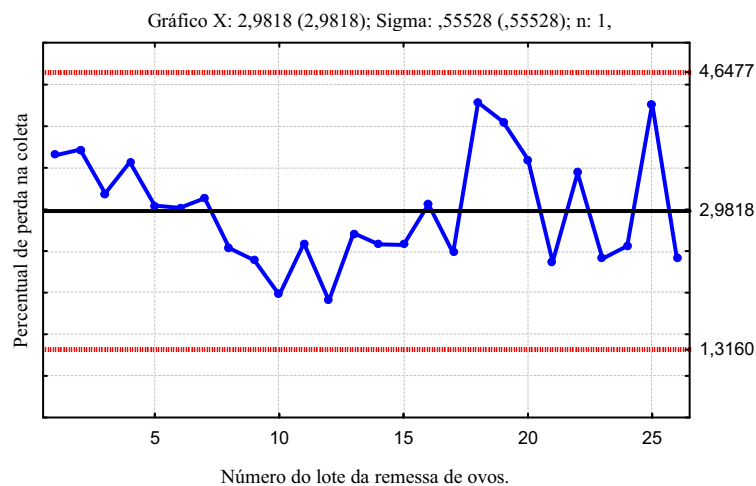


Figura 4.39 - Coleta de embriões: gráfico de controle para observações individuais.

Na avaliação das Figuras 4.38 e 4.39 observa-se que não existem pontos fora dos limites de controle. Portanto o processo foi considerado sob controle estatístico, atendendo a todas as regras estabelecidas no Tópico 2 (item 2.14.2). Logo os limites de controle obtidos

nesta análise podem ser utilizados nas avaliações do processo. A Tabela 4.6 foi, por conseguinte, escrita.

Tabela 4.6 - Limites de Controle para Perdas no Processo de Coleta.

Limites de controle	Amplitudes móveis	Observações individuais
LSC	2,0467	4,6477
LC	0,62657	2,9818
LIC	0,0000	1,3160

Foram coletadas novas informações relativas às remessas 27 a 37. Novos gráficos de controle foram feitos e são exibidos nas Figuras 4.40 e 4.41.

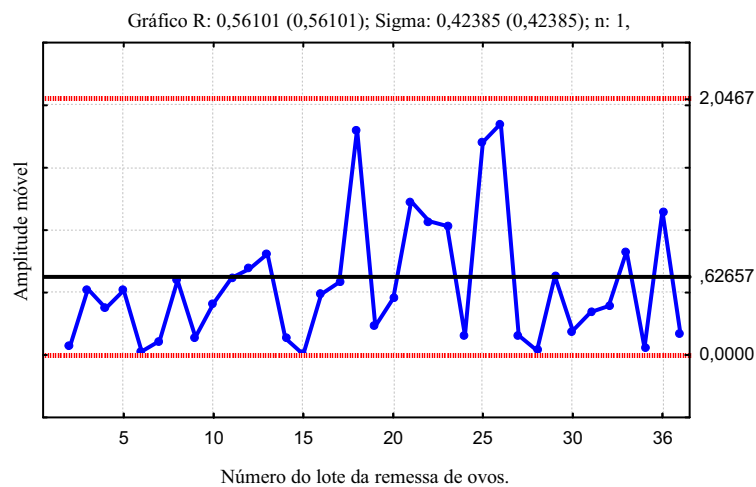


Figura 4.40 - Coleta de embriões: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção das informações das remessas 27 a 37.

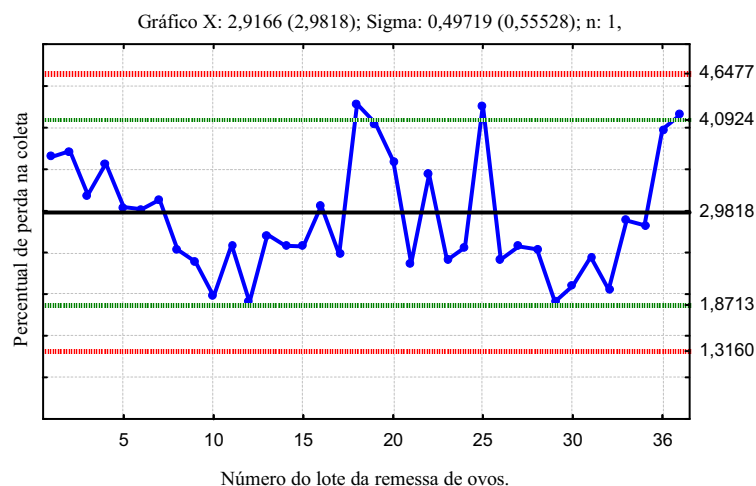


Figura 4.41 - Coleta de embriões - gráfico de controle para observações individuais, com inserção das informações referentes às remessas 27 a 37.

Embora o critério 2 (item 2.14.2) não tenha sido atendido (remessas 26 a 34), considera-se pelas Figuras 4.40 e 4.41, que o processo de coleta, referente ao percentual de

perda, está em condições satisfatórias ou sob controle estatístico. Montgomery (2004) aconselha ter cuidado na utilização indiscriminada das regras sensibilizantes, à medida em que essas regras suplementares são aplicadas nos gráficos, maior é a dificuldade do processo de decisão.

O estudo da variável perda na coleta de embriões mostra que o processo foi considerado sob controle estatístico; assim, foi calculada a capacidade real desse processo. Foi estabelecido pelo LAFAM que o percentual de perda máxima será de 5% (LSE). A Figura 4.42, Coleta de embriões - Histograma de Capacidade, apresenta o resultado dessa avaliação.

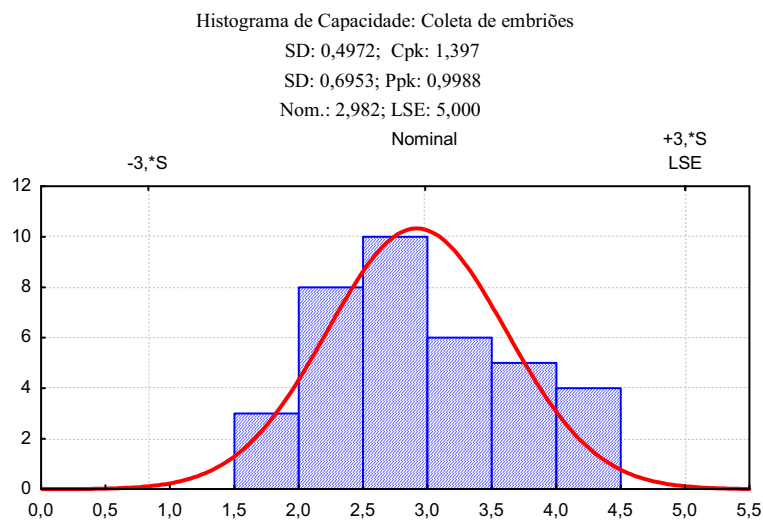


Figura 4.42 - Coleta de embriões - Histograma de Capacidade

Pela análise da Figura 4.42 - Histograma da Capacidade, o processo de coleta de embriões, correspondendo a variável perda no processo de coleta, é Capaz, $Cpk = 1,40$ (valor nominal = 2.982).

4.7 - Resultados da variável "rendimento na coleta de embriões"

As Figuras 4.43 e 4.44 apresentam respectivamente o gráfico de controle para amplitudes móveis e o gráfico de controle para observações individuais, elaborados a partir das 26 medidas iniciais obtidas através da relação entre o número de embriões coletados e o volume em mL de suspensão viral obtida. Esses valores estão expressos em percentuais e são calculados para cada remessa, estando arrumados na Tabela 3.2 (item: rendimento).

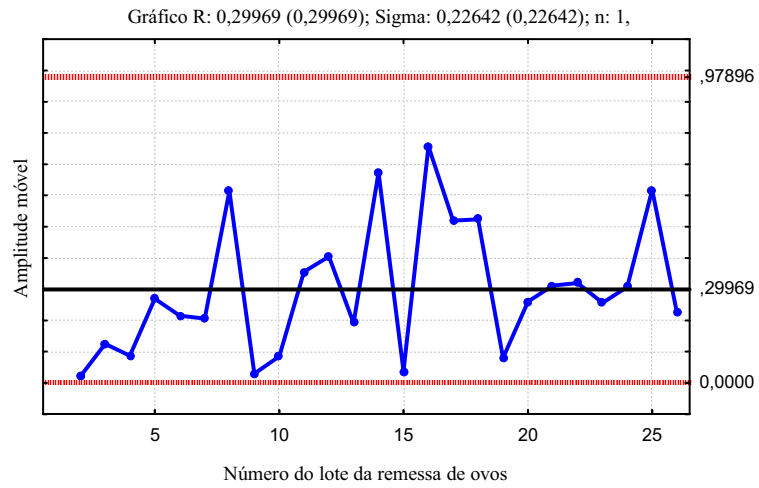


Figura 4.43 - Rendimento na coleta de embriões: gráfico de controle para amplitude móvel

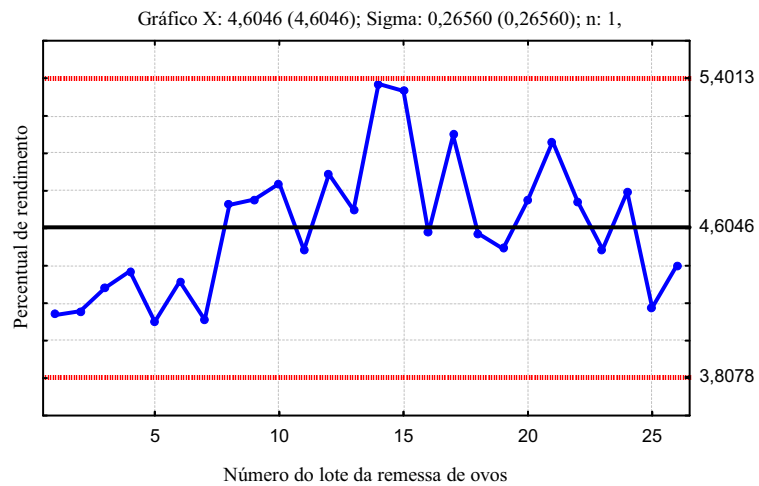


Figura 4.44 - Rendimento no processo de coleta de embriões: gráfico de controle para observações individuais

Na avaliação das Figuras 4.43 e 4.44, observa-se que não existem pontos fora dos limites de controle, porém o processo não foi considerado sob controle estatístico, pois não está atendendo aos requisitos estabelecidos no Tópico 2 (item 2.14.2 - critério 5, medida 13 a 15 e critério 6, medidas 1 a 5). Logo, considerando apenas a condição de não existirem pontos fora dos limites de controle, nesta análise, esses pontos foram utilizados nas avaliações do processo.

Mais uma vez, isto é baseado no fato de que Montgomery (2004) aconselha a ter muito cuidado com a utilização das regras sensibilizantes. A Tabela 4.7 foi então elaborada.

Tabela 4.7 - Limites de Controle Para o Rendimento do Processo.

Limites de controle	Amplitudes móveis	Observações individuais
LSC	0,97896	5,4014
LC	0,29969	4,6046
LIC	0,0000	3,8078

Foram coletadas novas informações relativas às remessas 27 a 37. Novos gráficos de controle foram feitos e são exibidos nas Figuras 4.45 e 4.46.

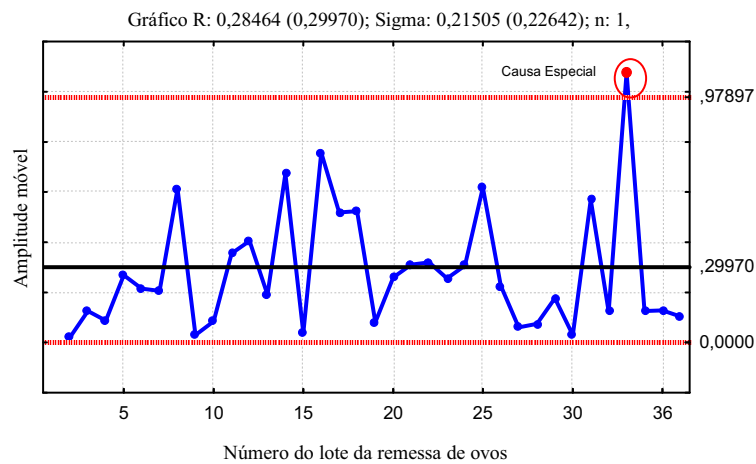


Figura 4.45 - Rendimento no processo de coleta de embriões: gráfico de controle para amplitude móvel, com inserção das informações referentes às remessas 27 a 37

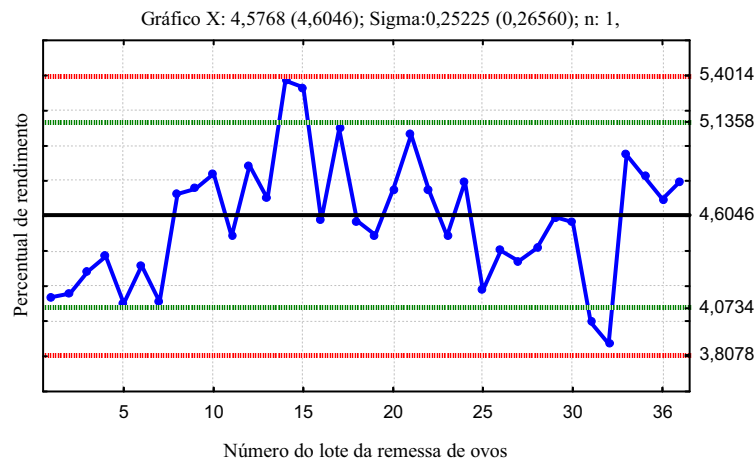


Figura 4.46 - Rendimento no processo de coleta de embriões: gráfico de controle para observações individuais, com inserção das informações referentes às remessas 27 a 37

Na avaliação da Figura 4.45, gráfico de amplitude móvel, observa-se um ponto fora de controle (remessa 34). Nenhuma causa especial foi detectada para justificar o fato. Em relação à Figura 4.46, gráfico de controle para observações individuais, nenhum ponto ficou fora dos limites estabelecidos (Esta etapa do processo foi considerada fora de controle).

A Tabela 4.8 resume os resultados da capacidade dos processos estudados.

Tabela 4.8 - Resultados dos Estudos da Capacidade dos Processos

Variáveis	Valor nominal	LSE	Cpk	Comentários
Perda de ovos no transporte (1)	0,1998	0,300	0,51	Processo incapaz
Ovos não embrionados (2)	2,044	3,000	0,82	Processo incapaz
Embriões mortos na 1ª incubação (3)	4,515	9,000	1,23	Processo relativamente capaz
Perda de ovos na inoculação (4)	2,135	5,000	1,15	Processo relativamente capaz
Embriões mortos na 2ª incubação (5)	8,075	14,000	1,35	Processo capaz
Perda na coleta de embriões (6)	2,982	5,000	1,40	Processo capaz

5. CONCLUSÕES

5.1 - Conclusões

Os resultados apresentados demonstraram a importância da utilização do CEP nos processos de produção da SV, destinada à fabricação da vacina contra febre amarela.

Apesar de produzida no Brasil há mais de 60 anos, este foi o primeiro trabalho que utilizou recursos estatísticos em dados produzidos pelos processos. A implantação desta ferramenta mostrou-se oportuna e trará como conseqüência principal o aumento da qualidade do produto, vindo de encontro ao modelo de política adotado pela alta direção de Bio-Manguinhos.

O conhecimento adquirido possibilitou também a atuação dos técnicos e gerentes, diretamente nas condições desfavoráveis evidenciadas pelo CEP.

Foram identificadas falhas no transporte de ovos, as análises dos gráficos de controle dessa variável demonstraram de forma indiscutível a necessidade da manutenção do caminhão frigorífico, como meio de transporte adequado.

Em relação à fertilidade dos ovos, as observações dos resultados dos gráficos de controle indicaram que o nível de controle atual não compromete as outras fases do processo.

Os processos que envolvem equipamentos de incubação de ovos (primeira e segunda incubações) embora estejam estatisticamente sob controle, merecem um estudo mais detalhado nas condições operacionais de seu funcionamento .

As perdas nos processos de inoculação de ovos e coleta de embriões podem ser reduzidas. A intensificação do treinamento dos técnicos envolvidos será realizada.

Em relação ao rendimento do processo de coleta de embriões, apresenta-se fora de controle estatístico. Será necessário aumentar os esforços para mudar seu *status*, porque um conjunto de variáveis pode estar atuando de forma combinada, como por exemplo: qualidade dos ovos, tempo e temperatura de armazenagem ou incubação.

Outra análise importante realizada foi o estudo da capacidade do processo. Em virtude da ausência de limites preestabelecidos, a maioria dos limites de especificação foi definida pelo LAFAM. Os resultados foram comentados no Tópico 4 e serão reavaliados a cada trimestre.

O uso das cartas de controle para monitoramento e controle dos processos em 2005 continuam detectando a ocorrência de causas especiais.

5.2 - Sugestões

Os processos de incubações de ovos (as duas fases) equivalem a maior perda proporcional entre os processos estudados (12,6%). O ataque a essa perda pode representar uma economia substancial do processo. Sugerem-se algumas medidas para reduzir essa perda.

A primeira sugestão é a substituição do sistema de umidificação das incubadoras de ovos, esta mudança seria efetuada apenas em uma das unidades de incubação. Após as avaliações favoráveis, os demais equipamentos seriam também modificados, o resultado dessa modificação tende a proporcionar uma redução das perdas, conseqüentemente, um aumento do volume produzido.

Outra sugestão é a instalação de protetores de rede no sistema de monitoramento da incubadoras, fato que eliminará os problemas de interrupção de energia elétrica, responsáveis pelo desligamento da central de controle e conseqüentemente, pela paralisação do rastreamento das informações necessárias ao gerenciamento do processo.

As perdas nos processos de inoculação e coleta estão, em sua maior parte, relacionadas a utilização do maçarico (butano/oxi-acetileno). A alternativa que deve ser estudada é a utilização da tecnologia laser nessas atividades.

Apêndice I – Gráficos da Distribuição Normal referente aos processos de produção.

Os testes de Kolmogorov-Smirnov indicaram que todos os processos possuem distribuição Normal (K-S, $p > 0,20$).

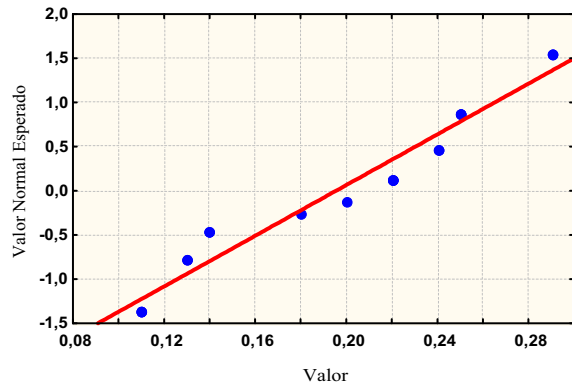


Figura AI.1 - Gráfico da Probabilidade Normal no Transporte

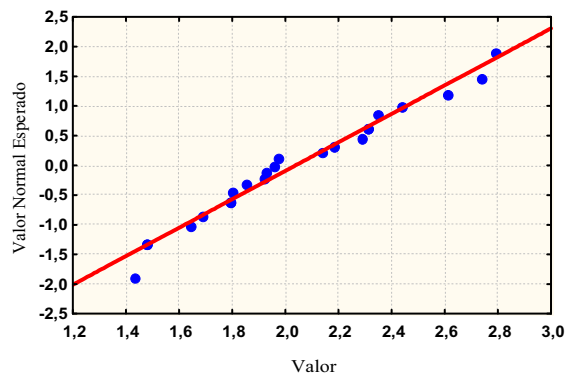


Figura AI.2 - Gráfico da Probabilidade Normal para Ovos Não Embrionados.

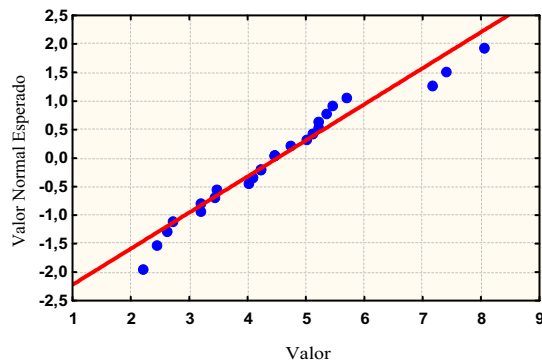


Figura AI.3 - Gráfico da Probabilidade Normal Embrões Mortos 1ª Incubação.

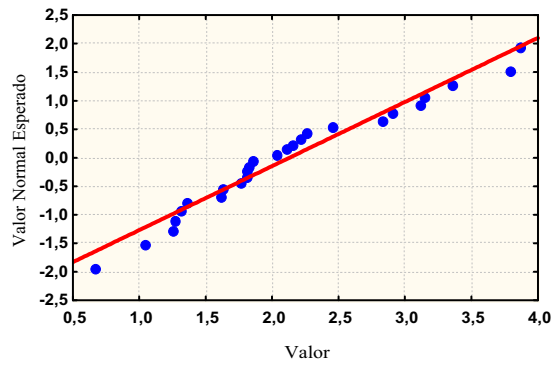


Figura AI.4 - Gráfico da Probabilidade Normal da Inoculação de Ovos Embrionados

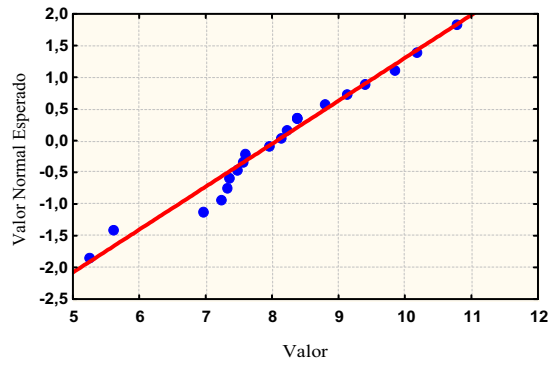


Figura AI.5 - Gráfico da Probabilidade Normal para Embriões Mortos 2ª Incubação.

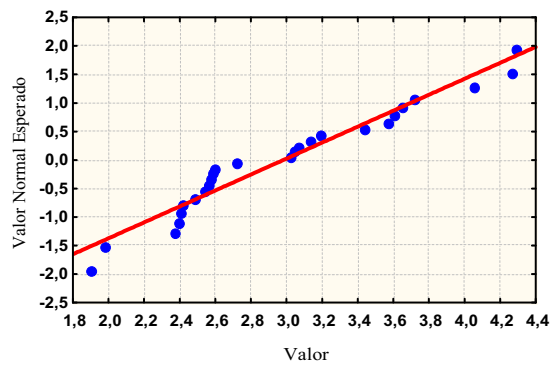


Figura AI.6 - Gráfico da Probabilidade Normal Coleta de Embriões.

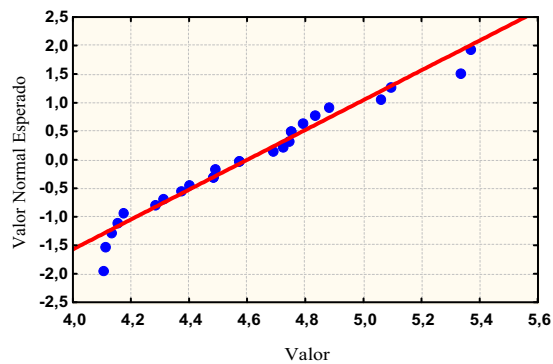


Figura AI.7 - Gráfico da Probabilidade Normal Rendimento na Coleta de Embriões.

Apêndice II - Dados referentes a origem dos ovos SPF

Remessa	Galpão	Lote
1	305	0702
2	302-305	0203 - 0702
3	302-305	0203 - 0702
4	302-305	0203 - 0702
5	302-305	0203 - 0702
6	302-305	0203 - 0702
7	305	0702
8	305	0203 - 0702
9	302	0203
10	302	0203
11	302	0203 - 0702
12	302	0203
13	302	0203
14	302	0203
15	302	0203
16	302	0203
17	302	0203
18	302	0203
19	302	0203
20	302	0203
21	302	0203
22	302	0203
23	306	0303
24	306	0303
25	306	0303
26	306	0303
27	306	0303
28	306	0303
29	306	0303
30	306	0303
31	306	0303
32	306	0303
33	306	0303
34	306	0203
35	302	0203
36	302	0203
37	302	0203

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, IMT. CONTROLE ESTATÍSTICO DE PROCESSO: O CASO DA PRODUÇÃO DA VACINA CONTRA HÆMOPHILLUS INFLUENZA TIPO B-HIB. Rio de Janeiro; 2005. Mestrado [Dissertação em Tecnologia de Imunobiológicos] - IOC/Bio-Manguinhos.
- Amaral R, Tauil PL. Duas ameaças de um mosquito: febre amarela e dengue. A Saúde no Brasil, v.1, n.4, out / dez;1983.
- Aragão HB. Report upon some researches on Yellow Fever. Mem.Inst.Oswaldo Cruz ; Supl. 2: 25-46; 1928.
- Benchimol JL. Febre amarela: A doença e a vacina, uma história inacabada. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ; 2001.
- Bica NA. Desenvolvimento da cepa 17D e requisitos para produção da vacina contra a febre amarela. In: Cinqüentenário da Introdução da cepa17D no Brasil p. 155-167; 1988
- Bio-Manguinhos. Manual de Política de Recursos Humanos de Bio-Manguinhos. Rio de Janeiro; 2004.
- Box GEP, Luceno A. Statistical Control by Monitoring and Feedback Adjustment. New York: John Wiley & Sons; 1997.
- Box GEP, Coleman DE, Baxley Jr RV. A Comparison of Statistical Process Control. Journal of Quality Technology. USA: ASQS, v.29, n2; 1977.
- Brès P. A century of progress in combating yellow fever. Bull. WHO 64: 775-786; 1986.
- Campos VF. TQC - Controle da Qualidade Total: no estilo japonês. 4^a ed. Rio de Janeiro: Bloch Editores S.A; 1994a.
- Chambers TJ, Hahn CS, Galler R, Rice CM. Flavivirus genome organization, expression, and replication. Annual Reviews of Microbiology 44: 649-688; 1990.
- Davenport TH. Reengenharia de Processos. Rio de Janeiro: Campus; 1994.
- Feigenbaum AV. Controle de Qualidade Total. São Paulo: Makron Books; 1994.
- Fox JP, Kossobudzki SL, Cunha JF. Field Studies on the Immune Response to 17D Yellow Fever Virus. Relation to virus substrain, dose and route of inoculation. The American Journal of Hygiene 38:113-138; 1943
- Franco O. História da febre amarela no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde/departamento Nacional de Endemias Rurais, DNERu / Divisão de Cooperação e Divulgação; 1969.
- Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Manual de Vigilância Epidemiológica de Febre Amarela. Brasília: Ministério da Saúde; 1999.

Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Boletim Epidemiológico. Brasília: Ministério da Saúde; 1988.

Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Situação da Prevenção e Controle das Doenças Transmissíveis no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2002.

Galler R, Pugachev KV, Santos CLS, Ochran SW, Jabor AV, Rodrigues SG, Marchevsky RS, Freire MS, Almeida LFC, Cruz ACR, Yamamura AMY, Rocco IM, Rosa EST, Souza LTM, Vasconcelos PFC, Guirakhoo F, Monath TP. Phenotypic and molecular analyses of yellow fever 17DD vaccine viruses associated with serious adverse events in Brazil. *Virology* 290: 309-319; 2001.

Galuch L. MODELO PARA IMPLANTAÇÃO DAS FERRAMENTAS BÁSICAS DO CONTROLE ESTATÍSTICO DO PROCESSO - CEP EM PEQUENAS EMPRESAS MANUFATUREIRAS. Florianópolis; 2002. Mestrado [Dissertação em Engenharia de Produção] - UFSC.

Gonzales E, Cesario MD. Biologia das Aves. Desenvolvimento embrionário. In: Macari M, Gonzales E. Manejo da Incubação 2ª ed. Campinas: Fundação Apinco de ciência e tecnologia avícolas (FACTA); 2003.

Graça Jr JC. O CEP acaba com as variações? Revista Controle da Qualidade. São Paulo; ed. Bannas; 1996.

Homma, A. Desenvolvimento e Produção da Vacina contra a Febre Amarela no Brasil. In: Anais das Perspectivas Tecnológicas em Saúde: os desafios da leishmaniose e da febre amarela, 10 e 11 de maio de 2001. Rio de Janeiro, Brasil. Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz: 108 - 124; 2002.

Juran JM. Juran Na Liderança pela Qualidade. 2ª ed. São Paulo. Livraria editora Pioneira; 1993.

Juran JM. Juran Planejando para a Qualidade. 3ª ed. São Paulo. Livraria editora Pioneira; 1995.

Kruif, P. Caçadores de Micróbios. 5ª edição. Rio de Janeiro. Livraria Editora José Olympio; 1956.

Lopes OS, Guimarães DAS, Carvalho R. Studies on yellow fever vaccine III - Dose response in volunteers. *Jour. Biol. Standard.* 16:77-82; 1988.

Loyd W, Theiler M, Ricci NI. Modification of virulence of yellow fever virus by cultivation in tissues in vitro. *Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg* 29: 481-529; 1936.

Macari M, Gonzales E. Manejo da Incubação. 2ª ed. Campinas: Fundação Apinco de ciência e tecnologia avícolas (FACTA); 2003.

Manual de Vigilância Epidemiológica de Febre Amarela. Brasília: Ministério da Saúde; 1988.

Marchevsky RS, Freire MS, Coutinho ESF, Galler R. Neurovirulence of yellow fever 17DD vaccine virus to rhesus monkeys. *Virology* 316: 55-63; 2003.

Martin M, Tsai TF, Cropp B, Chang GJ, Holmes DA, Tseng J, Shieh W, Zaki SR, Al-Sanouri I, Cutrona AF, Ray G, Weld LH, Cetron MS. Fever and multisystem organ failure associated with 17D-204 yellow fever vaccination: a report of four cases. *The Lancet* 358: 98-104; 2001

Monath TP. Yellow fever. In: Plotkin S, Orensteun WA, eds. *Vaccines*. 3rd edn. Philadelphia: WB Saunders, 815-80; 1999.

Montgomery, D.C. *Introdução ao Controle Estatístico da Qualidade*. 4^a ed. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A; 2004.

Nascimento VP, Salle CTP. *Biologia das Aves. O ovo*. In: Macari M, Gonzales E. *Manejo da Incubação* 2^a ed. Campinas: Fundação Apinco de ciência e tecnologia avícolas (FACTA); 2003.

Nicolau AR. Febre Amarela - Vacinas utilizadas na sua prevenção. I Congresso Panamericano de Medicina Militar: Simpósio sobre "Vacinações nas coletividades militares, outubro de 1965. Rio de Janeiro, Brasil: 161-164; 1965.

Nicolau AR. Produção da Vacina contra a febre amarela no Brasil. In: Simpósio Internacional sobre febre amarela e dengue. Cinquentenário da Introdução da cepa 17D no Brasil, 1988, Rio de Janeiro. Brasil. Fundação Oswaldo Cruz: p. 168-169; 1988

Owen M. *SPC and Continuous Improvement*. 1^a ed. USA: IFS Publications; 1989.

Paranthaman D. *Controle da Qualidade*. Technical teacher's training institute, Madras. São Paulo: Editora McGraw-Hill Ltda; 1990.

Post PR, Carvalho R, Freire MS, Galler R. The early use of yellow fever virus strain 17D for vaccine production in Brazil. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz* 96, 849-857; 2001.

Ramos, AW. *CEP Para Processos Contínuos e em Bateladas*. São Paulo, Edgard Blucher, 2000.

Rangel A. *Momento da Qualidade*. São Paulo: Atlas; 1995.

Rice CM, Lenches EM, Eddy SR, Shin SH, Strauss JH. Nucleotide sequence of yellow fever virus: implications for flavivirus gene expression and evolution. *Science* 229: 726-733; 1985.

Sawyer W, Kitchen SF, Lloyd W. Vaccination of humans against Yellow Fever with immune serum and virus fixed for nice. *J.Exp.Med.*55:945-969; 1932

Schissatti ML. *UMA METODOLOGIA DE IMPLANTAÇÃO DE CARTAS DE SHEWHART PARA O CONTROLE DE PROCESSOS*. Florianópolis; 1998. Mestrado [Dissertação em Engenharia de Produção] - UFSC.

Smith HH, Penna HA, Paoliello A. Yellow fever vaccination with cultured virus (17D) Without immune serum. *Am. J. Trop. Med.* 18: 437-468; 1938.

Soares GMVPP. APLICAÇÃO DO CONTROLE ESTATÍSTICO DE PROCESSOS EM UMA INDÚSTRIA DE BEBIDAS: UM ESTUDO DE CASO. Florianópolis; 2001. Mestrado [Dissertação em Engenharia de Produção] - UFSC.

Stokes A, Bauer JH, Hudson P. Experimental transmission of yellow fever to laboratory animals. *Am.J of Trop.Med and Hyg* 8:103-164; 1928a.

Stokes A, Bauer JH, Hudson P. Transmission of yellow fever to macacus rhesus preliminary note. *JAMA* 90:253-254; 1928b.

Theiler M. Susceptibility of white mouse to virus of yellow fever. *Science* 71: 367; 1928.

Theiler M, Smith HH. The effect of prolonged cultivation in vitro for human immunization. *J. Exp. Med.* 65: 767-786; 1937a.

Theiler M, Smith HH. The use of yellow fever virus modified by in vitro cultivation for human immunization. *J. Exp. Med.* 65: 787-800; 1937b.

Toledo JC. Qualidade Industrial: conceitos, sistemas e estratégias. São Paulo: Editora Atlas S.A; 1987.

Vasconcelos PF, Luna EJA, Galler R, Silva LJ, Coimbra TL, Barros VLR, Monath TP, Rodrigues SG, Laval C, Costa ZG, Vilela MFG, Santos CLS, Papaiordanou CMO, Alves VA, Andrade LD, Sato HK, Rosa EST, Froguas GB, Lacava E, Almeida LM, Cruz ACR, Rocco IM, Santos RTM, Oliva OFP. Serious adverse events associated with yellow fever 17DD vaccine in Brazil: report of two cases. *The Lancet* 358: 91-97; 2001.

Warren AJ. Landmarks in the Conquest of Yellow Fever. In: GK Strode (ed). *Yellow Fever*. New York, McGraw-Hill Book Company p. 1-37; 1951.

WER - World Health Organization. Yellow Fever in 2003. *Weekly Epidemiological Record* 78: 349 -360; 2003.

WHO - World Health Organization. *Immunization, Vaccines and Biologicals*; 2005.

Werkema MC. Ferramentas Estatísticas Básicas para o Gerenciamento de Processos. V2. Belo Horizonte, Fundação Chistiano Ottoni; 1995.

Westaway EG, Briton MA, Gaidamovich SY, Horzinek Mc, Igarashi A, Kaariainen L, Lvov DK, Porterfield JL, Russell PK, Trent DW. *Flaviviridae*. *Intervirolgy* 24: 183-192, 1985.