

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

Ana Lúcia Ribeiro de Barros

**ESTUDO DO ÁCIDO PERACÉTICO UTILIZADO PARA DESINFECÇÃO NO  
AMBIENTE HOSPITALAR**

Rio de Janeiro

2019

Ana Lúcia Ribeiro de Barros

ESTUDO DO ÁCIDO PERACÉTICO UTILIZADO PARA DESINFECÇÃO NO  
AMBIENTE HOSPITALAR

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Célia M. C. Pereira Araújo Romão.

Rio de Janeiro

2019

Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Barros, Ana Lucia

Estudo do ácido peracético utilizado para desinfecção no ambiente hospitalar. / Ana Lucia Barros. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2019.

123 f. : fig. ; tab.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Vigilância Sanitária) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

Orientadora: Célia Maria Carvalho Pereira Araújo Romão.

1. Ácido Peracético. 2. Desinfetantes. 3. Quantificação.  
I. Título.

Study of peracetic acid used for disinfection in the hospital environment.

Ana Lúcia Ribeiro de Barros

ESTUDO DO ÁCIDO PERACÉTICO UTILIZADO PARA DESINFECÇÃO NO  
AMBIENTE HOSPITALAR

Dissertação apresentada ao curso de  
Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-  
Graduação em Vigilância Sanitária, do  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade  
em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz,  
como requisito parcial para obtenção do  
título de Mestre em Ciências.

Aprovada em \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Maria Helena Simões Villas Boas (Doutora)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Elisabete Pereira dos Santos (Doutora)  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Mychelle Alves Monteiro (Doutora)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

ORIENTADORA

---

Célia Maria Carvalho Pereira Araújo Romão (Doutora)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus

À minha mãe, Luciana Maria Ribeiro de Barros

Às minhas irmãs, Patrícia Ribeiro de Barros e Renata Ribeiro de Barros

A orientadora Célia Maria Carvalho Pereira Araújo Romão

Aos colaboradores Adriana Sant'Ana da Silva e José Luiz Neves de Aguiar

À equipe do Setor de Cosméticos e Saneantes, Leonardo Lopes e Lauro

Sena

Aos amigos do Laboratório de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes

Aos coordenadores, professores e colaboradores do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária.

Aos funcionários da Biblioteca, Janaína Leal e Vinícius Dias

Aos amigos...

## RESUMO

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são um grave problema de saúde pública. A Organização Mundial de Saúde (OMS) alerta que a infecção hospitalar é a quarta maior causa de morte no mundo, portanto, a prevenção da infecção em ambientes clínicos é uma emergência. A limpeza, a esterilização e a desinfecção nos estabelecimentos de assistência à saúde (EAS) são procedimentos estratégicos de controle e a busca por produtos eficazes é necessária para minimizar ou combater a disseminação de espécies patogênicas e a prevenção das IRAS. Vários agentes químicos estão disponíveis no mercado e o ácido peracético é a substância ativa de diversos desinfetantes, constituídos, principalmente, de uma mistura de ácido peracético (APA), peróxido de hidrogênio (PH), ácido acético (AAc) e água. Os registros de queixas técnicas (QT) e eventos adversos (EA) no Sistema de Notificação da Vigilância Sanitária (Notivisa) sinalizam ocorrências no uso do produto e, neste estudo foi uma ferramenta utilizada para a escolha das amostras. Os métodos de titulação por permanganometria, cerimetria e iodometria ainda são muito aplicados na determinação de PH e APA. As fitas teste são utilizadas para monitoramento diário da concentração mínima de APA no produto em uso. Na busca de melhorias do controle da qualidade destes produtos foi desenvolvido e otimizado um método para identificação e quantificação de PH, APA e AAc através da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (CLAE/UV) por supressão iônica. Neste estudo alguns parâmetros como faixa de trabalho, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram definidos para os três analitos: 0,512 a 1,28 (%);  $9,32 \cdot 10^{-3}$  e  $2,79 \cdot 10^{-2}$  para PH; 0,0216 a 0,540 (%);  $3,98 \cdot 10^{-4}$  e  $1,19 \cdot 10^{-3}$  para APA e 0,304 a 0,760 (%);  $4,20 \cdot 10^{-3}$  e  $1,26 \cdot 10^{-2}$  para AAc. Os métodos volumétricos não são específicos e possuem limitações para os desinfetantes à base de APA na concentração de 0,25%. As fitas teste devem ser melhor estudadas para garantir a eficácia do produto e a segurança dos processos de desinfecção dos artigos médicos. O método por CLAE mostrou-se seletivo, sensível e linear na faixa de trabalho estudada nas soluções preparadas a partir da matéria prima.

Palavras chave: Ácido Peracético. CLAE. Desinfetantes. Quantificação.

## ABSTRACT

Healthcare associated infections (HAIs) is a serious public health issue. The World Health Organization (WHO) warns that hospital infection is the fourth leading cause of death in the world, so preventing infection in clinical settings is an emergency. Cleaning, sterilization and disinfection in health care facilities are strategic control procedures and the search for effective products is necessary to minimize or to combat the spread of pathogenic species and prevent the HAIs. Various chemical agents are commercially available and peracetic acid is the active substance of many disinfectants, consisting mainly of a mixture of peracetic acid (PAA), hydrogen peroxide (HP), acetic acid (AA) and water. The records of technical complaints (TC) and adverse events (AE) registered in the Health Surveillance Notification System (Notivisa) points out incidents in the use of the product and so it was used in this study as a tool to select the samples. Permanganometry, cerimetry and iodometry are titration methods still very applied in the determination of HP and PAA. Test strips are used for daily monitoring of the minimum PAA concentration in the product in use. In the search for improvements in the quality control of these products, a method for the identification and quantification of HP, PAA and AA by ion suppression high performance liquid chromatography (HPLC) was developed and optimized. Parameters like work range, limit of detection (LD) and limit of quantification (LQ) were defined for the three analytes studied: 0,512 – 1,28 (%);  $9,32 \cdot 10^{-3}$  and  $2,79 \cdot 10^{-2}$  for HP; 0,0216 – 0,540 (%);  $3,98 \cdot 10^{-4}$  and  $1,19 \cdot 10^{-3}$  for PAA and 0,304 – 0,760 (%);  $4,20 \cdot 10^{-3}$  and  $1,26 \cdot 10^{-2}$  for AA. The volumetric methods are not specific and have limitations for PAA-based disinfectants at a concentration of 0.25%. Test strips should be better studied to ensure the effectiveness of the product and the safety of the disinfection processes of medical articles. The HPLC method showed to be selective, sensitive and linear in the working range studied for the solutions prepared from the raw material.

Key words: Peracetic Acid. CLAE. Disinfectants. Quantification.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação do nível de desinfecção relacionada ao microrganismo.....	19
Figura 2 - Síntese do APA a partir do AAc e anidrido acético. ....	266
Figura 3 - Fluxograma do estudo do desenvolvimento do método por CLAE. ....	42
Figura 4 - Produtos saneantes da categoria desinfetantes à base de APA pesquisados no <i>site</i> Anvisa. ....	47
Figura 5 - Resultado da avaliação semi-quantitativa do teor de ácido peracético – através da fita teste. ....	55
Figura 6 - Cromatograma do diluente (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) em 225 e 255 nm, segundo condições do sistema cromatográfico 1. ....	611
Figura 7 - Cromatograma do reagente AAc em 225 nm e do reagente PH em 255 nm, segundo condições do sistema cromatográfico 1.....	61
Figura 8 - Cromatograma da matéria prima em 225 e 255 nm, segundo condições do sistema cromatográfico 1. ....	626
Figura 9 - Variação da concentração dos analitos (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , APA e AAc) da solução de trabalho em 225 e 255 nm nos primeiros 740 min, segundo condições do sistema cromatográfico 1.....	63
Figura 10 - Cromatograma dos produtos obtidos na síntese. ....	68
Figura 11 - Tentativas de síntese do APA, a partir de modificações na temperatura e na concentração de H <sup>+</sup> .....	69
Figura 12 - Cromatograma do diluente em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesses (5,2; 6,9 e 8,2 min).....	711
Figura 13 - Cromatograma do reagente ácido acético em 225 nm e o espectro de absorção molecular na região UV do sinal de interesse (8,2 min). ....	722
Figura 14 - Cromatograma do reagente peróxido de hidrogênio em 225 nm e o espectro de absorção molecular na região UV do sinal de interesse (5,2 min).....	733
Figura 15 - Cromatograma da matéria prima em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).....	744
Figura 16 - Cromatograma da Amostra A01140 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).....	766
Figura 17 - Cromatograma da Amostra A10122 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).....	788



Figura 18 - Cromatograma da Amostra A10122 adicionada de MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min). .....	79
Figura 19 - Cromatograma da Amostra A11130 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).....	80
Figura 20 - Cromatograma da Amostra A11130 adicionada da MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min). .....	81
Figura 21 - Cromatograma da Amostra A18015 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).....	822
Figura 22 - Cromatograma da Amostra A18015 adicionada da MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min). .....	83
Figura 23 - Cromatograma da Amostra A36176 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).....	844
Figura 24 - Cromatograma da Amostra A36176 adicionada de MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min). .....	855
Figura 25 - Cromatograma da Amostra A17090 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).....	877
Figura 26 - Cromatograma da Amostra A17090 adicionada de MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min). .....	888
Figura 27 - Cromatograma da Amostra A13169 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).....	89
Figura 28 - Cromatograma da Amostra A13169 adicionada de MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min). .....	900
Figura 29 - Cromatograma da Amostra A13102 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).....	922
Figura 30 - Cromatograma da Amostra A13102 adicionada da MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min). .....	933

Figura 31 - Cromatograma da Amostra A12320 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min). .....	944
Figura 32 - Cromatograma da Amostra A12320 adicionada da MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min). .....	955

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação dos produtos saneantes, segundo a RDC nº 14/2007. ....	21
Quadro 2 - Identificação e propriedades físico-químicas do APA 0,25%. ....	255
Quadro 3 - Potencial de redução de alguns oxidantes. ....	29
Quadro 4 - Código e características de cada amostra. ....	377
Quadro 5 - Condições cromatográficas das três etapas do estudo. ....	41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo das notificações de QT e EA dos produtos saneantes à base de APA, no período 2008 à 2017, do Notivisa. ....	49
Tabela 2 - Principais EA e QT, notificados no Notivisa, no período 2008 a 2017. ...	500
Tabela 3 - Resultados da determinação de pH nas amostras.....	533
Tabela 4 - Resultados da densidade da MP e das amostras. ....	544
Tabela 5 - Resultados da determinação do teor de APA da MP e amostras obtidos a partir da análise laboratorial e fabricante. ....	588
Tabela 6 - Intensidade do sinal cromatográfico de cada componente da matéria prima de APA nos diferentes comprimentos de onda. ....	59
Tabela 7 - Intensidade do sinal cromatográfico de cada componente da matéria prima de APA em 225 e 255 nm. ....	60
Tabela 8 - Comprimento de onda e tempo de retenção de cada analito.....	62
Tabela 9 - Resumo dos testes para avaliação da linearidade da curva analítica (1ª semana) .....	64
Tabela 10 - Resumo dos testes para avaliação da linearidade da curva analítica (2ª semana) .....	66
Tabela 11 - Resumo dos testes para avaliação da linearidade da curva analítica (2ª semana) .....	67
Tabela 12 - Adequação do sistema cromatográfico da matéria prima e Amostra A01140.....	966
Tabela 13 - Resumo dos testes para avaliação da linearidade da curva analítica. ...	98
Tabela 14 - Resultado estimado do teor de PH, APA e AAc pelo método CLAE/UV. ....	99

## LISTA DE SIGLAS

Abipla	Associação Brasileira das Indústrias de Produtos de Limpeza
AAc	Ácido acético
ACN	Acetonitrila
AFE	Autorização de funcionamento
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i> Associação dos químicos analíticos
APA	Ácido Peracético
CAS	<i>Chemical Abstrat Service</i> Banco de dados de Substâncias Químicas
CEN	Comitê Europeu de Normalização
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
D	Densidade
DAN	Desinfetante de alto nível
DOU	Diário Oficial da União
DRH	Desinfetante para roupas hospitalares
DSFANC	Desinfetante para superfície fixa e artigos não críticos
EA	Eventos adversos
EAS	Estabelecimento de Assistência à Saúde
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i> Centro Europeu de Prevenção e Controle das Doenças
EPI	Equipamento de proteção individual
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i> Agência de Proteção Ambiental
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administrator</i> Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos
G	Gramma
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i> Agência Internacional de Pesquisa em Câncer

INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
Kg	Quilograma
Kgf	Quilograma-força
Kg/L	Quilograma por litro
L	Litro
mL	Mililitro
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
mL	Mililitro
Min	Minutos
mol/L	concentração mol/L
MS	Ministério da Saúde
Nm	Nanômetro
N	Normalidade
Notivisa	Sistema Nacional de Notificações em Vigilância Sanitária
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Pró análise
PH	Peróxido de hidrogênio
PM	Peso Molecular
Psi	<i>pound force per square inch</i> Unidade de medida de pressão
QT	Queixas técnicas
RDC	Resolução Diretoria Colegiada da Anvisa
SC	Sistema Cromatográfico
SNVS	Sistema Nacional de Vigilância Sanitária
SQC	Substância Química Caracterizada
TAED	Tetracetililenodiamina
TFA	Ácido Trifluoroacético
TR	Tempo de Retenção
UV-VIS	Ultravioleta-Visível
UTI	Unidade de Tratamento Intensivo
v/v	Volume por volume

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>1.1 Infecções relacionadas à assistência à saúde</b> .....	<b>16</b>
<b>1.2 Limpeza, esterilização e desinfecção</b> .....	<b>17</b>
<b>1.3 Legislação sanitária dos saneantes com ação antimicrobiana no Brasil</b> ....	<b>20</b>
<b>1.4 Desinfetantes hospitalares disponíveis no mercado</b> .....	<b>23</b>
<b>1.5 O ácido peracético como desinfetante</b> .....	<b>24</b>
1.5.1 Propriedades e aplicações .....	24
1.5.2 Queixas técnicas e eventos adversos do ácido peracético .....	27
1.5.3 Controle da qualidade dos desinfetantes à base de ácido peracético .....	29
1.5.4 Determinação do ácido peracético por titulação de oxidação-redução .....	29
1.5.5 Determinação do ácido peracético por cromatografia líquida de alta eficiência .....	300
<b>1.6 Justificativa</b> .....	<b>32</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>344</b>
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	<b>34</b>
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>34</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>355</b>
<b>3.1 Análise documental</b> .....	<b>355</b>
3.1.1 Levantamento dos produtos saneantes da categoria desinfetantes à base de ácido peracético .....	355
3.1.2 Pesquisa das notificações de queixas técnicas e eventos adversos .....	35
<b>3.2 Ensaio laboratoriais</b> .....	<b>366</b>
3.2.1 Amostras de trabalho .....	366
3.2.2 Determinação do pH .....	377
3.2.3 Determinação da densidade .....	38
3.2.4 Determinação do teor de APA – Avaliação semi-quantitativa .....	38
3.2.5 Determinação do teor de APA – Permanganometria e Iodometria .....	39
3.2.6 Determinação do teor de APA – Cerimetria e Iodometria .....	39
3.2.7 Determinação do teor de APA - CLAE .....	400
3.2.7.1 <i>Desenvolvimento</i> .....	42
3.2.7.1.1 <u>Seleção do comprimento de onda</u> .....	43
3.2.7.1.2 <u>Seleção da concentração</u> .....	43

3.2.7.1.3 <u>Determinação da estabilidade da solução de trabalho</u> .....	43
3.2.7.1.4 <u>Determinação da estabilidade das soluções da curva analítica</u> .....	43
3.2.7.1.5 <u>Preparação da reação de síntese do ácido peracético</u> .....	44
3.2.7.2 <i>Análise preliminar visual dos espectros de absorção molecular na região UV dos sinais dos analitos dos cromatogramas da matéria prima e das amostras</i> .....	45
3.2.7.3 <i>Curva analítica da matéria prima e determinação do teor de PH, APA e AAc das amostras</i> .....	466
3.2.7.3.1 <u>Curva analítica da matéria prima</u> .....	46
3.2.7.3.2 <u>Quantificação do PH, APA e AAc das amostras, a partir da curva analítica da matéria prima</u> .....	46
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>477</b>
<b>4.1 Análise documental</b> .....	<b>477</b>
4.1.1 Levantamento dos produtos saneantes da categoria desinfetantes à base de ácido peracético .....	477
4.1.2 Pesquisa das notificações de queixas técnicas e eventos adversos.....	488
<b>4.2 Análise laboratorial</b> .....	<b>522</b>
4.2.1 Determinação do pH .....	52
4.2.2 Determinação da densidade.....	54
4.2.3 Determinação do teor de ácido peracético – avaliação semi-quantitativa.....	55
4.2.4 Determinação do teor de ácido peracético: titulação de oxi-redução: Permanganometria, Cerimetria e Iodometria.....	577
4.2.5 Determinação do teor de ácido peracético: Cromatografia líquida de alta eficiência .....	59
4.2.5.1 <i>Desenvolvimento</i> .....	59
4.2.5.1.1 <u>Seleção do comprimento de onda</u> .....	59
4.2.5.1.2 <u>Seleção da concentração</u> .....	59
4.2.5.1.3 <u>Determinação da estabilidade da solução de trabalho</u> .....	62
4.2.5.1.4 <u>Determinação da estabilidade das soluções da curva analítica</u> .....	63
4.2.5.1.5 <u>Preparação da reação de síntese do ácido peracético</u> .....	677
4.2.5.2 <i>Análise preliminar visual dos espectros de absorção molecular na região UV dos sinais dos analitos dos cromatogramas da matéria prima e das amostras</i> .....	69
4.2.5.3 <i>Curva analítica da MP e teores dos analitos nas amostras</i> .....	96
4.2.5.3.1 <u>Curva analítica da matéria prima</u> .....	96



4.2.5.3.2 <u>Quantificação do PH, APA e AAc das amostras, a partir da curva analítica da matéria prima</u> .....	99
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>101</b>
<b>6 PERSPECTIVAS</b> .....	<b>102</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>1033</b>
<b>APENDICE A – AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DO PH, APA E AAC (1ª SEMANA)</b> .....	<b>108</b>
<b>APENDICE B – AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DO PH, APA E AAC (2ª SEMANA)</b> .....	<b>111</b>
<b>APENDICE C – AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO APA (1ª E 2ª SEMANA)</b> .....	<b>114</b>
<b>APENDICE D – AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO PH (1ª E 2ª SEMANA)</b>	<b>115</b>
<b>APENDICE E – AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DO PH, APA E AAC</b> .....	<b>1166</b>
<b>APENDICE F – CROMATOGRAMAS DA SOLUÇÃO TRABALHO DAS AMOSTRAS</b> .....	<b>119</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Infecções relacionadas à assistência à saúde

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) definidas como qualquer doença adquirida pelo paciente no hospital ou centro de assistência à saúde, no período de internação ou após a alta são um grave problema de saúde pública. Estudos realizados em diferentes partes do mundo mostraram que nos países da Europa e Estados Unidos da América (EUA) as infecções hospitalares representam 5 a 10% de todas as hospitalizações. A Organização Mundial de Saúde (OMS) alerta que a infecção hospitalar é a quarta maior causa de morte no mundo. (KHAN; AHMAD; MEHBOOB, 2017; WHO, 2002).

No Brasil, em virtude da ausência de sistematização de informações, não se dispõe de dados precisos e estima-se que 5 a 15% dos pacientes hospitalizados e 25 a 35% dos pacientes admitidos em Unidade de Tratamento Intensiva (UTI) adquiram algum tipo de IRAS. Segundo o *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC), aproximadamente 20 a 30% das IRAS são consideradas preveníveis através de controle e higiene intensivos (ECDC, 2016; LORENZINI; COSTA; SILVA, 2013; OLIVEIRA; CARDOSO; MASCARENHAS, 2010; RODRIGUES; PEREIRA, 2016).

As infecções hospitalares estão relacionadas ao uso excessivo de antibióticos e, como consequência, a resistência bacteriana, que pode ocorrer devido à procedimentos médico-cirúrgicos invasivos e à deficiência na aplicação de medidas como lavagem das mãos e desinfecção adequada de artigos e superfícies contaminadas, entre outros fatores. A persistência dos microrganismos e dos biofilmes significa que o risco de infecção é uma ameaça constante. O custo estimado com as infecções hospitalares chega a bilhões por ano e as organizações de assistência médica têm a responsabilidade legal de reduzir ou eliminar o risco de ocorrência das IRAS (MEADE; GARVEY, 2018).

O surgimento de microrganismos resistentes a antibióticos, particularmente em ambientes clínicos onde surtos de infecção e doenças estão se tornando mais frequentes, aumenta o risco para a saúde pública. O tratamento das espécies resistentes torna-se um grande problema à medida que as cepas adquirem resistência a um número crescente de agentes antibióticos. Portanto, a prevenção

da infecção e da transmissão de cepas nos cuidados de saúde e em ambientes clínicos é uma emergência e de extrema importância. A limpeza, esterilização e desinfecção eficazes nos ambientes de assistência à saúde são procedimentos estratégicos de controle da infecção e essenciais para que a cadeia da infecção e da contaminação cruzada sejam erradicadas (MEADE; GARVEY, 2018).

A busca nos estabelecimentos de assistência à saúde (EAS), por melhorias nos procedimentos de limpeza e desinfecção de artigos médicos impulsiona o investimento contínuo da indústria no desenvolvimento de novos produtos saneantes. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Produtos de Limpeza (Abipla), o Brasil é o quarto mercado mundial de produtos de limpeza atrás dos EUA, China e Japão (SEBRAE, 2019).

## **1.2 Limpeza, esterilização e desinfecção**

A limpeza, a esterilização e a desinfecção são essenciais para garantir que os artigos médicos e cirúrgicos não transmitam patógenos aos pacientes. Nos procedimentos médicos, o artigo médico entra em contato com tecido estéril ou membranas mucosas do paciente. Uma falha no processo de desinfecção ou esterilização desse material traz não apenas o risco associado à quebra de barreiras do hospedeiro, mas também o risco de transmissão pessoa a pessoa e transmissão de patógenos ambientais. Casos de infecções associadas a artigos médicos contaminados, como endoscópios têm sido relatados (KOVALEVA *et al.*, 2013; RUTALA; WEBER, 2008; WEBER; RUTALA, 2012).

Em 1968, Earle H. Spaulding pensou em um modo de fazer a avaliação de risco dos artigos médicos, de acordo com seu uso pretendido, para determinar o nível de descontaminação (esterilização ou níveis alto, intermediário ou baixo de desinfecção). Spaulding propôs dividir os artigos médicos em três categorias, baseado no risco de infecção envolvido no uso dos itens. As três categorias descritas foram: críticas, semicríticas e não-críticas (RUTALA; WEBER, 2016b).

Os artigos críticos foram definidos como aqueles utilizados em procedimentos de alto risco, quando penetra tecidos ou órgãos e requer esterilização para seu uso. Esta categoria inclui instrumentos cirúrgicos, cateteres cardíacos e urinários, implantes e sondas de ultrassom usadas em cavidades corporais estéreis. Os artigos semicríticos foram definidos como aqueles que entram em contato com a

pele não íntegra ou com a mucosa do paciente e requerem desinfecção de alto nível ou esterilização para seu uso. São exemplos dessa categoria, os equipamentos de terapia respiratória e anestesia, endoscópios gastrointestinais, broncoscópios, laringoscópios, sondas de manometria esofágica, cateteres de manometria anorretal, sondas endocavitárias, sondas de biópsia de próstata, cistoscopias, histeroscópios, dispositivos de coagulação infravermelha e anéis de ajuste de diafragma (RUTALA; WEBER, 2016a).

Os artigos não-críticos foram definidos como objetos e equipamentos odontológicos, médicos e hospitalares, que entram em contato superficial com a pele intacta do organismo. A pele intacta atua como uma barreira efetiva para a maioria dos microrganismos. Exemplos de artigos não-críticos são as comadres, os manguitos de pressão arterial, as muletas, os trilhos da cama, os lençóis, as mesas de cabeceira, os móveis dos pacientes e os pisos (BRASIL, 2007; RUTALA; WEBER, 2016a).

A limpeza é a primeira etapa e a mais importante antes de qualquer processo de desinfecção ou esterilização, uma falha na limpeza de um artigo médico pode permitir que o material estranho prejudique o processo. Os materiais usados nas cirurgias ficam cobertos com sangue, restos de tecidos, fluidos corporais e também o interior de artigos canulados pode estar preenchido com este tipo de sujidade. A limpeza é a remoção da sujidade, matéria orgânica e inorgânica de objetos e superfícies, normalmente é realizada manualmente ou mecanicamente usando água com detergentes enzimáticos, esses agentes tem a função de reduzir a tensão superficial e remover a gordura e matérias orgânicas (RUTALA; WEBER, 2008).

A esterilização é o processo que utiliza agentes químicos ou físicos para destruir todas as formas de vida microbiana, principalmente as esporuladas e aplica-se especificamente a objetos inanimados. Vapor sob pressão, calor seco, gás óxido de etileno, plasma de gás peróxido de hidrogênio e produtos químicos líquidos são os principais agentes esterilizantes usados na assistência à saúde. A maioria dos produtos para saúde usados em EAS é constituído de materiais resistentes ao calor e o processo de esterilização recomendado é a vapor, pois possui a maior margem de segurança devido à sua confiabilidade e letalidade. A escolha correta do processo de esterilização é importante para não causar dano ao produto nem comprometer sua esterilidade. Um material para ser compatível com um método de

esterilização, suportará o processo de esterilização e manterá suas especificações operacionais (OMS, 2016; BRASIL, 2007).

A desinfecção é definida como o processo físico ou químico que destrói a maioria dos microrganismos patogênicos de objetos inanimados e superfícies, com exceção de esporos bacterianos. Entre alguns fatores que afetam a eficácia do processo de desinfecção podemos citar a limpeza prévia; natureza física do material (fendas, dobradiças e lúmens); presença de biofilmes; fatores físicos e químicos como temperatura e pH do processo de desinfecção, estabilidade do desinfetante e concentração e tempo de contato com o desinfetante (OMS, 2016).

A desinfecção pode ser de baixo, intermediário ou alto nível, de acordo com o espectro de ação antimicrobiana a ser alcançado, conforme a Figura 1. Desta forma, o desinfetante de nível intermediário é o produto saneante que destrói bactérias vegetativas, micobactérias, a maioria dos vírus e fungos em um período de tempo comprovado, enquanto o desinfetante de alto nível é o produto saneante que destrói todos os microrganismos em um período de tempo comprovado, exceto um número elevado de esporos bacterianos (RUTALA; WEBER, 2008).

Figura 1 - Classificação do nível de desinfecção relacionada ao microrganismo.



Fonte: (site da Polyorganic adaptado de RUTALA; WEBER, 2008)<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> <http://www.polyorganic.com.br/biocida-opa-inova-mercado-de-desinfetantes-hospitales-de-alto-nivel>

### 1.3 Legislação sanitária dos saneantes com ação antimicrobiana no Brasil

No Brasil, os produtos destinados à limpeza, esterilização e desinfecção são registrados como produtos saneantes pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e definidos pela Resolução RDC nº 59, de 17 de dezembro de 2010 como:

substâncias ou preparações destinadas à aplicação em objetos, tecidos, superfícies inanimadas e ambientes, com finalidade de limpeza e afins. São destinados também à desinfecção, desinfestação, sanitização, desodorização e odorização, além de desinfecção de água para o consumo humano, hortifrutícolas e piscinas (BRASIL, 2010b).

A RDC nº 59/2010 aprova o regulamento técnico para procedimentos e requisitos técnicos para notificação e registro e deve ser aplicada a todos os produtos considerados saneantes. O objetivo deste regulamento é elaborar, revisar, alterar, consolidar, padronizar, atualizar, estabelecer definições, características gerais, embalagem e rotulagem de produtos saneantes de forma a gerenciar o risco à saúde. Esta resolução define e classifica, de acordo com o risco, os produtos saneantes.

O gerenciamento de risco é avaliado no processo de liberação do registro dos produtos saneantes, considerando alguns requisitos como: toxicidade das substâncias e suas concentrações no produto, finalidade de uso dos produtos, condições de uso, ocorrência de eventos adversos ou queixas técnicas anteriores, população provavelmente exposta, frequência de exposição e sua duração e formas de apresentação (BRASIL, 2010b).

Estes requisitos refletem a importância do uso correto do produto tanto em relação ao seu fim (limpeza, esterilização e desinfecção) quanto à segurança do manipulador. E para os produtos com ação antimicrobiana não só o risco é considerado, mas também sua eficácia (SILVA, 2008).

Para fins de registro os produtos saneantes são classificados de acordo com o risco em: Risco I e Risco II. Ambos necessitam ser regularizados junto à Anvisa, sendo os produtos de Risco I liberados para comercialização somente após notificação realizada por meio de petição eletrônica e divulgada na página

da Anvisa e os produtos de Risco II, liberados para comercialização após concessão do registro publicada em Diário Oficial da União (DOU) (BRASIL, 2010b).

Na RDC nº 59/2010, os produtos saneantes também são classificados quanto a finalidade (limpeza, desinfecção, esterilização, sanitização, desodorização, desinfestação, entre outras) e quanto à venda e emprego (produto de venda livre ou produto de uso profissional ou de venda restrita a empresa especializada).

Os produtos saneantes utilizados na assistência à saúde para limpeza, desinfecção e esterilização são classificados como Risco II, de uso profissional e de venda restrita.

Na categoria limpeza, é comum a utilização dos detergentes enzimáticos e estão regulamentados pela Resolução RDC nº 55, de 14 de novembro de 2012. Na categoria desinfecção e esterilização o uso dos desinfetantes e esterilizantes à base de APA são regulamentados pelas Resoluções - RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007 e RDC nº 35, de 16 de agosto de 2010.

Em 2007, a Anvisa publicou a RDC nº 14, uma legislação que aprova e harmoniza, no âmbito do Mercosul, o Regulamento Técnico para produtos saneantes com ação antimicrobiana. O objetivo desta resolução é definir, classificar e regulamentar as condições de registro e rotulagem dos produtos saneantes com ação antimicrobiana destinados ao uso em objetos, sobre superfícies inanimadas e ambientes, conforme o Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação dos produtos saneantes, segundo a RDC nº 14/2007.

<b>CLASSIFICAÇÃO POR ÂMBITO DE APLICAÇÃO</b>	
Uso Geral	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desodorizante</li> <li>• Sanitizante</li> <li>• Desinfetante</li> </ul>
Uso Hospitalar	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desinfetante hospitalar para superfícies fixas e artigos não críticos</li> </ul>
Uso em Indústria Alimentícia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sanitizante</li> <li>• Desinfetante</li> </ul>
Uso Específico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desinfetante para lactários</li> <li>• Desinfetante para piscinas</li> <li>• Desinfetante p água de consumo humano</li> <li>• Sanitizante/desinfetante p tecidos e roupas</li> <li>• Sanitizante/desinfetante p roupas hospitalares</li> </ul>

Fonte: (RDC nº 14/2007).

Em 2010, a Anvisa publicou a RDC nº 35, uma legislação que aprova e harmoniza no âmbito do Mercosul, o Regulamento Técnico para produtos saneantes com ação antimicrobiana. Esta resolução regulamenta o registro e a rotulagem dos produtos destinados exclusivamente à desinfecção ou esterilização de artigos críticos e semicríticos de uso em estabelecimentos relacionados à assistência à saúde e classifica como desinfetante de nível intermediário, desinfetante de alto nível e esterilizante. O termo assistência à saúde trata dos serviços prestados no âmbito hospitalar e ambulatorial, como clínicas e consultórios.

A RDC nº 14/2007, assim como a RDC nº 35/2010 estabelecem que para fins de solicitação de registro de produto saneante somente serão permitidas como princípios ativos, substâncias comprovadamente aceitas pela *Environmental Protection Agency* (EPA), *Food and Drug Administrator* (FDA) ou Comunidade Europeia (CE) e não serão permitidas nas formulações substâncias que sejam comprovadamente carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas para o homem, segundo a *International Agency for Research on Cancer* (IARC). Outra exigência é a comprovação de sua eficácia para os fins propostos, através de análises prévias realizadas no produto final nas diluições e condições de uso indicadas pelo fabricante. Para comprovar a eficácia do produto poderá ser adotada a metodologia da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) ou os métodos do Comitê Europeu de Normalização (CEN) (BRASIL, 2007; 2010a).

A RDC nº 35/2010 estabelece várias formas de apresentação dos produtos saneantes. Os desinfetantes à base de ácido peracético de uso na assistência à saúde são encontrados em soluções formuladas pronta para o uso, concentradas e reconstituídas ou ativadas. As soluções prontas para uso são definidas, como uma formulação que não necessita de procedimento de diluição. As soluções formuladas concentradas devem informar no rótulo a diluição do produto de acordo com o uso. Os produtos reconstituídos ou ativados são definidos como aqueles que, para exercer sua ação desinfetante ou esterilizante, são adicionados ativadores.

Outra informação fornecida na RDC nº 35/2010, diz respeito à indicação dos desinfetantes de alto nível quanto o seu uso. Para ser usado mais de uma vez, o fabricante deverá estabelecer a concentração microbicida mínima e fornecer um produto para determinar a concentração do princípio ativo com o intuito de garantir a eficácia diante do uso pretendido. Os desinfetantes da categoria alto nível à base de APA são produtos indicados para mais de um uso e no momento da aquisição deve



vir acompanhado das fitas teste que são indicadas para o monitoramento diário da concentração mínima de APA.

#### **1.4 Desinfetantes hospitalares disponíveis no mercado**

A busca por produtos de desinfecção eficazes é a todo momento necessária para minimizar ou combater a disseminação de espécies patogênicas, a resistência cruzada e a prevenção das IRAS (MEADE; GARVEY, 2018).

Os biocidas são agentes químicos ou físicos que destroem todos os organismos patogênicos ou não, comumente utilizados com referência a microrganismos e englobam os antissépticos, desinfetantes, esterilizantes e conservantes. São utilizados para uma variedade de finalidades, externamente sobre a pele e mucosas (antissépticos), sobre objetos e superfícies inanimadas (desinfetantes) nos mais diversos ambientes: domiciliar, institucional, industrial e nos estabelecimentos de assistência à saúde. Os produtos com ação biocida visam fundamentalmente reduzir a disseminação dos microrganismos, quer seja de indivíduo para indivíduo diretamente, ou indiretamente, através do ambiente (MCDONNELL; RUSSELL, 1999; RUTALA; WEBER, 2008).

Como todo agente químico, os desinfetantes têm restrições quanto ao uso e podem ser prejudiciais à saúde do manipulador, irritantes ou corrosivos e podem causar danos no contato com os olhos, mucosas, pela inalação de vapores ou pela absorção através da pele. É importante informar, instruir e treinar o profissional quanto a segurança do produto, principalmente, no uso de equipamento de proteção individual (EPI), no armazenamento do produto e na ventilação adequada do ambiente (RUTALA; WEBER, 2014).

Algumas pessoas podem ser mais sensíveis ou alérgicas a desinfetantes e podem desenvolver irritações na pele, dermatite de contato, ou em casos raros, dificuldade para respirar (asma) (OMS, 2016)

Uma variedade de agentes químicos está disponível no mercado para desinfecção de artigos médicos de uso na assistência à saúde. A seleção do produto é uma etapa essencial para a desinfecção eficaz e algumas características devem ser observadas na escolha do desinfetante, como por exemplo: amplo espectro antimicrobiano, atuação rápida, eficácia, estabilidade do produto pronto para uso e diluído e compatibilidade com o material desinfetado (RUTALA; WEBER, 2014).

Os desinfetantes são encontrados em formulações com um agente químico ou em associações e os mais utilizados na assistência à saúde são o álcool etílico, hipoclorito de sódio, compostos à base de iodo, glutaraldeído, orto-ftalaldeído, peróxido de hidrogênio, ácido peracético.

## **1.5 O ácido peracético como desinfetante**

### 1.5.1 Propriedades e aplicações

O ácido peracético é a substância ativa de diversos produtos saneantes da categoria desinfetantes. Comercialmente, esses produtos são constituídos de uma mistura em equilíbrio de ácido peracético (APA), peróxido de hidrogênio (PH), ácido acético (AAc), água e um veículo estabilizante. O APA é um agente oxidante cujo mecanismo de ação provavelmente envolve a desnaturação de proteínas, alteração da permeabilidade da parede celular e oxidação das ligações sulfidrilas e sulfurosas em proteínas, enzimas e outros metabólitos (RUTALA; WEBER, 2008).

Desde a década de quarenta, as aplicações do APA vêm sendo pesquisadas como reagente de branqueamento e deslignificação de polpas celulósicas (BRASILEIRO; COLODETTE; VELOSO, 2001). Além disso, diversos autores têm publicado sobre sua rápida ação contra vários microrganismos, sendo eficaz como bactericida, fungicida, esporicida e virucida, mesmo em baixas concentrações (< 0,3%) (BECKER *et al.*, 2017; KOVALEVA, 2016; MCDONNELL; RUSSELL, 1999; RUTALA; WEBER, 2016b). No Brasil, o uso do APA como desinfetante é comum na área de assistência à saúde, na indústria de alimentos e na área ambiental. A utilização do APA como desinfetante e esterilizante foi concedida pelo Ministério da Saúde (MS), em 1993.

As soluções de APA possuem algumas vantagens como possuir produtos de decomposição não tóxicos (PH, AAc e água) e não deixar resíduos. Na presença de matéria orgânica ele permanece efetivo e é esporicida mesmo a baixas temperaturas. Sua desvantagem é o fato de ser corrosivo a alguns materiais como cobre, latão, bronze, aço liso e ferro galvanizado, no entanto, esses efeitos podem ser reduzidos por aditivos nas formulações e modificações de pH. As soluções de APA são consideradas instáveis, particularmente quando diluídas (MCDONNELL; RUSSELL, 1999; RUTALA; WEBER, 2008; RUTALA; WEBER, 2016b).

As soluções de APA são límpidas e incolores com odor pungente de vinagre e solúveis em solventes polares, aromáticos e acetatos. As propriedades físicas e químicas das soluções aquosas do APA são específicas à proporção da concentração dos componentes individuais nas formulações. No Quadro 2, estão algumas informações da substância ativa e propriedades físico-químicas da solução de APA (EU, 2015).

Quadro 2 - Identificação e propriedades físico-químicas do APA 0,25%.

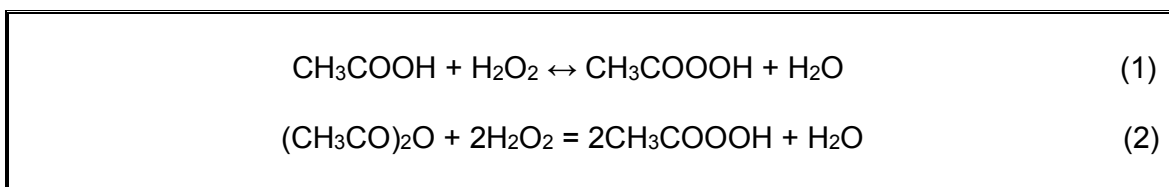
<b>NOMENCLATURA</b>	
Nº de registro no CAS ( <i>Chemical Abstract Service</i> ): 79-21-0	
Nome de registro do CAS: Ácido etanoperóxico	
IUPAC: Ácido peroxietanóico	
Nome comum: ácido peracético	
Sinônimos: acetilhidroperóxido, ácido peroxiacético	
<b>ESTRUTURA E FÓRMULA MOLECULAR</b>	
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	
	
Massa Molar: 76,051 g/mol	
<b>PROPRIEDADES FÍSICAS DA SOLUÇÃO DE APA 0,25%</b>	
Ponto de congelamento: - 42°C	
Ponto de combustão: 74 a 83°C (embalagem fechada)	
Densidade à 20°C: 1,1 g/cm <sup>3</sup>	
Acidez (pKa)	11,6 à 25°C (peróxido de hidrogênio)
	8,2 à 25°C (ácido peracético)
	4,8 à 25°C (ácido acético)
Propriedade: Oxidante	
Solubilidade: Solúvel em água e solventes orgânicos polares	
Compatibilidade: aço inox, alumínio puro, vidro, porcelana, borrachas butílica e nitrílica, PVC, PE, PP, TEFLON®, VITON®, KALREZ®.	
Reatividade: Decompõe com o calor e pode inflamar em caso de aquecimento.	
Estabilidade química: Estável sob as condições de armazenagem recomendadas.	
Manuseio: Usar equipamento de proteção individual (jaleco, luva, óculos) em ambiente de ventilação adequada.	

Fonte: (EU, 2015; SOLVAY, 2019b).

As propriedades desinfetantes do APA foram citadas pela primeira vez em 1902, por Freer e Novy, mas a disponibilidade comercial deste produto só foi possível após a fabricação do PH 90%, isso porque, o APA é produzido a partir da reação do ácido ou anidrido acético com PH, na presença de ácido sulfúrico como catalisador (CAVALLINI, 2011).

Segundo Zhao *et al.* (2007), durante muitos anos o método mais utilizado para a preparação do APA foi através da combinação do PH com o AAc (1) ou anidrido acético (2), conforme Figura 2.

Figura 2 - Síntese do APA a partir do AAc e anidrido acético.



Fonte: (adaptado de ZHAO, 2007).

A reação do anidrido acético com o PH é exotérmica e de difícil controle, possibilitando a formação de peróxido de diacetil que eleva os riscos de explosão. A reação entre o AAc e o PH tornou-se mais comum, é uma reação reversível e, assim, uma mistura em equilíbrio é obtida. O nível em que o equilíbrio é alcançado pode ser catalisado pela adição de um ácido forte, normalmente o ácido sulfúrico (ZHAO, 2007).

Alguns autores, como Zhao *et al.* (2007), relataram que o APA em solução é instável e pode ser consumido, a partir de três reações: a reação de hidrólise, a reação de decomposição espontânea e a reação de decomposição catalisada por íons metálicos. Nas formulações das soluções estabilizadas de APA também é possível encontrar catalisadores e estabilizantes, geralmente o ácido sulfúrico e o ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfônico, respectivamente (EU, 2015; ZHAO, 2007).

As preparações comerciais de APA variam nas concentrações dos três componentes. Devido à instabilidade das soluções de APA, os aerossóis ou o vapor podem ter diferentes composições de APA, AAc e PH. O principal risco à saúde humana associado à exposição ao APA é irritação da pele, dos olhos e mucosas do trato respiratório (locais de primeiro contato), estes sintomas podem surgir até mesmo após exposição a curto prazo. Dada a sua crescente importância nos EAS, a

atenção concentrou-se nos riscos à saúde e nos riscos associados ao local de trabalho (DUGHERI *et al.*, 2018; PECHACEK *et al.*, 2015).

Em 2015, Amorim publicou seu estudo sobre avaliação de risco ocupacional no uso dos desinfetantes à base de APA nos EAS e citou como principais preocupações dos profissionais nos procedimentos diário de trabalho: o desconforto respiratório causado pela falta de exaustão; a ausência de climatização nas salas de desinfecção e, conseqüentemente, temperatura ambiente elevada; a falta de treinamento prévio e capacitação periódica para manipulação do desinfetante; o risco de derramamento da solução no descarte; a perda da sensibilidade no uso das luvas nitrílicas de cano longo durante a manipulação e EPI não adequado. Algumas destas situações podem gerar casos de eventos adversos e resultar em notificações relacionadas ao uso das soluções de APA.

#### 1.5.2 Queixas técnicas e eventos adversos do ácido peracético

A informação vem assumindo um papel estratégico em todas as áreas. Na área da saúde, a informação tem a finalidade de identificar problemas individuais e coletivos do quadro sanitário de uma população, contribuindo com elementos para a análise da situação encontrada e auxiliando na busca de possíveis soluções. Conceitualmente, o sistema de informação em saúde pode ser entendido como um instrumento para adquirir, organizar e analisar dados necessários à definição de problemas e riscos para a saúde, avaliar a eficácia, eficiência e influência que os serviços prestados possam ter no estado de saúde da população, além de contribuir para a produção de conhecimento acerca da saúde e dos assuntos a ela ligados (BRANCO, 1996).

Em 2006, a Anvisa criou o Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária – Notivisa, que é um sistema informatizado desenvolvido para receber notificações de incidentes, queixas técnicas (QT) e eventos adversos (EA) relacionadas ao uso de produtos e de serviços sob vigilância sanitária (ANVISA, 2019a).

É considerada uma QT qualquer notificação de suspeita de alteração ou irregularidade de um produto ou empresa relacionada a aspectos técnicos ou legais, e que poderá ou não causar dano à saúde individual e coletiva, por exemplo: produtos com suspeita de desvio da qualidade, produto com suspeita de estar sem registro, suspeita de produto falsificado e suspeita de empresa sem autorização de

funcionamento (AFE). O EA é definido como qualquer efeito não desejado, em humanos, decorrente do uso de produtos sob vigilância sanitária, por exemplo: inefetividade terapêutica de algum medicamento, reação adversa ao uso de medicamentos, evento decorrente do uso de um produto saneante (ANVISA, 2019b).

No Notivisa podem ser notificadas as seguintes categorias de produtos sob vigilância sanitária: medicamentos, vacinas e imunoglobulinas, pesquisas clínicas, artigos médico-hospitalares, equipamentos médico-hospitalares, kit reagente para diagnóstico de uso *in vitro*, uso de sangue ou componentes, cosméticos, produtos de higiene pessoal ou perfume, produtos saneantes e agrotóxicos (ANVISA, 2019b).

As notificações podem ser feitas por profissionais de serviços de saúde (hospitais, clínicas, laboratórios), profissionais/técnicos da Anvisa, das Vigilâncias Sanitárias Estaduais e Municipais, das Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde, profissionais de Laboratórios de Saúde Pública, Universidades/Centros de pesquisa, profissionais que atuam em drogarias e farmácias, profissionais das empresas detentoras de registro de produtos sob vigilância sanitária (fabricantes, importadores e distribuidores), profissionais liberais da área de saúde, assim como todo cidadão (familiar, acompanhante, cuidador). Para acessar o sistema, os serviços de saúde, as empresas e os profissionais de saúde precisam ter um cadastro na Anvisa que será de acordo com a categoria do notificante. Para o cidadão, basta preencher o formulário de notificação no *site* do sistema Notivisa, não sendo necessário o cadastro prévio. Os notificadores podem notificar casos confirmados ou suspeitos de incidentes, QT e EA (BRANCO *et al.*, 2015).

Os hospitais da Rede Sentinela representam o principal notificador porque são motivados e qualificados para a notificação de EA e QT de produtos sob vigilância sanitária. A Rede Sentinela é uma estratégia iniciada em meados do ano de 2001 e funciona como observatório nos serviços para o gerenciamento de riscos à saúde, em atuação conjunta com o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS). A Gerência de Risco foi criada em cada serviço que compõe a Rede, tornando-se uma referência interna da vigilância sanitária pós-uso/pós-comercialização de produtos. Alguns dos principais objetivos da Rede Sentinela são: obtenção de informações de qualidade sobre EA e QT relacionados a produtos sob vigilância sanitária, promoção e divulgação do Notivisa com o intuito de consolidar a cultura da notificação e contribuição para o aprimoramento do gerenciamento de risco nos serviços de saúde (ANVISA, 2019c; OLIVEIRA, 2013).

As informações recebidas pelo Notivisa permitem conhecer melhor os EA e as QT dos produtos comercializados no país, podem subsidiar o SNVS na identificação de reações adversas ou efeitos não desejados dos produtos e por meio da regulação dos produtos promover ações de proteção à Saúde Pública (ANVISA, 2019d).

### 1.5.3 Controle da qualidade dos desinfetantes à base de ácido peracético

O controle da qualidade de desinfetantes engloba análises químicas, microbiológicas, toxicológicas e de rotulagem. A análise química envolve, principalmente, os ensaios para a determinação do teor de princípio ativo e do pH. Na avaliação toxicológica são realizados os ensaios de irritação dérmica e ocular. A avaliação microbiológica inclui a comprovação da eficácia de acordo com a classificação dos produtos. A avaliação do rótulo é feita com base na legislação geral e nos regulamentos técnicos específicos para cada categoria de produto (BRASIL, 2007; BRASIL, 2010b).

Neste trabalho foi estudado o pH e os métodos analíticos para identificação e quantificação dos teores de PH, APA e AAc utilizando a técnica de titulação de oxidação-redução e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

### 1.5.4 Determinação do ácido peracético por titulação de oxidação-redução

A solução de APA é uma mistura quaternária em equilíbrio e para a determinação do teor de APA na mistura estabilizada, os dois oxidantes que fazem parte da composição, são levados em consideração, como mostra o potencial de redução no Quadro 3 (CAVALLINI *et al.*, 2012).

Quadro 3 - Potencial de redução de alguns oxidantes.

Semi-reação	e (V)
$\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e} \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$	1,78
$\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H} + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e} \rightarrow \text{CH}_3\text{CO}_2\text{H} + \text{H}_2\text{O}$	1,06

Fonte: (adaptado de BRASILEIRO; COLODETTE; VELOSO, 2001).

As titulações de oxidação-redução ou titulações redox são métodos tradicionais e amplamente utilizados para determinar PH e APA, sendo eles a permanganometria, cerimetria e iodometria. Em muitos casos, observa-se a utilização da forma combinada entre eles (CAVALLINI *et al.*, 2012; SODE, 2014).

Os métodos mais utilizados para análise de soluções contendo APA e PH foram desenvolvidos em 1912 por D'Ans e Frey e em 1948 por Greenspan e McKellar. No método de D'Ans e Frey, o PH é titulado primeiro com permanganato de potássio e, na segunda etapa, o APA é determinado pela adição de iodeto de potássio e titulação do iodo liberado com tiosulfato de sódio. No método de Greenspan e McKellar a titulação com permanganato de potássio, para determinação do PH, foi substituída por sulfato de cério (IV) (SULLY; WILLIAMS, 1962).

Outros métodos foram desenvolvidos como o proposto por Sully e Williams (1962) que utilizaram apenas a iodometria para determinar os dois oxidantes, aproveitando a grande diferença em suas taxas de reação com o iodeto, uma vez que o PH reage com o iodeto muito lentamente, necessitando do íon molibdato como catalisador. Além da titulação, existem os métodos baseados em outros princípios, como por exemplo, espectrofotometria e CLAE. A titulação é um método de determinação direta baseado no ponto de equivalência das substâncias. Os outros métodos usam equipamentos mais avançados que requerem qualificação, manutenção e padrões de referência, pois são métodos de determinação por comparação (SODE, 2014).

Nos dias atuais, a titulação ainda é muito aplicada como no trabalho realizado por Zhao *et al.* (2008) que foi baseado no protocolo chinês que utiliza o método permanganometria e iodometria, semelhante ao proposto por D'Ans e Frey (1912). A empresa que produz a matéria prima do APA no Brasil indica o método permanganométrico e iodométrico e também o método cerimetria e iodometria para determinação da concentração de PH e APA em soluções aquosas (SOLVAY, 2019a).

#### 1.5.5 Determinação do ácido peracético por cromatografia líquida de alta eficiência

A Cromatografia Líquida é um processo físico utilizado na separação dos componentes de uma mistura. A base para esta separação é a distribuição dos



analitos entre duas fases: uma fase estacionária e a fase móvel. Os analitos que apresentarem maior interação com a fase estacionária irão permanecer menos tempo na fase móvel e, como consequência, irão deslocar-se mais lentamente através da coluna (LANÇAS, 2009).

Os principais mecanismos de separação que ocorrem em cromatografia líquida são: adsorção, partição, troca iônica e exclusão por tamanho. A cromatografia de partição, atualmente, é o tipo mais comum de cromatografia líquida utilizado em laboratórios analíticos. É uma técnica na qual os solutos são separados com base em sua partição entre uma fase móvel líquida e uma fase estacionária revestida em um suporte sólido (HAGE; CARR, 2012).

Existem duas categorias principais de cromatografia de partição: a cromatografia de fase normal e a cromatografia de fase reversa. Para a determinação quantitativa do APA nos produtos saneantes da categoria desinfetantes foi utilizada a técnica da cromatografia líquida de partição em fase reversa por supressão iônica. A principal diferença entre esses métodos é a polaridade de suas fases estacionárias. A cromatografia de fase reversa utiliza uma fase estacionária apolar, que é oposta em relação a fase estacionária utilizada em cromatografia de fase normal (HAGE; CARR, 2012).

A cromatografia por supressão iônica é o tipo aplicado na separação de compostos do tipo ácidos fracos e bases fracas. O objetivo é afastar o pH do pKa ou pKb. Considerando-se um ácido de cadeia curta, em solução irão existir as duas formas: ionizada e não ionizada. A forma não ionizada tende a apresentar maior retenção em fase reversa, enquanto que a forma ionizada terá maior afinidade pela fase móvel (mais polar) e ficará pouco retida. Uma vez que as substâncias químicas apresentam diferentes graus de dissociação, a maneira mais simples de efetuar-se uma análise quantitativa é otimizar o sistema para que apenas uma das formas da substância esteja presente no momento de análise. Assim, os fatores que modificam o equilíbrio químico entre as formas da mesma substância, especialmente o pH e a força iônica, devem ser cuidadosamente controlados, preferencialmente no sentido de obter-se a espécie não ionizada, que apresenta mais retenção em fase reversa (LANÇAS, 2009).

## 1.6 Justificativa

A vigilância sanitária é o conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde (BRASIL, 1990), incluindo as ações em indústrias de produtos saneantes com ação antimicrobiana de uso em assistência à saúde. O INCQS compõe o SNVS como instituto em nível federal, atuando na área de desenvolvimento de pesquisa como referência nacional para as questões científicas e tecnológicas relativas ao controle da qualidade de produtos (INCQS, 2010).

As IRAS são um grave problema de saúde pública, ocorrem em todo o mundo e estão entre as principais causas de morbidade e mortalidade. Portanto, a prevenção da infecção e da transmissão de cepas nos cuidados de saúde e em ambientes clínicos é de extrema importância. A limpeza, esterilização e desinfecção eficazes nos ambientes de assistência à saúde são procedimentos estratégicos e essenciais para que a cadeia da infecção e da contaminação cruzada sejam controladas (ANVISA, 2016; MEADE; GARVEY, 2018; RUTALA, WEBER; 2016).

A Anvisa avalia o risco dos produtos saneantes no processo de liberação do registro, considerando alguns requisitos como: toxicidade das substâncias e suas concentrações no produto, finalidade e condições de uso, ocorrência de eventos adversos ou queixas técnicas anteriores e formas de apresentação. Eles refletem a importância do uso correto do produto tanto em relação ao seu fim quanto à segurança do manipulador. E para os produtos com ação antimicrobiana de uso em assistência à saúde não só o risco é considerado como também sua eficácia (BRASIL, 2010a).

Desta forma, o estudo dos desinfetantes à base de APA é essencial à saúde pública. A existência de um método analítico seletivo é imprescindível para a determinação quantitativa da substância ativa, que é responsável pela ação do produto, buscando-se uma completa avaliação por meio de ensaios microbiológicos e químicos.

O método mais utilizado atualmente para determinação da concentração do APA ainda é a titulação de oxidação-redução, sendo eles a iodometria, cerimetria e permanganometria. Os métodos analíticos instrumentais apresentam vantagens como rapidez, seletividade e sensibilidade, sendo assim o método por CLAE uma proposta alternativa para a determinação do APA (CAVALLINI *et al.*, 2012). Assim,

este método precisa ser estudado quimicamente de acordo com as características do desinfetante a ser analisado.

Por outro lado, o estudo documental dos produtos saneantes à base de APA registrados na Anvisa e o estudo dos casos de QT e EA notificados no Notivisa possibilitarão a obtenção de um panorama dos produtos oferecidos pelo mercado no país e problemas relacionados aos mesmos o que poderá contribuir para ações direcionadas de vigilância sanitária.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Estudar os produtos saneantes registrados na categoria desinfetante de alto nível à base de ácido peracético destinados ao uso em assistência à saúde, com vistas a contribuir para as ações de vigilância sanitária.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Realizar uma busca dos produtos saneantes registrados na Anvisa à base de ácido peracético nas categorias desinfetantes de alto nível (DAN), desinfetantes hospitalares para superfície fixa e artigos não críticos (DHSFANC) e desinfetantes de roupas hospitalares (DRH).
- Avaliar os motivos das ocorrências de queixas técnicas e eventos adversos do Sistema Nacional de Notificações para a Vigilância Sanitária envolvendo os desinfetantes à base de ácido peracético.
- Avaliar os métodos analíticos titulométricos de determinação do teor de peróxido de hidrogênio e ácido peracético em produtos saneantes.
- Desenvolver e otimizar o método por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, para identificação e quantificação do teor de peróxido de hidrogênio, ácido peracético e ácido acético em produtos saneantes.
- Síntese do ácido peracético a partir do ácido acético e peróxido de hidrogênio.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Análise documental

##### 3.1.1 Levantamento dos produtos saneantes da categoria desinfetantes à base de ácido peracético

Na primeira etapa do estudo, foi realizada uma pesquisa sobre os produtos saneantes da categoria desinfetantes à base de APA registrados da Anvisa. Foi consultado o *site* da Anvisa, em “consulte produtos registrados>saneantes>saneantes registrados>nome do produto” realizando-se uma busca dos produtos saneantes à base de APA, de uso em assistência à saúde, classificado como desinfetante de alto nível (DAN), desinfetante hospitalar de superfície fixa e artigo não crítico (DHSFANC) e desinfetante de roupas hospitalares (DRH), utilizando as palavras chave “peracético” e “ácido peracético”. No *site* do Google® foi feita uma busca dos produtos saneantes à base de APA utilizando-se as palavras chave “ácido peracético desinfetante de alto nível”, “ácido peracético desinfetante superfície fixa e artigos não críticos”, “ácido peracético desinfetante roupas hospitalares”. Os produtos encontrados na busca do *site* do Google® foram pesquisados no *site* da Anvisa para verificação do registro e se estavam ativos ou não.

As informações dos produtos saneantes encontrados no *site* da Anvisa foram organizadas em planilhas por categorias e em cada categoria buscou-se conhecer cada produto por sua apresentação, teor da substância ativa e aplicação.

Foram utilizadas também as informações dos Certificados de Análise dos produtos, quando disponibilizados pelos fabricantes.

##### 3.1.2 Pesquisa das notificações de queixas técnicas e eventos adversos

Também foram pesquisadas e avaliadas as notificações de QT e EA constantes no Notivisa. Para isso, foram solicitadas, à Anvisa, as notificações ocorridas no período de 2008 a 2017, relacionadas aos produtos saneantes da categoria desinfetante à base de APA. Cada formulário foi avaliado segundo a descrição do evento e as informações organizadas em planilha a partir das

seguintes informações: ano da notificação, notificador, QT ou EA, Estado, formulação e categoria do produto.

A partir destas informações, as características dos produtos notificados por QT foram conhecidas e também os EA ocorridos com as pessoas que manipulavam diariamente esta solução.

## **3.2 Ensaio laboratoriais**

### **3.2.1 Amostras de trabalho**

Todos as amostras de trabalho, produtos saneantes da categoria desinfetantes à base de APA, eram produtos de uso profissional, com venda proibida direta ao público e de uso em assistência à saúde.

A escolha das amostras de trabalho foi baseada nas pesquisas realizadas, onde a maior porcentagem dos produtos registrados foi DAN, conforme o item 4.1.1 e nos casos de notificações do Notivisa, conforme o item 4.1.2. Acrescenta a essas informações, o fato de se tratar de produtos saneantes de risco 2, de uso em assistência à saúde, de menor concentração de APA (0,2%) e baixa estabilidade.

No estudo foram oito amostras adquiridas, por doação, através do contato direto com os fabricantes e uma amostra por compra *online*.

A matéria prima foi adquirida, por doação, através do contato direto com o fabricante, a empresa Peróxidos do Brasil grupo Solvay.

Este estudo foi estruturado no primeiro momento da análise documental e num segundo momento da análise laboratorial. Todos os produtos possuíam registro ativo, a empresa fabricante não era, necessariamente, a empresa detentora do registro. Eram cinco amostras de produtos formulados pronto para o uso, duas amostras acompanhadas de um sachê contendo o inibidor de corrosão que foi adicionado no frasco no momento do uso. Outras duas amostras eram produtos chamados de produto reconstituído/ativado onde o ácido peracético era gerado *in situ*, como o Quadro 4.

Quadro 4 - Código e características de cada amostra.

CÓDIGO	AQUISIÇÃO	INIBIDOR DE CORROSÃO	FORMULAÇÃO	Fabricante
A01140	doação	-	AAc + H <sup>+</sup> + PH	B
A11130	doação	-	AAc + H <sup>+</sup> + PH	A
A17090	doação	-	AAc + H <sup>+</sup> + PH	D
A10122	doação	-	AAc + H <sup>+</sup> + PH	A
A36176	doação	-	AAc + H <sup>+</sup> + PH	A
A18015	compra <i>online</i>	sachê	AAc + H <sup>+</sup> + PH	C
A13169	doação	sachê	AAc + H <sup>+</sup> + PH	A
A13102	doação	-	PH+acetilcaprolactama	E
A12320	doação	-	PercarbonatoNa+TAED	E

Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: AAc – ácido acético, H<sup>+</sup> - catalisador, PH – peróxido de hidrogênio, Percarbonato Na – percarbonato de sódio, TAED – tetracetililenodiamina.

As amostras eram formulações de APA obtido por 3 vias diferentes. A primeira formulação era formada por PH, AAc, APA, estabilizante, inibidor de corrosão e adjuvantes. A segunda formulação por PH, acetilcaprolactama, estabilizante, corante e adjuvantes e a terceira formulação por percarbonato de sódio, tetracetililenodiamina (TAED), regulador de pH, tensoativos e quelantes.

### 3.2.2 Determinação do pH

A determinação do pH da matéria prima e das amostras foi realizada utilizando o pHmetro fabricante Mettler Toledo SevenExcellence, verificado na faixa de uso e calibrado do Setor de Cosméticos e Saneantes do Departamento de Química situado no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS).

Foram adicionados aproximadamente 30 mL da matéria prima e das amostras em becheres e, em seguida, a leitura no pHmetro. Nas amostras A18015 e A13169, com sachê contendo inibidor de corrosão, o pH foi verificado nas soluções com e sem inibidor de corrosão. Na amostra A13102 acompanhada de frasco de solução ativadora, o pH foi verificado na solução preparada após mistura da solução

geradora com a solução ativadora. Na amostra A12320, apresentada na forma de pó, o pH foi verificado logo após a preparação da solução.

### 3.2.3 Determinação da densidade

A determinação da densidade da matéria prima e amostras foi realizada utilizando água destilada, no picnômetro com termômetro, calibrado e na Balança analítica, calibrada, com precisão 0,1 mg, fabricante Mettler Toledo AG204 do Setor de Cosméticos e Saneantes do Departamento de Química situado no INCQS.

A água destilada, a matéria prima e as amostras foram resfriadas à temperatura de 20°C. Mediu-se a massa do picnômetro vazio, em seguida, o picnômetro foi preenchido com água destilada a 20°C e mediu-se, novamente, a massa. O picnômetro foi preenchido com a solução da matéria prima a 20°C e mediu-se a massa. Esse procedimento foi realizado em triplicata tanto para a matéria prima quanto para as amostras. As massas foram registradas para fazer os cálculos da determinação da densidade.

### 3.2.4 Determinação do teor de APA – Avaliação semi-quantitativa

Alguns fabricantes indicam mais de um uso para os desinfetantes de alto nível e estes devem ser monitorados diariamente através da fita teste.

O teor das amostras de trabalho foi verificado inicialmente através das fitas teste, adquirida por doação junto à amostra.

Foram adicionados aproximadamente 30 mL da matéria prima e das amostras em becheres e, em seguida, foi imersa a fita teste nas soluções, durante 1-3 segundos. Retirou-se e após 5 segundos foi comparada a cor da fita com os padrões da escala impresso no rótulo. Na amostra A13169 e A18015, o inibidor de corrosão foi adicionado, a solução foi agitada e após 30 e 15 minutos, respectivamente, a fita teste foi lida. Na amostra A13102, a solução ativadora foi adicionada no galão, em seguida agitado e após 30 minutos a fita teste foi lida. Nas amostras A18015 e A13169 a fita teste foi usada nas soluções com e sem inibidor de corrosão. Na amostra A12320, sua solução foi preparada para uso único e não foi monitorada pela fita teste.



### 3.2.5 Determinação do teor de APA – Permanganometria e Iodometria

A determinação quantitativa do PH e APA na matéria prima e amostras através da técnica de titulação de oxi-redução por permanganometria e iodometria foi executada utilizando-se os reagentes, o material de laboratório calibrado e os equipamentos calibrados e qualificados do Setor de Cosméticos e Saneantes do Departamento de Química situado no INCQS. Os reagentes utilizados foram: Carbonato de sódio Anidro PA, Ácido Sulfúrico 95-97% PA, Iodeto de potássio PA, Permanganato de Potássio PA, Oxalato de sódio PA, Tiosulfato de sódio pentahidratado PA, Bromato de potássio PA todos da marca Sigma Adrich e Ácido Clorídrico fumegante 37% PA e Amido solúvel PA da marca Merck. Os equipamentos empregados foram: Placa de agitação magnética (FANEM 257); Placa de aquecimento (Fisatom); Banho de aquecimento (Sieger Stern 6).

Em becher, foram adicionados 500 mL da solução de ácido sulfúrico 1 M, e depois, acrescentada a solução de permanganato de potássio 0,1 M, gota a gota, até a coloração levemente rósea. Esta solução foi resfriada, no freezer, a uma temperatura próxima de 5°C, e o volume de 150 mL desta solução foram transferidos para um erlenmeyer. A seguir foi adicionado o volume da amostra, que foi titulado com solução padronizada de permanganato de potássio até a visualização da coloração rósea. Foram acrescentados 10 mL da solução de iodeto de potássio 10% p/p e, posteriormente, o conteúdo foi titulado com solução padronizada de tiosulfato de sódio 0,1 M até o desaparecimento da coloração amarelada. Nesse ponto, foram adicionados 5 mL da solução de amido 5 g/mL e ocorreu o prosseguimento da titulação até o desaparecimento da cor. Uma solução para o branco foi realizada e titulada com solução de tiosulfato de sódio 0,1 M.

### 3.2.6 Determinação do teor de APA – Cerimetria e Iodometria

A determinação quantitativa do PH e APA na matéria prima e amostras através da técnica de titulação de oxi-redução por cerimetria e iodometria foi executada utilizando-se os reagentes, o material de laboratório calibrado e os equipamentos, calibrados e qualificados do Setor de Cosméticos e Saneantes do Departamento de Química situado no INCQS. Os reagentes utilizados foram: Carbonato de sódio Anidro PA, Ácido Sulfúrico 95-97% PA, Iodeto de potássio PA,

Tiosulfato de sódio pentahidratado PA, Bromato de potássio PA, Sulfato cérico amoniacal diidratado PA, Oxalato de sódio PA, Sulfato ferroso heptahidratado PA, 1,10-fenantrolina monohidratada PA todos da marca Sigma Adrich e Ácido Clorídrico fumegante 37% PA e Amido solúvel PA da marca fabricante Merck. Os equipamentos empregados foram: Placa de agitação magnética (FANEM 257); Placa de aquecimento (Fisatom); Banho de aquecimento (Sieger Stern 6).

Em becher, foram adicionados 500 mL de solução de ácido sulfúrico 1 M, 20 gotas da solução indicadora ferroin e depois, acrescentada, gota a gota, solução de sulfato cérico amoniacal 0,1 M até a coloração azul. Esta solução foi resfriada, no freezer, a uma temperatura próxima a 5°C e o volume de 150 mL desta solução foram transferidos para um erlenmeyer. A seguir foi adicionado o volume da amostra que foi titulado com solução padronizada de sulfato cérico amoniacal até a visualização da coloração azul. Foram acrescentados 10 mL da solução de iodeto de potássio 10% p/p e, posteriormente, o conteúdo foi titulado com solução padronizada de tiosulfato de sódio 0,1 M até o aparecimento da coloração laranja. Nesse ponto, foram adicionados 5 mL da solução de amido 5 g/mL e ocorreu o prosseguimento da titulação até o desaparecimento da cor. Uma solução para o branco foi realizada e titulada com solução de tiosulfato de sódio 0,1 M.

### 3.2.7 Determinação do teor de APA - CLAE

A determinação quantitativa do PH, APA e AAc na matéria prima e amostras por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência foi executada utilizando-se os reagentes na validade, o material de laboratório calibrado e os equipamentos calibrados e qualificados do Setor de Cosméticos e Saneantes do Departamento de Química do INCQS. Os reagentes utilizados foram: Água ultra pura (0,22  $\mu\text{m}$ ) (Milli-Q-Millipore); Solução de Peróxido de hidrogênio 30% ISO; Ácido acético glacial 100% PA ISO; Acetonitrila LiChrosolv® grau CLAE todos da marca Merck e Ácido trifluoroacético grau CLAE da marca Sigma Aldrich. Os equipamentos empregados foram: Cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters 600, com detector ultravioleta-visível Waters 2487, a bomba, o forno, o injetor automático Waters 717 plus e foi usado o Programa Millennium® para aquisição de dados; o Cromatógrafo líquido de alta eficiência SCL-10Avp (Shimadzu), com detector ultravioleta-visível com conjunto de diodos SPD-M10Avp, o forno CTO-20A,

a bomba LC-10ADvp, o injetor automático SIL-20<sup>a</sup> e foi usado o Programa LabSolutions® para aquisição de dados; o Cromatógrafo líquido de alta eficiência SCL-10Avp (Shimadzu), com detector ultravioleta-visível SPD-10AVvp, o forno, a bomba LC-10ADvp, o injetor automático SIL-10AF e foi usado o Programa CLASS-VP® para aquisição de dados; as Micropipetas de volume variável Eppendorf (faixa: 100-1000 µL; 500-5000 µL; 1-10 mL); o Sistema de purificação de água fabricante Millipore Direct-Q5 e o Ultrassom fabricante Branson 3210;

Cada etapa do método por CLAE desenvolvido, foi baseado no estudo de Aguiar *et al* (2009), empregando as condições cromatográficas do Quadro 5.

Quadro 5 - Condições cromatográficas das três etapas do estudo.

PARÂMETROS	SC1	SC2	SC3
	<i>Desenvolvimento</i>	<i>Análise no DAD</i>	<i>Quantificação</i>
Equipamento	Waters	Shimadzu	Shimadzu
Coluna	ACE C8 (5 µm) e dimensões de 4,6 mm de diâmetro interno e 150 mm de comprimento, Advanced Chromatography Technologies.	LiChroCart® C8 (5 µm) e dimensões de 4,0 mm de diâmetro interno e 250 mm de comprimento, Merck.	LiChroCart® C8 (5 µm) e dimensões de 4,0 mm de diâmetro interno e 250 mm de comprimento, Merck.
Fase móvel	solução aquosa TFA 0,05%:acetonitrila (95:5) (v/v)		
Comprimento de onda	PH – 255 nm, APA – 225 nm, AAc – 225 nm		
Temperatura	30°C		
Fluxo	0,5 mL/min	0,8 mL/min	0,5 mL/min
Volume de injeção	20 µL		
Tempo de corrida	10 min	10 e 20 min	10 min
TRR1 (PH)	0,56 min	0,68 min	0,49 min
TRR2 (APA)	1,00 min	1,00 min	1,00 min
TRR3 (AAc)	1,19 min	1,24 min	1,35 min

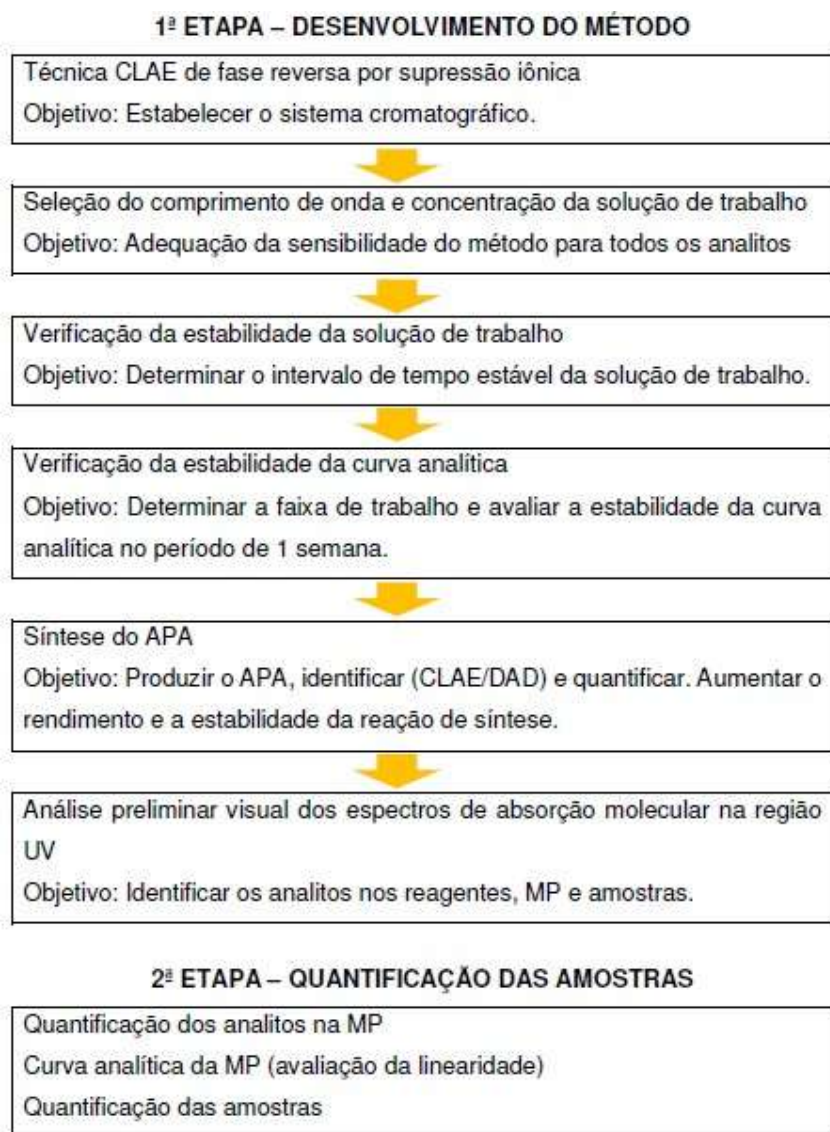
Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: TRR – Tempo de retenção relativo, PH – peróxido de hidrogênio, APA – ácido peracético, AAc – ácido acético, TFA – ácido trifluoroacético, SC – Sistema Cromatográfico.

### 3.2.7.1 Desenvolvimento

O estudo foi desenvolvido segundo o fluxograma apresentado na Figura 3.

Figura 3 - Fluxograma do estudo do desenvolvimento do método por CLAE.



Fonte: (Da autora, 2019).

#### 3.2.7.1.1 Seleção do comprimento de onda

Foram adicionados 6,0 mL da matéria prima do APA em balão volumétrico de 100 mL. Foram acrescentados 50 mL da solução de ácido sulfúrico 3 M e completado até volume final com água ultra pura. Essa solução foi filtrada e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 1, nos seguintes comprimentos de onda: 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250 e 255 nm.

#### 3.2.7.1.2 Seleção da concentração

Foram adicionados 6,0 mL da matéria prima do APA em balão volumétrico de 50 mL. Foram acrescentados 25 mL da solução de ácido sulfúrico 3 M e completado até volume final com água ultra pura. Essa solução foi filtrada e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 1.

Foram adicionados 6,0 mL da matéria prima do APA em balão volumétrico de 25 mL. Foram acrescentados 12,5 mL da solução de ácido sulfúrico 3 M e completado até volume final com água ultra pura. Essa solução foi filtrada e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 1.

#### 3.2.7.1.3 Determinação da estabilidade da solução de trabalho

Foram adicionados 4,0 mL da matéria prima do APA em balão volumétrico de 25 mL, acrescentados 12,5 mL da solução de ácido sulfúrico 3 M e completado até volume final com água ultra pura. Essa solução foi filtrada e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 1. Injetou-se a cada 10 min. no tempo total de 740 min (aproximadamente 12 horas).

#### 3.2.7.1.4 Determinação da estabilidade das soluções da curva analítica

Foram adicionados os seguintes volumes da matéria prima do APA: 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 mL em seus respectivos, balões volumétricos de 25 mL. Foram acrescentados, em cada balão volumétrico, 12,5 mL da solução de ácido sulfúrico 3 M e completado até volume final com água ultra pura. Cada solução foi filtrada e injetada em triplicata, no sistema CLAE, segundo as condições do sistema

cromatográfico 1. Foram reinjetados em triplicata, os 9 níveis, uma semana depois, no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 1.

Os resultados de cada analito deste estudo foram analisados estatisticamente nas planilhas “Avaliação de linearidade de Curva Analítica” e “Efeito Matriz” desenvolvida por Basílio *et al* (2012) e Souza e Junqueira (2005).

#### 3.2.7.1.5 Preparação da reação de síntese do ácido peracético

Neste estudo buscou-se sintetizar uma mistura estabilizada de APA, com base na literatura científica (ZHAO *et al.*, 2007, ZHAO *et al.*, 2008), para a determinação do teor por titulação de oxi-redução e, simultaneamente, pelo método CLAE desenvolvido.

##### Síntese 1 – temperatura ambiente (20-30°C)

No erlenmeyer, adicionou-se 1500 µL de ácido acético glacial e 300 µL de ácido sulfúrico 95-97%, em seguida, foi agitado por 5 min e acrescentado 1500 µL de peróxido de hidrogênio 30%. Foi retirada uma alíquota de 160 µL, diluída com 840 µL de solução de ácido sulfúrico 3 M, no vial e injetado no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 1. Os próximos 16 dias foram monitorados retirando alíquotas de 10 µL da amostra sintetizada, diluindo e injetando no sistema CLAE.

##### Síntese 2 – aumento do volume de ácido sulfúrico e temperatura ambiente (20-30°C)

No erlenmeyer, adicionou-se 3000 µL de ácido acético glacial e 1200 µL de ácido sulfúrico 95-97%, em seguida, foi agitado por 5 min e acrescentado 3000 µL de peróxido de hidrogênio 30%. Foi retirada uma alíquota de 160 µL, diluída com 840 µL de solução de ácido sulfúrico 3 M e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 1. Os próximos 19 dias foram monitorados retirando alíquotas de 10 µL da amostra sintetizada, diluindo e injetando no sistema CLAE.

### Síntese 3 – aumento da temperatura (53-57°C)

No erlenmeyer, adicionou-se 3000 µL de ácido acético glacial e 600 µL de ácido sulfúrico 95-97%, em seguida, foi agitado por 5 min e acrescentado 3000 µL de peróxido de hidrogênio 30%. Foi retirada uma alíquota de 160 µL, diluída com 840 µL de solução de ácido sulfúrico 3 M e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 1. Os próximos 19 dias foram monitorados retirando alíquotas de 10 µL da amostra sintetizada, diluindo e injetando no sistema CLAE.

### Síntese 4 – aumento do volume de ácido sulfúrico e temperatura (53-57°C)

No erlenmeyer, adicionou-se 3000 µL de ácido acético glacial e 1200 µL de ácido sulfúrico 95-97%, em seguida, foi agitado por 5 min e acrescentado 3000 µL de peróxido de hidrogênio 30%. Foi retirada uma alíquota de 160 µL, diluída com 840 µL de solução de ácido sulfúrico 3 M e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 1. Os próximos 19 dias foram monitorados retirando alíquotas de 10 µL da amostra sintetizada, diluindo e injetando no sistema CLAE.

#### *3.2.7.2 Análise preliminar visual dos espectros de absorção molecular na região UV dos sinais dos analitos dos cromatogramas da matéria prima e das amostras*

Adicionou-se o seguinte volume da matéria prima e da amostra do APA, 4,0 mL em balão volumétrico de 25 mL. Foi acrescentado, em cada balão volumétrico, 12,5 mL da solução de ácido sulfúrico 3 M e completado até volume final com água ultra pura. Cada solução foi filtrada e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 2.

As amostras A18015, A17090, A11130, A36176, A10122, A13169 foram preparadas novamente adicionando no balão volumétrico de 25 mL, 4 mL da amostra, 12,5 mL da solução de ácido sulfúrico 3 M, 4mL da matéria prima e completado até volume final com água ultra pura. Cada solução foi filtrada e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 2.

### 3.2.7.3 Curva analítica da matéria prima e determinação do teor de PH, APA e AAc das amostras

#### 3.2.7.3.1 Curva analítica da matéria prima

Adicionou-se os seguintes volumes da matéria prima do APA: 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 mL em seus respectivos, balões volumétricos de 25 mL. Foram acrescentados, em cada balão volumétrico, 12,5 mL da solução de ácido sulfúrico 3 M e completado até volume final com água ultra pura. Para cada nível da curva analítica foram feitas soluções em triplicata independentes. Cada solução foi filtrada e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 3.

Os resultados de cada analito deste estudo foram analisados estatisticamente na planilha “Avaliação de linearidade de Curva Analítica”, desenvolvida por Basílio *et al* (2012) e Souza e Junqueira (2005)

#### 3.2.7.3.2 Quantificação do PH, APA e AAc das amostras, a partir da curva analítica da matéria prima

Todas as amostras foram preparadas adicionando nos respectivos balões volumétricos de 25 mL, 4 mL da amostra, 12,5 mL da solução de ácido sulfúrico 3 M e completado até volume final com água ultrapura. Cada solução foi filtrada e injetada no sistema CLAE, segundo as condições do sistema cromatográfico 3.



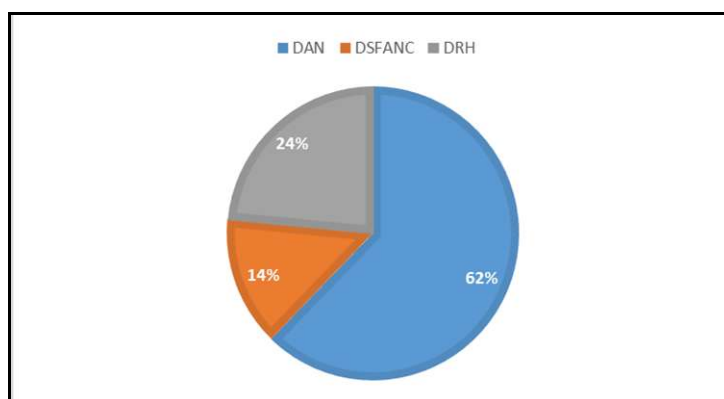
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise documental

#### 4.1.1 Levantamento dos produtos saneantes da categoria desinfetantes à base de ácido peracético

Na busca realizada pelos produtos saneantes, da categoria desinfetantes à base de APA, com registro e de uso em assistência à saúde, no *site* da Anvisa foram encontrados 44 produtos com registro ativo, sendo 62% na categoria desinfetante de alto nível (DAN), 14% como desinfetante de superfície fixa e artigo não crítico (DSFANC) e 24% como desinfetante para roupas hospitalares (DRH), conforme Figura 4.

Figura 4 - Produtos saneantes da categoria desinfetantes à base de APA pesquisados no *site* Anvisa.



Fonte: (*Site* da Anvisa)<sup>2</sup>.

Legenda: APA – ácido peracético, DAN – desinfetante de alto nível; DSFANC – desinfetante de superfície fixa e artigo não crítico; DRH – desinfetante para roupas hospitalares.

O resultado mostra um número expressivo de registros de produtos saneantes à base de APA na categoria DAN, cerca de 62%. Esses produtos podem ser encontrados na forma de pó, como solução pronta para uso com concentração de 0,2% de APA e soluções para diluir com concentrações que variam de 3 a 5% de APA, de uso profissional e de venda proibida ao público. Esses produtos são indicados para uso na desinfecção de artigos médicos e odontológicos semi-críticos,

<sup>2</sup> <https://consultas.anvisa.gov.br/#/saneantes/produtos>

não críticos e superfícies fixas, como por exemplo endoscópios, nebulizadores, material para inaloterapia e assistência ventilatória.

Os produtos saneantes à base de APA na categoria DSFANC, cerca de 14% dos produtos registrados, podem ser encontrados na forma de pó e líquida, como solução concentrada que varia de 1,8 a 5%, de uso profissional e de venda proibida ao público. No rótulo, o fabricante indica o uso (superfícies fixas e artigos não críticos), a diluição e o tempo de contato.

Os produtos saneantes à base de APA na categoria DRH, representando cerca de 24% dos produtos registrados, podem ser encontrados na forma líquida, como solução concentrada em soluções que variam de 5 a 15%, de uso profissional e de venda proibida ao público. No rótulo, o fabricante indica o uso (alvejamento ou desinfecção nas lavanderias hospitalares), a diluição e o tempo de contato.

Assim como no Brasil, em outros países, como os Estados Unidos, são registrados e comercializados produtos saneantes à base de APA. Algumas formulações foram aceitas pelo *Food and Drug Administration* (FDA), como desinfetante de alto nível e esterilizante, para o processamento de instrumentos médicos e odontológicos, contendo APA como ingrediente ativo (FDA, 2015).

#### 4.1.2 Pesquisa das notificações de queixas técnicas e eventos adversos

No período de 2008-2017, foram encontradas 18 notificações de queixas técnicas (QT) e eventos adversos (EA) no Notivisa, relacionadas aos produtos saneantes da categoria desinfetante à base de APA. Os notificadores foram os Hospitais Sentinela, a Visa Estadual e a Anvisa (ouvidoria), sendo 7 estados diferentes. Todos os produtos notificados são desinfetantes à base de APA 0,2%, com formulação contendo PH, APA e AAc, registrados nas seguintes categorias: esterilizante, desinfetante de alto nível e desinfetante para indústria alimentícia, como descrito na Tabela 1.

Tabela 1 - Resumo das notificações de QT e EA dos produtos saneantes à base de APA, no período 2008 à 2017, do Notivisa.

	NOTIFICADOR	QT/EA	ESTADO	PRODUTO	CATEGORIA
1	HS	EA	SP	PH+APA+AAc	Esterilizante
2	HS	EA	SP	PH+APA+AAc	Esterilizante
3	HS	QT	RJ	PH+APA+AAc	Esterilizante
4	HS	EA	RJ	PH+APA+AAc	Esterilizante
5	HS	EA	RJ	PH+APA+AAc	Esterilizante
6	HS	EA	RJ	PH+APA+AAc	Esterilizante
7	HS	EA	RJ	PH+APA+AAc	Esterilizante
8	HS	EA	RJ	PH+APA+AAc	Esterilizante
9	HS	EA	RJ	PH+APA+AAc	Esterilizante
10	NC	EA	CE	PH+APA+AAc	Esterilizante
11	HS	QT	RS	PH+APA+AAc	Esterilizante
12	HS	QT	SP	PH+APA+AAc	DAN
13	HS	QT	RO	PH+APA+AAc	NC
14	Visa	QT	RO	PH+APA+AAc	D.Ind.Alimentícia
15	Visa	QT	RO	PH+APA+AAc	D.Ind.Alimentícia
16	Anvisa	QT	DF	PH+APA+AAc	NC
17	HS	QT	SP	PH+APA+AAc	DAN
18	HS	QT	RJ	PH+APA+AAc	DAN

Fonte: (Formulários de notificação do Notivisa).

Legenda: APA – ácido peracético, NC – nada consta, HS – Hospital Sentinela, QT – queixa técnica, EA – evento adverso, DAN – desinfetante de alto nível.

Nas notificações de EA encontram-se com frequência na descrição do evento, casos, onde os manipuladores, profissionais treinados da área de assistência à saúde, em contato com o produto relataram ardência nos olhos, lacrimejamento, nariz e garganta ressecados, vermelhidão na pele, prurido, cefaleia, sintomas encontrados na ficha de informação de segurança de produtos químicos (FISPQ). É um produto com forte odor, pH baixo, logo o manipulador deve usar EPI, como jaleco, luvas e óculos.

Nas notificações de QT, os notificadores relataram, principalmente, a dificuldade de manuseio da embalagem em relação a tampa e vazamento do produto. Foi notificado um caso de suspeita de desvio da qualidade, onde o notificador comunicava que o resultado da fita teste acusava que a concentração de APA estava abaixo da faixa esperada, no momento que o produto foi aberto para o uso. Em seguida, foi realizada a troca do produto por outro de mesmo fabricante e lote, porém em outra embalagem e quando realizado o teste da fita, o resultado permanecia acusando que a concentração de APA estava abaixo da faixa esperada. Casos de produto com suspeita de não ter registro e produto desinfetante à base de APA com registro na categoria indústria de alimentos sendo utilizado na desinfecção da UTI e na Central de Material e Esterilização (CME) do hospital, também foram notificados. Este produto tinha o rótulo da embalagem diferente do rótulo original, quando foi registrado na Anvisa e informações como validade e diluição do produto diferente do rótulo do produto original.

Nos formulários foram observados falta de clareza nas informações e campos não preenchidos. Na Tabela 2, estão relacionadas, resumidamente, as ocorrências que foram encontradas nas notificações.

Tabela 2 - Principais EA e QT, notificados no Notivisa, no período 2008 a 2017.

EVENTOS ADVERSOS	QUEIXAS TÉCNICAS
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nariz e garganta ressecados</li> <li>• Prurido</li> <li>• Vermelhidão pele</li> <li>• Ardência olhos</li> <li>• Lacrimejamento</li> <li>• Ressecamento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dificuldade de abrir o produto</li> <li>• Suspeita de produto falsificado (informações do rótulo diferente do produto registrado na Anvisa)</li> <li>• Desinfetante para indústria alimentícia foi comprado para uso em assistência à saúde</li> <li>• Produto sem registro</li> <li>• Produto, após aberto e feita a leitura da fita teste estava inadequado para uso</li> <li>• Embalagem com vazamento</li> </ul>

Fonte: (Da autora, 2019).

Através das informações fornecidas no Notivisa é possível conhecer melhor os EA e as QT e subsidiar às ações de regulação no âmbito sanitário dos produtos comercializados no país.

O monitoramento do uso dos produtos saneantes sujeitos à vigilância sanitária é importante e contribui na identificação dos produtos com problemas que comprometam a qualidade e a segurança do seu uso (OLIVEIRA; XAVIER; JÚNIOR, 2013).

O número de notificações de produtos saneantes da categoria desinfetantes a base de APA de uso na assistência à saúde provavelmente está subnotificado, considerando a baixa concentração (0,20%) e a instabilidade do ativo (ZHAO *et al.*, 2007) e a falta de um eficiente controle antes e durante o uso.

Estudo aponta que entre as causas da subnotificação também está à insegurança e a indiferença dos profissionais em relação à relevância desta atividade, dessa forma limitando a identificação de todos os problemas ocorridos nas instituições de saúde (BRANCO, 2015).

Considerando que as notificações ocorrem de maneira voluntária, cabe às instituições de saúde ressaltarem sua importância e criar estratégias para estimular a sua realização, a fim de promover uma mudança na cultura organizacional.

Assim, observar as situações na prática dos profissionais de saúde e notificar as falhas que ocorrem nesse processo devem fazer parte da cultura de segurança do paciente, seguindo as estratégias instituídas pelo Ministério da Saúde. Ao notificar, de forma clara e detalhada, o profissional fornece subsídios para que o serviço de gerenciamento de risco das instituições possa acompanhar o comportamento dos mesmos em sua rotina de trabalho.

Evidencia-se o importante papel desempenhado pelos hospitais, que fazem parte da Rede Sentinela da Anvisa, no monitoramento dos produtos saneantes após sua comercialização. Os mesmos constituem elementos-chave para a geração de dados sobre EA e QT, ao reunir problemas ocorridos em diversas instituições de saúde. Essa articulação permite ao SNVS obter um panorama nacional das ocorrências e, assim, programar ações de prevenção, de forma a contribuir para a segurança do paciente e da equipe envolvida na prestação de cuidados.

## 4.2 Análise laboratorial

### 4.2.1 Determinação do pH

A determinação do pH é um ensaio físico-químico que fornece uma característica de um produto, variável conforme a formulação. De acordo com a RDC 35/2010 (BRASIL, 2010a), um dos requisitos para o registro de produtos saneantes com ação antimicrobiana é a avaliação da variação máxima e mínima aceitável do pH do produto puro e na diluição de uso, quando for o caso.

Em 2013, Carrara *et al.* publicaram um artigo onde abordaram as duas vias de obtenção do APA e a diferença do pH nos dois produtos obtidos. Na via clássica o APA é obtido a partir da reação química entre PH e AAc e na segunda via, conhecida por via alternativa, a obtenção do APA se dá a partir da reação do PH com acetilcaprolactama. Na via clássica o processo de síntese utiliza o ácido fosfórico, ácido sulfúrico ou ácido acético como catalisador e o resultado do pH da solução final é menor que 3,0 enquanto na via alternativa o pH apresenta-se maior, na faixa de 5,0 a 7,5. A solução que apresenta pH < 3,0 tem maior possibilidade de oxidação dos equipamentos expostos (CARRARA *et al.*, 2013). Na Tabela 1 estão apresentados os resultados das determinações de pH das amostras e os respectivos indicativos de componentes da formulação.

Tabela 3 - Resultados da determinação de pH nas amostras.

<b>MEDIDAS DO pH</b>			
<b>Amostras</b>	<b>Certificado</b>	<b>Laboratório</b>	<b>Formulação</b>
A01140	NC	2,29	PH+APA+AAc
A11130	NC	2,75	PH+APA+AAc
A17090	3,0-3,5	3,71	PH+APA+AAc
A10122	NC	3,66	PH+APA+AAc
A36176	NC	3,68	PH+APA+AAc
A18015	NC	2,06	PH+APA+AAc
A18015 (PU)	NC	3,06	PH+APA+AAc
A13169	NC	2,82	PH+APA+AAc
A13169 (PU)	NC	3,64	PH+APA+AAc
A13102	8,2	8,25/5,07	PH+ACET.
A12320	NC	8,97	PERC+TAED

Fonte: (Certificado de análise e laboratório).

Legenda: PU – Pronta para uso, NC - nada consta, PH – peróxido de hidrogênio, APA – ácido peracético, AAc – ácido acético, ACET. – acetilcaprolactama, PERC – percarbonato de sódio, TAED – tetracetililenodiamina.

As soluções de APA com pH muito baixo são inadequadas (corrosivas) aos artigos médicos que devem ser desinfetados, como por exemplo os endoscópios, pois diminuem o tempo de vida destes equipamentos. Uma medida dos fabricantes, foi a utilização dos inibidores de corrosão, que podem ser adicionados no processo de produção ou em sachê, adicionado no momento de uso. O inibidor de corrosão é uma mistura de pós que deve ser adicionada as soluções de APA e resulta no aumento do valor de pH e, conseqüentemente, decomposição do APA. É importante que estas soluções sejam monitoradas, diariamente, em relação a concentração mínima de APA, através das fitas teste, ou caso contrário, sejam descartadas após o uso no processo de desinfecção.

As soluções de APA, geradas *in situ*, a partir da solução de PH e acetilcaprolactama, são soluções com valores de pH em torno de 5,0. Estas soluções são menos corrosivas aos artigos médicos que serão desinfetados, não possuem odor de vinagre, possuem concentração de APA na faixa de 0,08 a 0,15% que deve ser monitorada diariamente através da fita teste, pois ao longo do processo de desinfecção é esperado o decaimento da concentração de APA.

A solução de APA, gerada *in situ*, a partir de percarbonato de sódio e TAED é uma solução com valor de pH em torno de 8,0, conforme verificado no laboratório. Esta solução é para uso em superfícies fixas e artigos não críticos, o fabricante recomenda no rótulo preparar uma solução com concentração de APA de 0,075 % e deverá ser descartada após 8 horas

#### 4.2.2 Determinação da densidade

A densidade é um ensaio físico-químico que consiste em determinar uma característica do produto e varia conforme a formulação de cada fabricante. De acordo com a RDC 35/2010, um dos requisitos para o registro de produtos saneantes com ação antimicrobiana é informar as características físico-químicas do produto.

Neste trabalho, o valor da densidade (Tabela 4) foi utilizado nos cálculos de determinação do teor de PH e APA na permanganometria, cerimentria e iodometria. Foi adicionada uma quantidade de amostra medida em volume e depois calculada a massa através da densidade, para fazer os cálculos.

Tabela 4 - Resultados da densidade da MP e das amostras.

<b>Amostras</b>	<b>Densidade (20°C) g/cm<sup>3</sup></b>
Matéria Prima	1,0379
A01140	1,0364
A11130	1,0379
A17090	1,0281
A10122	1,0481
A36176	1,0492
A18015 / A18015 (PU)	1,0301 / 1,0389
A13169 / A13169 (PU)	1,0394 / 1,0482
A13102	1,0106
A12320	-

Fonte: (Da autora, 2019).

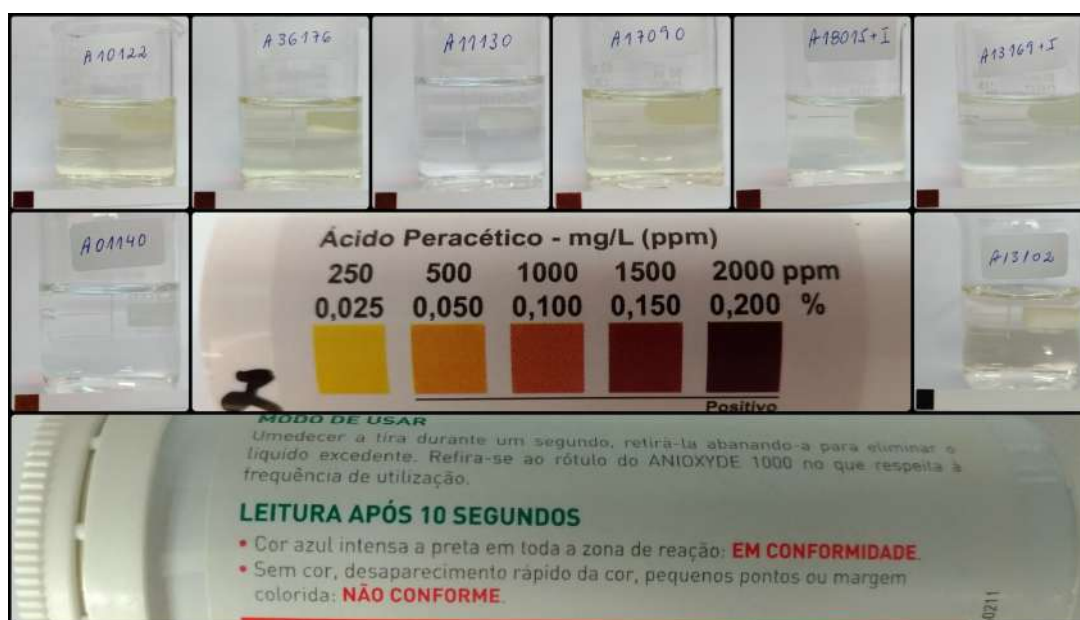
Legenda: MP – matéria prima, PU – pronta para uso



#### 4.2.3 Determinação do teor de ácido peracético – avaliação semi-quantitativa

Todas as amostras foram testadas com as fitas teste e todos os resultados foram positivos. De acordo com o resultado da fita teste, a cor visualizada na fita corresponde a concentração declarada pelo fabricante, como na Figura 5.

Figura 5 - Resultado da avaliação semi-quantitativa do teor de ácido peracético – através da fita teste.



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Amostras: A01140, A10122, A36176, A11130, A17090, A18015+I, A13169+I, A13102.

Na embalagem das fitas teste, os fabricantes apresentam o modo de usar e de realizar a leitura e uma referência constituída de uma escala de cores relacionando com a concentração do APA. É importante mencionar que a solução de APA somente está apta para o uso mediante a coloração da fita em negro ou castanho escuro. A inclusão de outras tonalidades de cores pode ser causa de confusão ou de uma interpretação errônea de uso diante de uma pequena variação na cor da fita (Figura 5).

Das amostras estudadas adquiridas, somente um fabricante não disponibiliza a fita teste para monitoramento da concentração mínima de APA diariamente. Neste caso, a solução pronta para uso deve ser usada e depois descartada. É importante ressaltar que a concentração mínima de APA deve ser testada, diariamente, nas

soluções à base de APA, nos locais de assistência à saúde com o uso da fita teste e dependendo do resultado, estas soluções são liberadas para uso ou então descartadas.

No estudo realizado para sintetizar o APA, no primeiro dia do experimento, a fita foi testada e sinalizou resultado positivo, o que causou dúvida sobre o efetivo monitoramento. Em estudo posterior (estudo da cinética de reação) foi ratificado que a geração do APA por este mecanismo leva um certo tempo para ocorrer. No estudo realizado por Zhao *et al.* (2007), os autores descreveram que a formação do APA ocorre na segunda etapa, que é lenta, o que significa ser necessários alguns dias para o aparecimento do APA. Esse resultado indica que é necessário aprofundar os estudos sobre a eficiência da fita, relacionando a cor obtida na fita com as diversas soluções padronizadas de APA e a devida quantificação por um método seletivo validado, como o método por CLAE/UV com DAD desenvolvido neste trabalho.

A fita teste foi desafiada por imersão nas seguintes soluções, separadamente: ácido acético, ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio. Após alguns segundos em contato com cada solução, todas as fitas teste ficaram enegrecidas acusando resultado positivo para PH. Pode-se concluir que as fitas teste tem sensibilidade para peróxidos e independe da faixa de pH, sendo necessário aprofundar os estudos sobre sua eficiência e validar o seu uso.

De acordo com instruções do fabricante no rótulo do produto, as soluções de APA 0,25% devem ser usadas, após aberta, durante um período de 30 dias e enquanto a fita teste acusar resultado positivo. É importante citar o estudo publicado por Oliveira e Mati em 2015 que avalia alguns fatores relacionados à troca das soluções. Em 75% dos casos foi verificado que a troca das soluções foi devida à concentração estar abaixo da permitida. Ao avaliar este fator os autores perceberam que ocorre, com frequência, uma falha na secagem do aparelho entre as etapas de limpeza e de desinfecção, onde os endoscópios são imersos no desinfetante ainda molhados e ao longo do tempo, diluem esta solução. Outros fatores citados foram: o volume de desinfetante inferior ao necessário para imersão do endoscópio, sujidade e derramamento da solução. Importante ter um procedimento de monitoramento da concentração mínima de APA, diário, que esteja validado e que seja eficaz e seguro para garantir o processo de desinfecção dos artigos médicos, por exemplo, os endoscópios.

#### 4.2.4 Determinação do teor de ácido peracético: titulação de oxi-redução: Permanganometria, Cerimetria e Iodometria

No método por permanganometria e iodometria, na primeira titulação feita com solução de permanganato de potássio determina-se a concentração do PH e, posteriormente, na segunda titulação com tiosulfato de sódio determina-se a concentração do APA. O permanganato de potássio é um oxidante forte de cor violeta intensa. Para titulações em solução fortemente ácida, o  $\text{KMnO}_4$  serve como seu próprio indicador (HARRIS, 2013). Na mistura estabilizada de PH, APA e AAc o permanganato de potássio ( $\text{Mn}^{+7}$ ) é reduzido a  $\text{Mn}^{+2}$  pelo  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o iodeto de potássio ( $\text{I}^{-1}$ ) é oxidado a  $\text{I}_2$  pelo APA.

No método por cerimetria e iodometria, a primeira titulação feita com solução de sulfato cérico amoniacal determina-se a concentração do PH e, posteriormente, na segunda titulação com tiosulfato de sódio determina-se a concentração do APA. A redução do  $\text{Ce}^{4+}$  a  $\text{Ce}^{3+}$  se passa de maneira completa em soluções ácidas. O  $\text{Ce}^{4+}$  é amarelo e o  $\text{Ce}^{3+}$  é incolor. Porém, esta mudança de cor não é suficientemente visível para que o cério seja o seu próprio indicador. A ferroína e outros indicadores redox do tipo fenantrolinas substituídas são mais apropriadas para as titulações com o  $\text{Ce}^{4+}$ . Na mistura estabilizada de PH, APA e AAc, o sulfato cérico amoniacal ( $\text{Ce}^{+4}$ ) é reduzido a  $\text{Ce}^{+3}$  pelo  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o iodeto de potássio ( $\text{I}^{-1}$ ) é oxidado a  $\text{I}_2$  pelo APA (SOLVAY, 2019a).

Os métodos por permanganometria, cerimetria e iodometria permitem determinar o teor de PH e o APA. As amostras incluídas no estudo eram constituídas de 0,25% de APA e 4 a 7% de PH. Nas amostras onde o APA é formado a partir do percarbonato de sódio e TAED, no momento do preparo da solução, somente o APA é quantificado por iodometria. Os resultados encontrados na permanganometria, cerimetria e na iodometria são superestimados devido às limitações do método (Tabela 5). Algumas limitações da titulação de oxi-redução são: este método é específico para substâncias oxidantes porém não é seletivo para os peróxidos e perácidos; ao final da primeira titulação, pode ocorrer resíduo do PH que atuará na segunda titulação como redutor, consumindo tiosulfato de sódio e resultando em valor superestimado do APA na segunda titulação; a solução aquosa de permanganato de potássio é instável, e necessita ser padronizada frequentemente (HARRIS, 2013).

Tabela 5 - Resultados da determinação do teor de APA da MP e amostras obtidos a partir da análise laboratorial e fabricante.

AMOSTRAS	CERTIFICADO	PERM+IOD	CER+IOD
Matéria Prima	0,27	0,41	0,44
A01140	0,27	0,40	0,44
A11130	0,26	0,46	0,46
A17090	0,20	0,29	0,17
A10122	0,25	0,48	0,30
A36176	0,26	0,43	0,25
A18015	-	0,42	0,25
A18015 (PU)	-	0,39	0,22
A13169	-	0,45	0,39
A13169 (PU)	0,27	0,42	0,46
A13102	-	0,22	0,24
A12320	-	0,22	0,22

Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: MP – Matéria Prima, PU – Pronta para uso, PERM+IOD – Permanganometria + iodometria; CER+IOD – Cerimetria + iodometria.

O ácido sulfúrico é o catalisador na reação de formação do APA, à medida que o PH é consumido o equilíbrio da reação é alterado, podendo haver um deslocamento que favoreça a formação do APA. Pode haver resíduo de PH na etapa da iodometria e interferentes como agentes oxidantes contidos na matriz, dificultando a visualização da viragem de cor do indicador. Sobre esse aspecto, em 2013, Cavallini *et al* publicaram um estudo sobre comparação de métodos de quantificação de resíduos de APA e encontraram em seus resultados por permanganometria e iodometria valores superestimados para APA que foram explicados pela possibilidade de resíduo de PH na segunda etapa da volumetria, a iodometria. Como já mencionado, uma desvantagem da permanganometria e iodometria é o fato de serem métodos específicos para agentes oxidantes e não seletivos para PH e APA.

Na titulação com o sulfato de cério (IV) as limitações do método estão relacionadas com o efeito catalítico do ácido sulfúrico na reação de formação do APA e as reações de decomposição do APA.

#### 4.2.5 Determinação do teor de ácido peracético: Cromatografia líquida de alta eficiência

##### 4.2.5.1 Desenvolvimento

##### 4.2.5.1.1 Seleção do comprimento de onda

O estudo da seleção do comprimento de onda para cada componente da solução de APA foi feito com a solução de maior concentração da curva analítica, preparada a partir da MP, para que a intensidade dos sinais cromatográficos fosse observada, conforme a Tabela 6.

Tabela 6 - Intensidade do sinal cromatográfico de cada componente da matéria prima de APA nos diferentes comprimentos de onda.

<b>Solução 1 (diluição 6/100)</b>									
<b><math>\lambda</math></b>	<b>215</b>	<b>220</b>	<b>225</b>	<b>230</b>	<b>235</b>	<b>240</b>	<b>245</b>	<b>250</b>	<b>255</b>
<b>PH</b>	2,79	2,41	2,02	1,70	1,31	1,10	0,83	0,64	0,48
<b>APA</b>	0,23	0,17	0,13	0,09	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02
<b>AAc</b>	0,28	0,21	0,13	0,07	0,03	0,01	0,005	0,0006	-

Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Os resultados em destaque na Tabela, correspondem aos comprimentos de onda selecionados.

A partir dos resultados da Tabela 6 foi observada a possibilidade de detecção dos três componentes, na mesma corrida cromatográfica, a partir do monitoramento de dois comprimentos de onda. Para detectar o APA e o AAc foi selecionado 225 nm e para o PH 255 nm.

##### 4.2.5.1.2 Seleção da concentração

A partir dos comprimentos de onda definidos para cada analito, o estudo da seleção da concentração da solução de APA foi realizado com o objetivo de maximizar a intensidade dos sinais cromatográficos com a solução da curva analítica de maior concentração, conforme a Tabela 7.

Tabela 7 - Intensidade do sinal cromatográfico de cada componente da matéria prima de APA em 225 e 255 nm.

<b>Solução 1 (diluição 6/50)</b>			
<b><math>\lambda</math></b>	<b>PH</b>	<b>APA</b>	<b>AAc</b>
<b>225</b>	3,34	0,21	0,27
<b>255</b>	0,89	0,06	0,002
<b>Solução 2 (diluição 6/25)</b>			
<b>225</b>	-	0,36	0,52
<b>255</b>	1,71	0,12	0,01

Fonte: (Da autora, 2019).

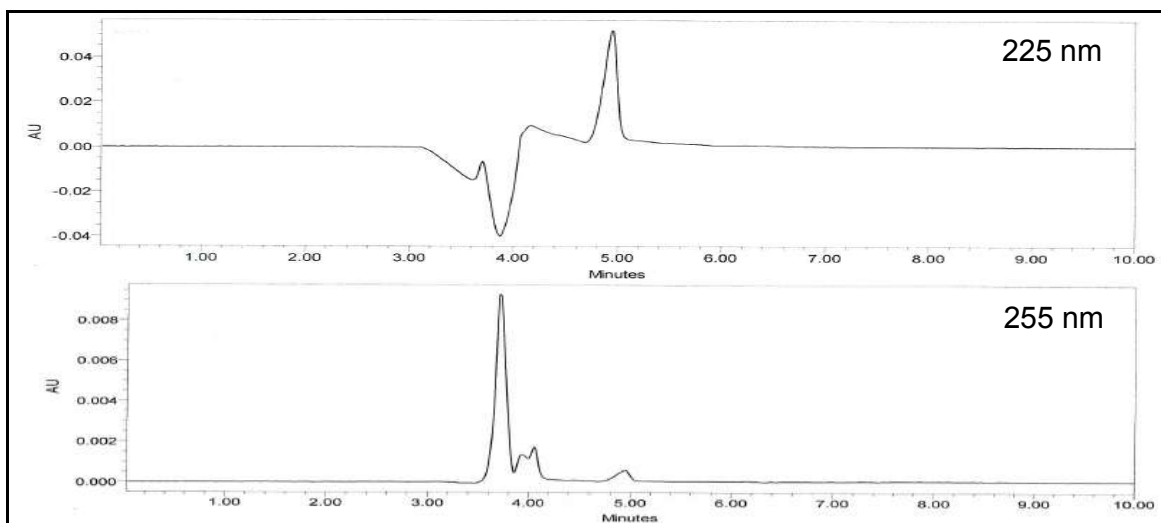
Legenda: Os valores em destaque na tabela, correspondem os melhores resultados obtidos para cada analito em cada concentração de solução de APA.

A partir dos resultados encontrados na Tabela 7 foi observada a possibilidade de se construir uma curva analítica, inicialmente, de 9 níveis de concentração, igualmente espaçados, começando com alíquotas de 2 mL e terminando com alíquotas de 6 mL em balões volumétricos de 25 mL.

Nesta fase, foi injetado o diluente, o reagente de PH, o reagente de AAc e a matéria prima, segundo condições do sistema cromatográfico 1.

No método desenvolvido para determinação de PH, APA e AAc (Figuras 6, 7 e 8) foi utilizada a técnica de separação por CLAE que segue o princípio da supressão iônica e detecção por absorção molecular na região UV. Utilizou-se como fase estacionária uma coluna cromatográfica C8 (apolar) e como fase móvel uma mistura de solução de ácido trifluoroacético (TFA) e acetonitrila (ACN) (95:5; polar, pH = 2,5). Os três analitos de interesse nas amostras que foram separados e quantificados possuem os seguintes pKa: PH = 11,6; APA = 8,2 e AAc = 4,76. Estes valores estão acima do pH da fase móvel que é uma condição importante para que os três componentes estejam na forma não ionizada. A eluição dos analitos na coluna cromatográfica (apolar) dependeu da afinidade com esta, portanto, foram eluídos primeiro as moléculas mais polares ficando mais retidos aquelas menos polares. Considerando que as três moléculas são polares e de diferentes intensidades (PH > APA > AAc), a separação se deu a partir da molécula mais polar (menor TR) para a menos polar (maior TR) (Tabela 8).

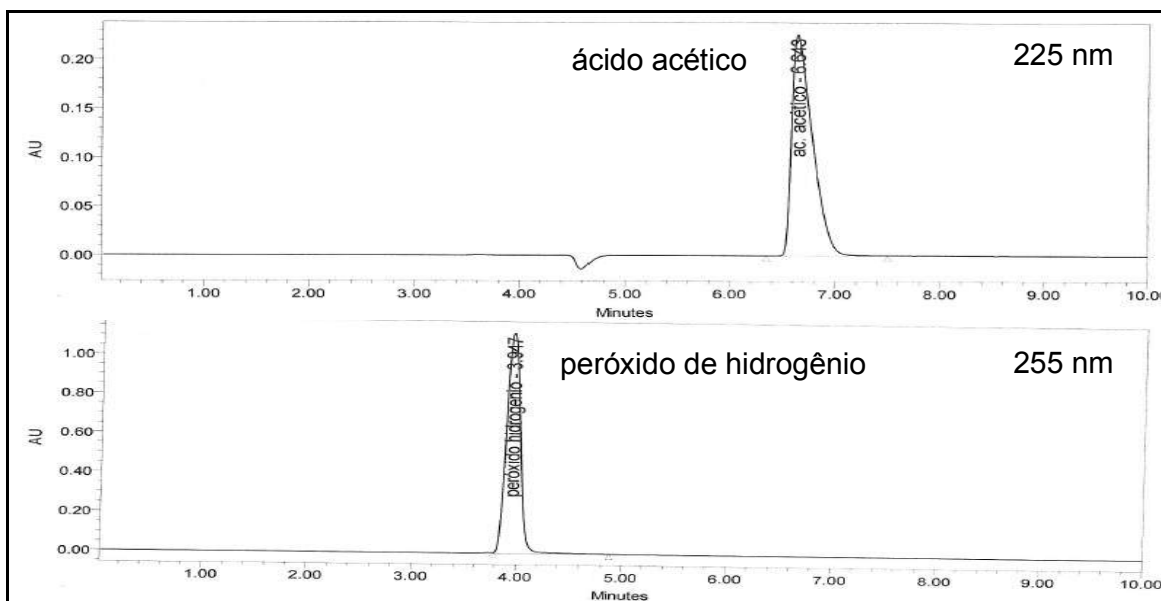
Figura 6 - Cromatograma do diluente ( $H_2SO_4$ ) em 225 e 255 nm, segundo condições do sistema cromatográfico 1.



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (AU) x tempo de corrida (min).

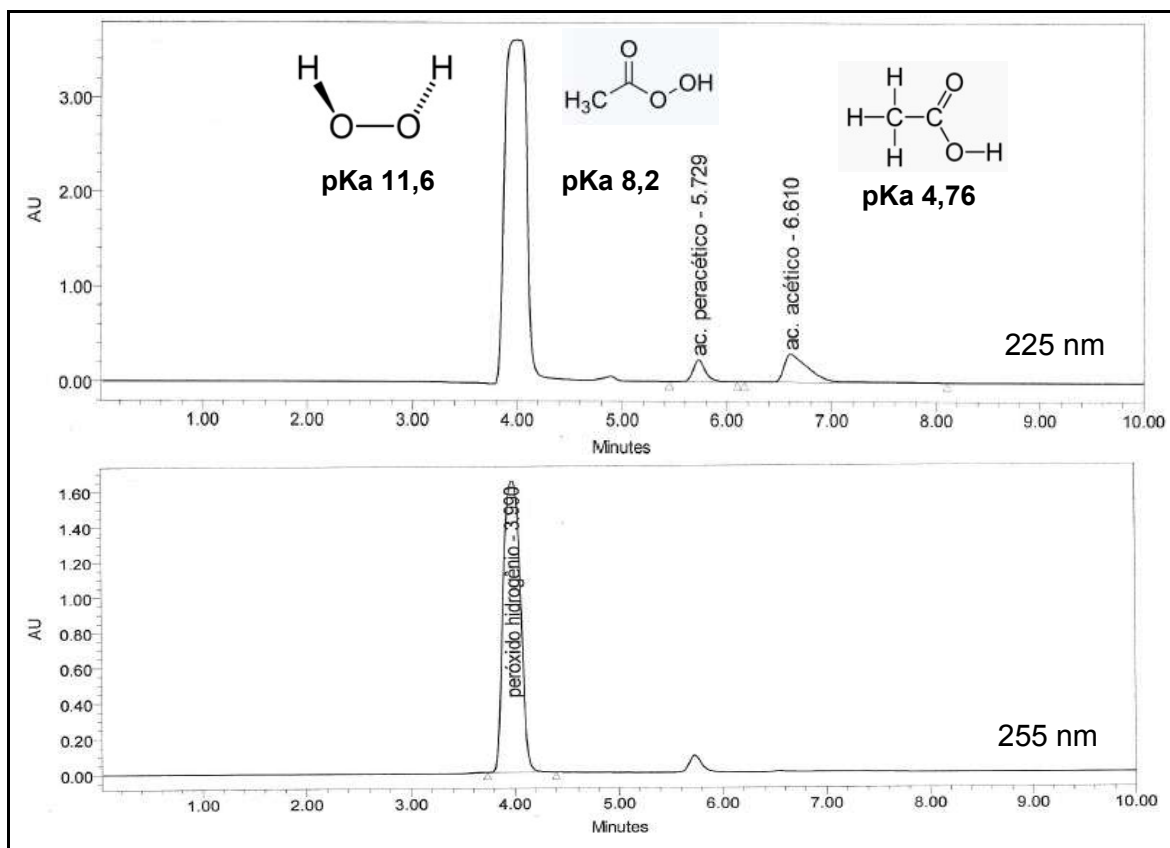
Figura 7 - Cromatogramas do reagente AAc em 225 nm e do reagente PH em 255 nm, segundo condições do sistema cromatográfico 1.



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (AU) x tempo de corrida (min).

Figura 8 - Cromatograma da matéria prima em 225 e 255 nm, segundo condições do sistema cromatográfico 1.



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (AU) x tempo de corrida (min).

Tabela 8 - Comprimento de onda e tempo de retenção de cada analito

COMPRIMENTO DE ONDA E TEMPO DE RETENÇÃO			
Componentes	$\lambda$ (nm)	Reagente (min)	Matéria prima (min)
<b>PH</b>	255	3.947	3,990
<b>APA</b>	225	-	5,729
<b>AAc</b>	225	6,643	6,610

Fonte: (Da autora, 2019).

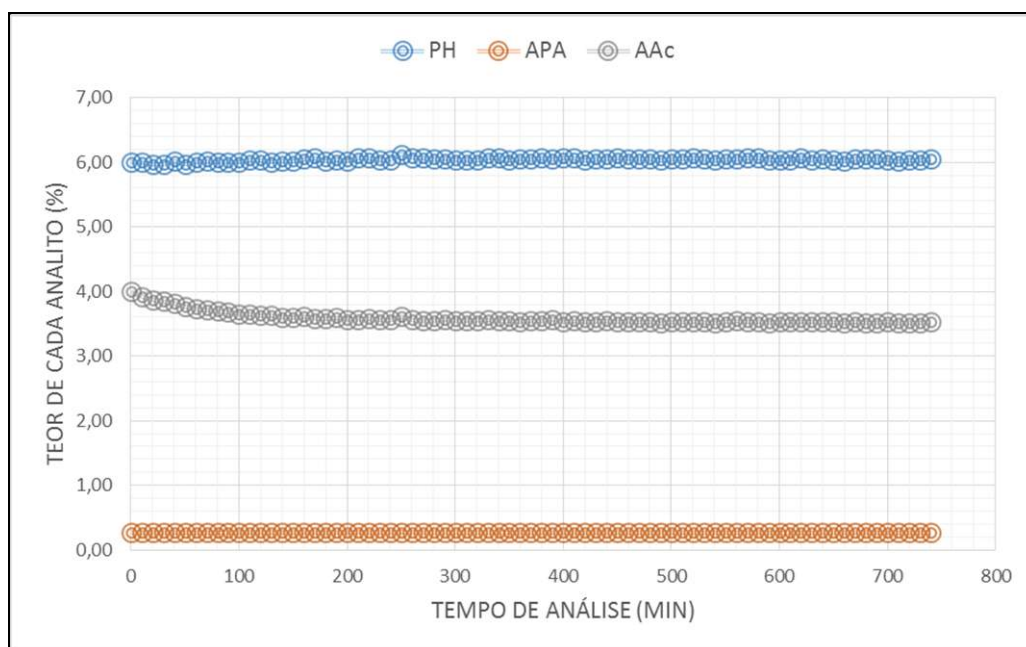
#### 4.2.5.1.3 Determinação da estabilidade da solução de trabalho

Neste estudo, a solução de trabalho de APA foi avaliada quanto a sua estabilidade no período de 740 minutos ou aproximadamente 12 horas. De acordo com a Figura 9, o PH e o APA foram estáveis enquanto o AAc apresentou



decaimento na concentração (0,6%) nos primeiros 100 minutos, que deverá ser corrigido no resultado final. Este resultado indica que para a determinação do teor de PH, APA e AAc as soluções devem ser preparadas e injetadas após 100 min e que essas soluções são estáveis durante as primeiras 12 horas, sendo um facilitador na rotina analítica.

Figura 9 - Variação da concentração dos analitos da solução de trabalho em 225 e 255 nm nos primeiros 740 min, segundo condições do sistema cromatográfico 1.



Fonte: (Da autora, 2019).

#### 4.2.5.1.4 Determinação da estabilidade das soluções da curva analítica

O teste da estabilidade foi realizado em duas semanas consecutivas. Na primeira semana, as soluções de APA de cada nível da curva analítica (9 níveis) foram preparadas, injetadas em triplicatas no cromatógrafo, segundo condições do sistema cromatográfico 1. Os componentes da solução de APA foram separados e quantificados, como na Figura 8. Com os resultados das áreas obtidos foi avaliada a faixa de trabalho e os dois últimos níveis foram rejeitados. Foi proposta uma curva analítica com os 7 primeiros níveis para cada analito e a linearidade foi avaliada para cada analito segundo os parâmetros da planilha (BASILIO *et al.*, 2012, SOUZA; JUNQUEIRA, 2005), conforme demonstrado na Tabela 9 e Apêndice A.

Tabela 9 - Resumo dos testes para avaliação da linearidade da curva analítica (1ª semana)

<b>Testes estatísticos</b>	<b>Peróxido de hidrogênio</b>	<b>Ácido peracético</b>	<b>Ácido acético</b>
<b>Análise da Regressão (Modelo: <math>Y = bx + a</math>)</b>	$A = 1,24 \cdot 10^7 C + 2,04 \cdot 10^5$	$A = 2,87 \cdot 10^7 C + 4,03 \cdot 10^3$	$A = 4,78 \cdot 10^6 C + 2,68 \cdot 10^4$
<b>Coeficiente de determinação (<math>r</math>)</b>	1,0000	0,9995	0,9985
<b>Significância da regressão (ANOVA, <math>p &lt; 0,001</math>)</b>	$p = 1,47 \cdot 10^{-33}$	$p = 3,60 \cdot 10^{-28}$	$p = 2,22 \cdot 10^{-25}$
<b>Desvio da linearidade (Falta de Ajuste, <math>p &gt; 0,05</math>)</b>	$p = 4,14 \cdot 10^{-1}$	$p = 3,49 \cdot 10^{-1}$	$p = 2,61 \cdot 10^{-1}$
<b>Normalidade dos resíduos</b> <i>Rcrit = 0,95 (PH)</i> <i>Rcrit = 0,95 (APA)</i> <i>Rcrit = 0,95 (AAc)</i> <i>(Ryan-Joiner, Req &gt; Rcrit)</i>	Req = 0,96	Req = 0,98	Req = 0,85
<b>Autocorrelação dos resíduos</b> <i>dL = 1,16 dU = 1,39 (PH)</i> <i>dL = 1,20 dU = 1,41 (APA)</i> <i>dL = 1,22 dU = 1,42 (AAc)</i> <i>(Durbin-Watson, dcal &gt; dU)</i>	d (calculado) = 2,48	d (calculado) = 1,93	d (calculado) = 2,11
<b>Homogeneidade dos resíduos (Brown-Forsythe, <math>p &gt; 0,05</math>)</b>	$p = 2,71 \cdot 10^{-1}$	$p = 5,28 \cdot 10^{-1}$	$p = 5,37 \cdot 10^{-1}$

Fonte: (Da autora, 2019).

A linearidade da curva analítica do PH e APA na faixa de concentração estudada foi confirmada. Foi confirmado e retirado um valor extremo para o APA e três valores extremos para o PH pelo teste Jackknife (em vermelho no Apêndice A). A premissa de que os resíduos devem seguir a distribuição normal foi confirmada pelo

teste Ryan-Joiner. A variabilidade dos resíduos da regressão ao longo dos níveis de concentração estudados foi constante, demonstrando homoscedasticidade, a estatística  $t$  de Levene não foi significativa ( $p > 0,05$ ). A independência dos resíduos da regressão foi evidenciada pelo teste de Durbin-Watson. Os resultados permitem concluir que a significância da regressão foi alta ( $p < 0,001$ ) com desvio da linearidade não significativo ( $p > 0,05$ ). O método está livre de tendência (valor  $p$  da interceção  $> 0,05$ ) (SOUZA; JUNQUEIRA, 2005).

A linearidade da curva analítica do AAc na faixa de concentração estudada não foi confirmada, provavelmente, devido a não ter sido respeitado o período de decaimento da concentração do AAc. Na validação do método, este tempo deverá ser respeitado.

Na segunda semana, as soluções de APA da primeira curva analítica foram reinjetadas em triplicata no mesmo cromatógrafo, segundo condições do sistema cromatográfico 1. Os componentes da solução de APA foram separados e quantificados, como mostrado na Figura 8. Com os resultados das áreas obtidos foi avaliada a linearidade para cada analito segundo os parâmetros da planilha (BASILIO *et al.*, 2012, SOUZA; JUNQUEIRA, 2005), conforme demonstrado na Tabela 10 e Apêndice B.

A linearidade da curva analítica do PH, APA e AAc na faixa de concentração estudada foi confirmada. Foram confirmados e retirados dois valores extremos para o PH e APA e nenhum valor extremo para o AAc pelo teste Jacknife (em vermelho no Apêndice B). A premissa de que os resíduos devem seguir a distribuição normal foi confirmada pelo teste Ryan-Joiner. A variabilidade dos resíduos da regressão ao longo dos níveis de concentração estudados foi constante, demonstrando homoscedasticidade, a estatística  $t$  de Levene não foi significativa ( $p > 0,05$ ). A independência dos resíduos da regressão foi evidenciada pelo teste de Durbin-Watson. Os resultados permitem concluir que a significância da regressão foi alta ( $p < 0,001$ ) com desvio da linearidade não significativo ( $p > 0,05$ ). O método está livre de tendência (valor  $p$  da interceção  $> 0,05$ ) (SOUZA; JUNQUEIRA, 2005).

Tabela 10 - Resumo dos testes para avaliação da linearidade da curva analítica (2ª semana)

<b>Testes estatísticos</b>	<b>Peróxido de hidrogênio</b>	<b>Ácido peracético</b>	<b>Ácido acético</b>
<b>Análise da Regressão (Modelo: <math>Y = bx + a</math>)</b>	$A = 1,24 \cdot 10^7 C + 4,8 \cdot 10^5$	$A = 2,86 \cdot 10^7 C + 1,71 \cdot 10^3$	$A = 5,03 \cdot 10^6 C - 1,90 \cdot 10^5$
<b>Coefficiente de determinação (r)</b>	1,0000	0,9999	0,9994
<b>Significância da regressão (ANOVA, <math>p &lt; 0,001</math>)</b>	$p = 9,53 \cdot 10^{-36}$	$p = 3,84 \cdot 10^{-32}$	$p = 6,44 \cdot 10^{-29}$
<b>Desvio da linearidade (Falta de Ajuste, <math>p &gt; 0,05</math>)</b>	$p = 8,69 \cdot 10^{-2}$	$p = 1,16 \cdot 10^{-1}$	$p = 7,31 \cdot 10^{-1}$
<b>Normalidade dos resíduos</b> <i>Rcrit = 0,95 (PH)</i> <i>Rcrit = 0,95 (APA)</i> <i>Rcrit = 0,95 (AAc)</i> <i>(Ryan-Joiner, Req &gt; Rcrit)</i>	Req = 0,98	Req = 0,98	Req = 0,98
<b>Autocorrelação dos resíduos</b> <i>dL = 1,18 dU = 1,40 (PH)</i> <i>dL = 1,18 dU = 1,40 (APA)</i> <i>dL = 1,22 dU = 1,42 (AAc)</i> <i>(Durbin-Watson, dcal &gt; dU)</i>	d (calculado) = 1,55	d (calculado) = 1,73	d (calculado) = 1,98
<b>Homogeneidade dos resíduos (Brown-Forsythe, <math>p &gt; 0,05</math>)</b>	$p = 7,58 \cdot 10^{-1}$	$p = 3,46 \cdot 10^{-1}$	$p = 5,98 \cdot 10^{-1}$

Fonte: (Da autora, 2019).

As curvas analíticas do PH e APA da primeira semana foram comparadas com as curvas analíticas da segunda semana. As curvas analíticas foram comparadas através do Teste de hipótese t (comparação de médias dos coeficientes angular e linear). Se o t calculado for menor que o t tabelado podemos dizer que

estatisticamente não há diferença significativa entre as curvas analíticas e a solução é estável, no período avaliado.

Os dados apresentados na Tabela 11 e Apêndice C indicam que as curvas analíticas do APA não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, devido ao fato de que o  $t_a$  e o  $t_b$  calculados serem menores do que o  $t$  tabelado, indicando estabilidade de uma semana. As curvas analíticas do PH, conforme a Tabela 11 e Apêndice D, apresentaram diferenças estatisticamente significativas, devido ao  $t_a$  e o  $t_b$  calculados serem maiores do que o  $t$  tabelado. Provavelmente, essa diferença foi devido a curva analítica ter sido preparada em triplicatas dependentes, indicando resultado inconclusivo. O Teste de Hipótese  $t$  não foi realizado para o AAc porque não foi comprovado linearidade na curva analítica da primeira semana. Na validação, todas as curvas analíticas serão preparadas em triplicatas independentes e respeitando o tempo de decaimento da concentração do AAc (100 min)

Tabela 11 - Resumo dos testes para avaliação da linearidade da curva analítica (2ª semana)

<b>Testes estatísticos</b>	<b><math>t_b</math></b>	<b><math>t_a</math></b>	<b><math>t_{tab}</math></b>
Teste de hipótese $t$ (PH) $t_b$ e $t_a < t_{tab}$	4,86	12,84	2,03
Teste de hipótese $t$ (APA) $t_b$ e $t_a < t_{tab}$	0,47	0,33	2,06

Fonte: (Da autora, 2019).

#### 4.2.5.1.5 Preparação da reação de síntese do ácido peracético

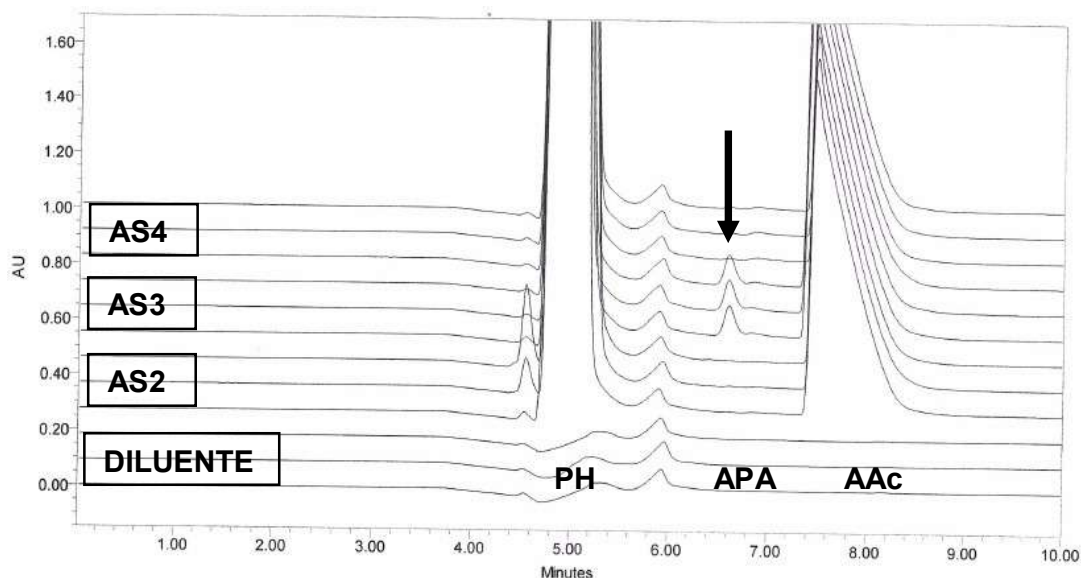
Como já mencionado, foi realizada a reação de síntese do APA. A curva AS1 representa a primeira síntese do APA no laboratório, à temperatura ambiente. Por volta do sétimo dia foi alcançada a maior concentração de APA e em seguida, devido a sua instabilidade, observou-se um decaimento muito rápido, impossibilitando sua quantificação, como representado na Figura 11.

A segunda etapa foi melhorar a estabilidade a partir do aumento da concentração de  $H^+$  (AS2), do aumento da temperatura (AS3) e do aumento da concentração  $H^+$  acrescido do aumento da temperatura (AS4).

Na síntese AS2 e AS4 não houve formação adequada APA, entretanto na síntese AS3 verificou-se um aumento do rendimento de APA e não houve melhora significativa da estabilidade. A temperatura é uma condição que favorece a reação, aumentando o número de choque efetivo (ZHAO *et al.*, 2007).

Em todas as sínteses AS1, AS2, AS3 e AS4 foi observado um sinal cromatográfico próximo ao tempo de retenção do ácido peracético na MP (6,9 min), que permitiu a construção da Figura 11, evidenciando uma maior intensidade na AS3 como demonstrado na Figura 10. Devido a instabilidade do APA produzido não foi possível, no sistema CLAE, coleta-lo para quantificar pela titulação de oxidação-redução.

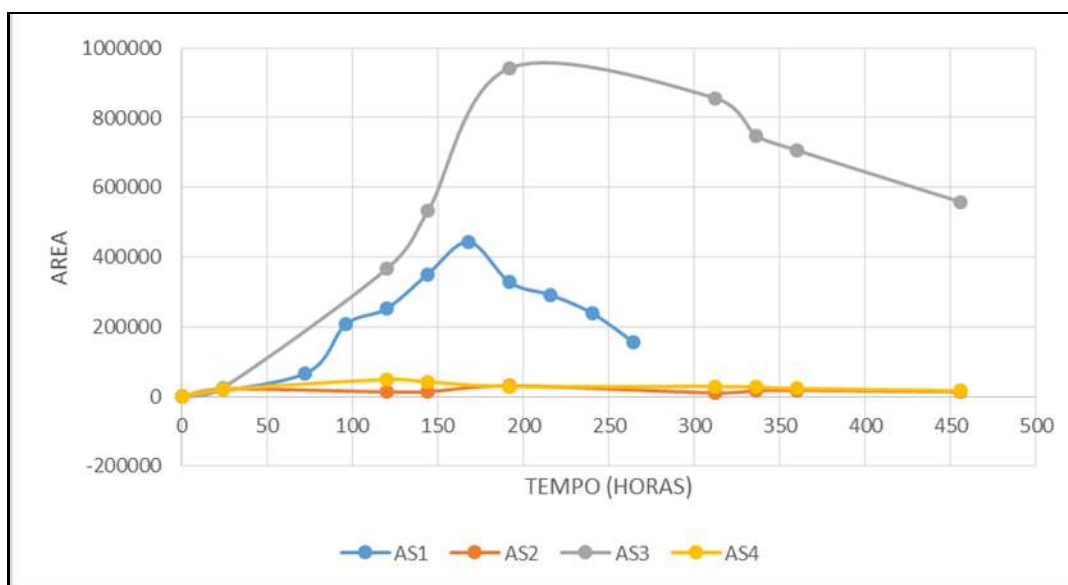
Figura 10 - Cromatograma dos produtos obtidos na síntese.



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (AU) x tempo de corrida (min)

Figura 11 - Tentativas de síntese do APA, a partir de modificações na temperatura e na concentração de  $H^+$ .



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do gráfico: Área do sinal cromatográfico x tempo de análise (horas).

#### 4.2.5.2 Análise preliminar visual dos espectros de absorção molecular na região UV dos sinais dos analitos dos cromatogramas da matéria prima e das amostras

Neste estudo, o diluente, os reagentes de PH e AAc, a matéria prima e as amostras foram injetados no cromatógrafo, segundo condições do sistema cromatográfico 2 e os espectros (UV) obtidos do DAD foram analisados comparativamente. A análise preliminar visual dos espectros de absorção molecular na região UV de 190 a 350 nm, nos permitiu avaliar a seletividade do método, conhecer o espectro do PH e do AAc a partir dos reagentes e, conseqüentemente, identifica-los na matéria prima, nas amostras e no produto da síntese (AS3).

No espectro do diluente (Figura 12), nos tempos de retenção referentes aos sinais do PH (5,2 min), APA (6,9 min) e AAc (8,2 min) verificou-se que a intensidade do sinal na varredura espectral se manteve próximo a zero, indicando que não há interferência do diluente nos sinais dos analitos estudados e que a absorbância foi proveniente de cada ativo pesquisado, portanto, o método possui seletividade adequada.

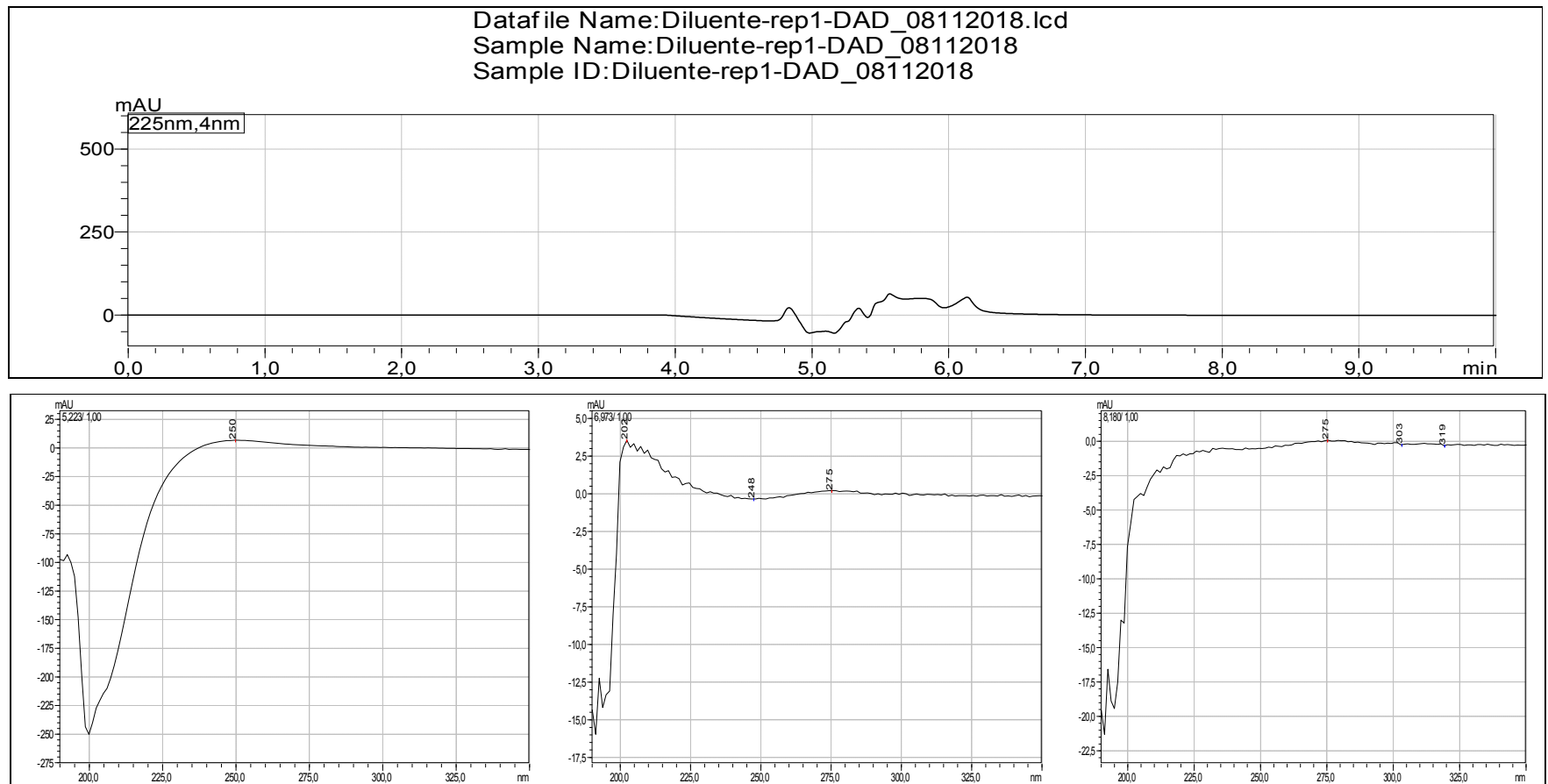
As identificações do PH e do AAc foram feitas a partir da obtenção dos espectros (UV) nos cromatogramas das soluções dos reagentes grau analítico de

PH (Figura 14) no tempo de retenção 5,2 min e do AAc (Figura 13) no tempo de retenção 8,2 min. Estes espectros foram comparados aos espectros obtidos nos cromatogramas da matéria prima, das amostras e do produto da síntese, nos mesmos tempos de retenção de cada analito.

No cromatograma da MP foi evidenciado a presença de quatro sinais nos tempos de retenção 5,2 min, 6,0 min, 6,9 min e 8,2 min (Figura 15). Verificou-se que o sinal 6,0 refere-se ao diluente (Figura 12). Para os demais tempos de retenção foram obtidos os respectivos espectros (Figura 15). Analisando os espectros da MP em comparação com os espectros dos reagentes, foi verificada a presença do PH (5,2 min) e do AAc (8,2 min). Considerando o descrito no item 4.2.5.1.2, sobre mecanismo de separação cromatográfica era esperada a eluição do APA entre o TR do PH e do AAc (polaridade intermediária). Assim como, no estudo da síntese (item 4.2.5.1.5) foi verificada a eluição de um sinal no TR intermediário (6,9 min) indicando que o sinal no TR 6,2 min no cromatograma da MP referiu-se ao APA.



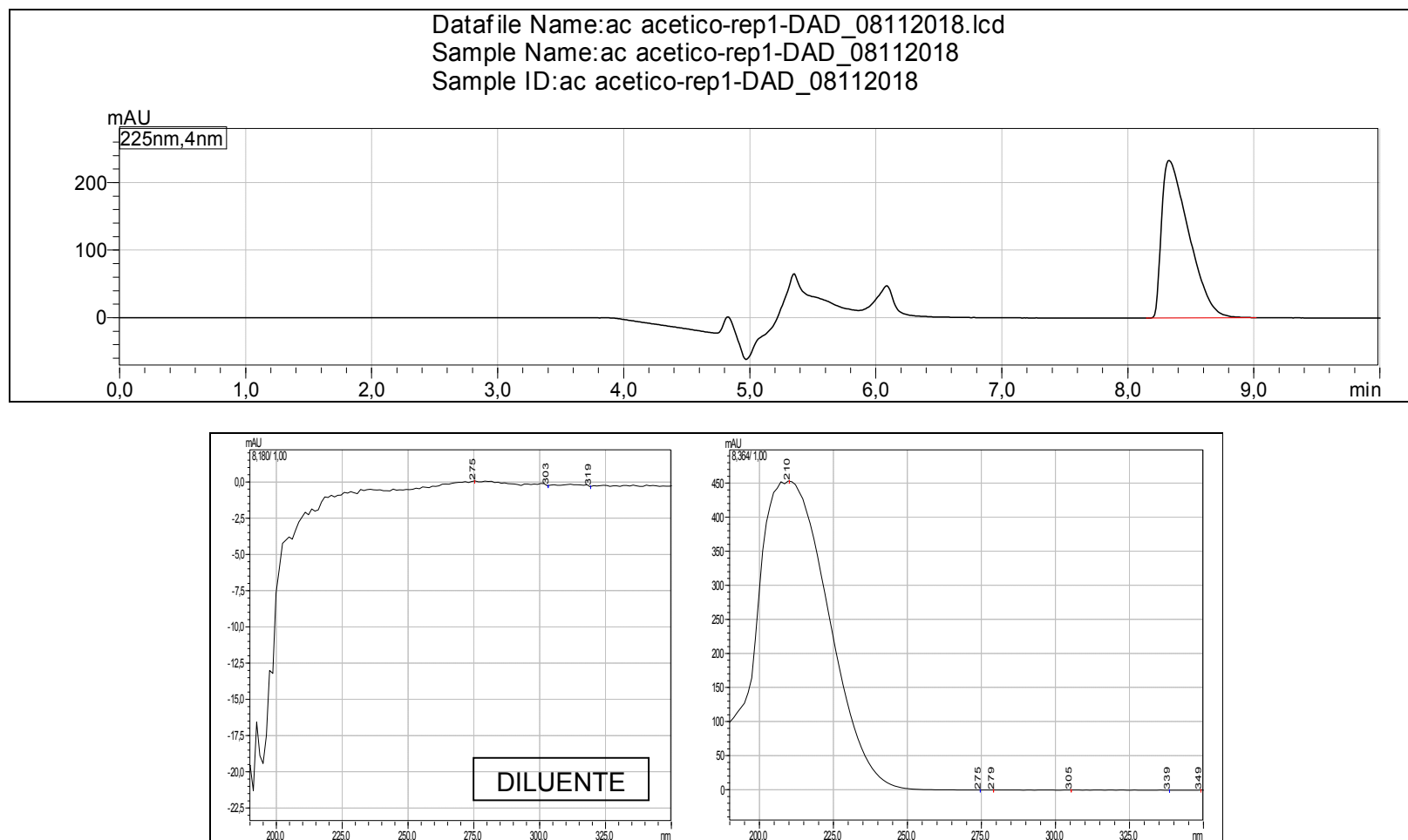
Figura 12 - Cromatograma do diluente em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min)



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

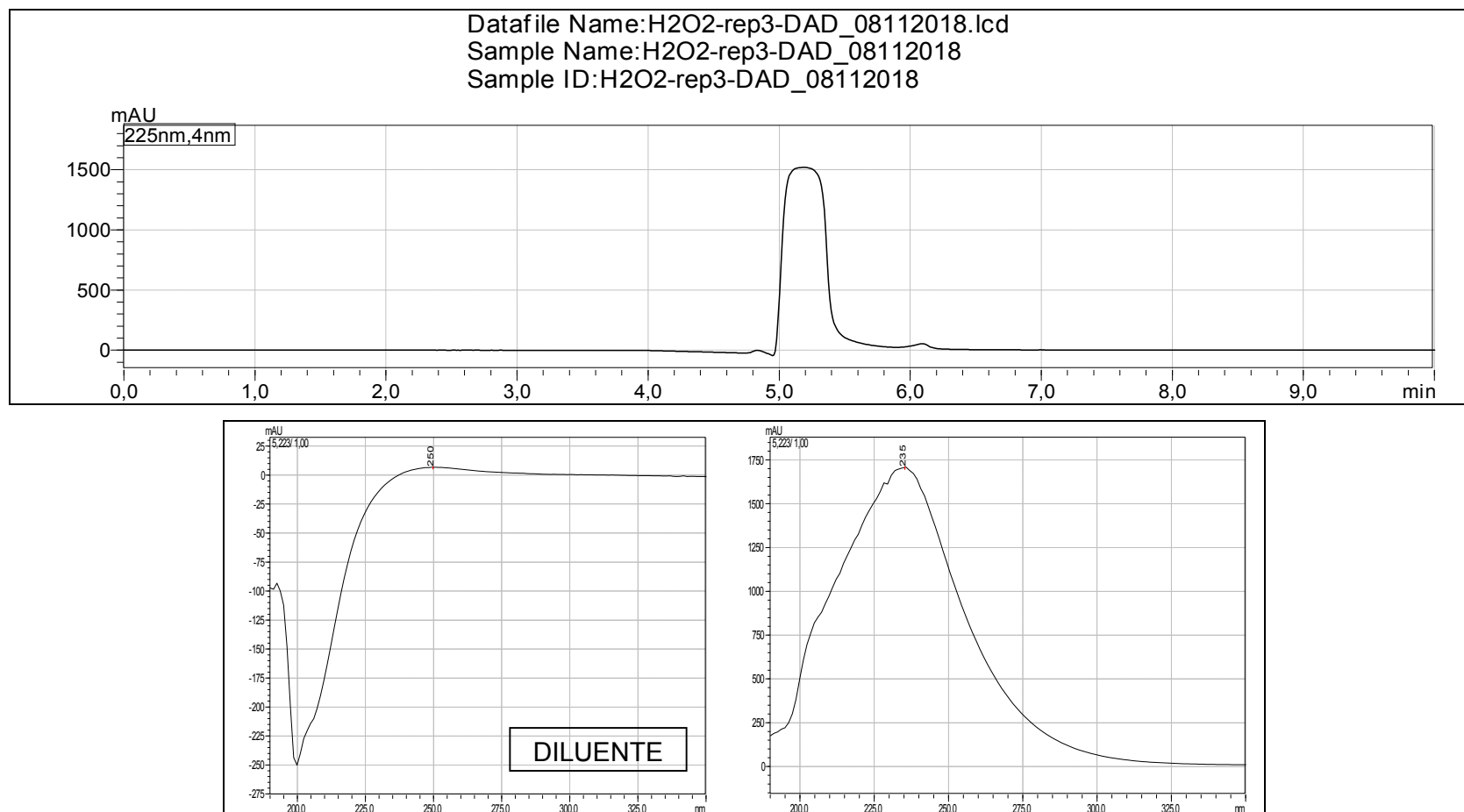
Figura 13 - Cromatograma do reagente AAc em 225 nm e o espectro de absorção molecular na região UV do sinal de interesse (8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

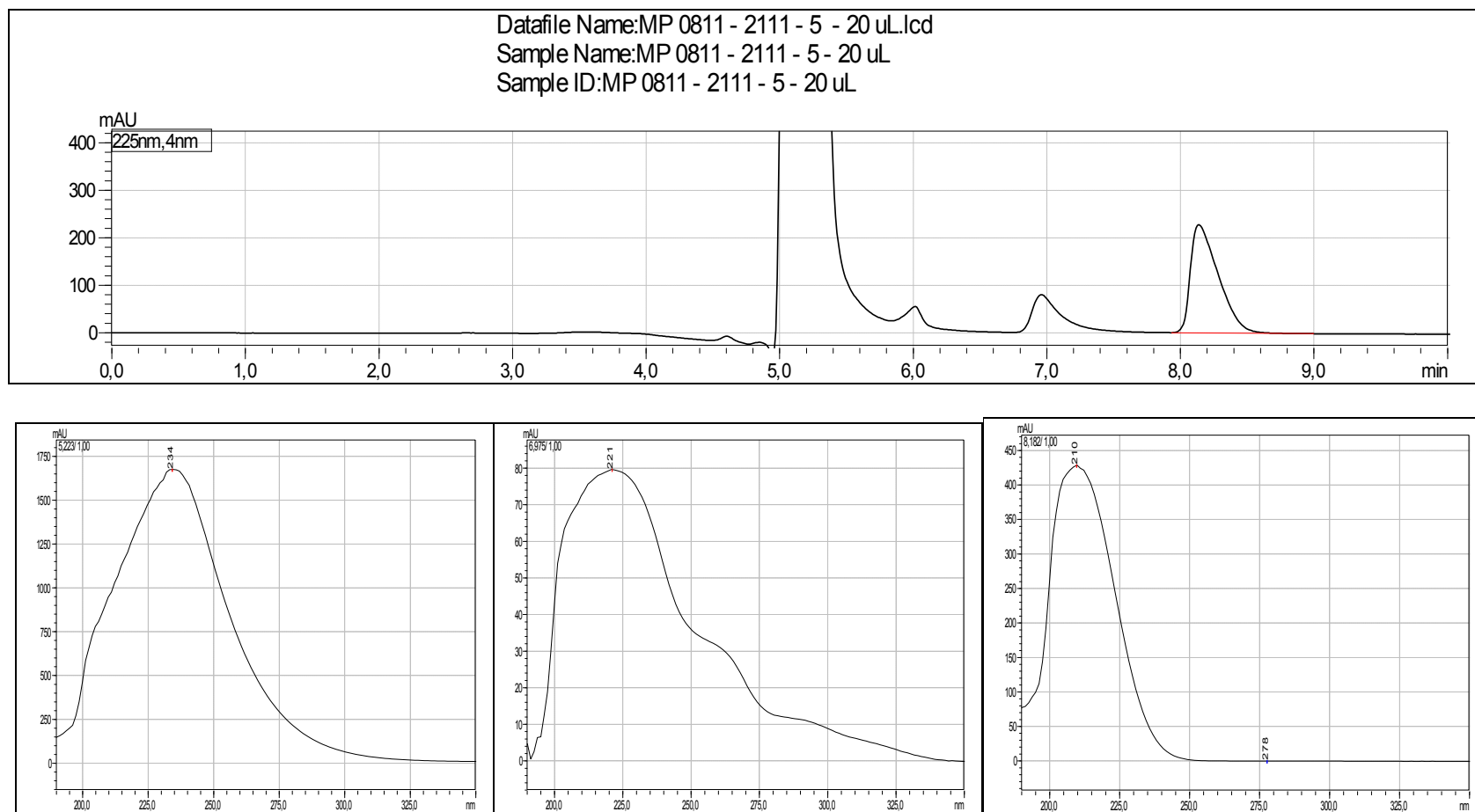
Figura 14 - Cromatograma do reagente PH em 225 nm e o espectro de absorção molecular na região UV do sinal de interesse (5,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

Figura 15 - Cromatograma da MP em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min)



Fonte: (Da autora, 2019).

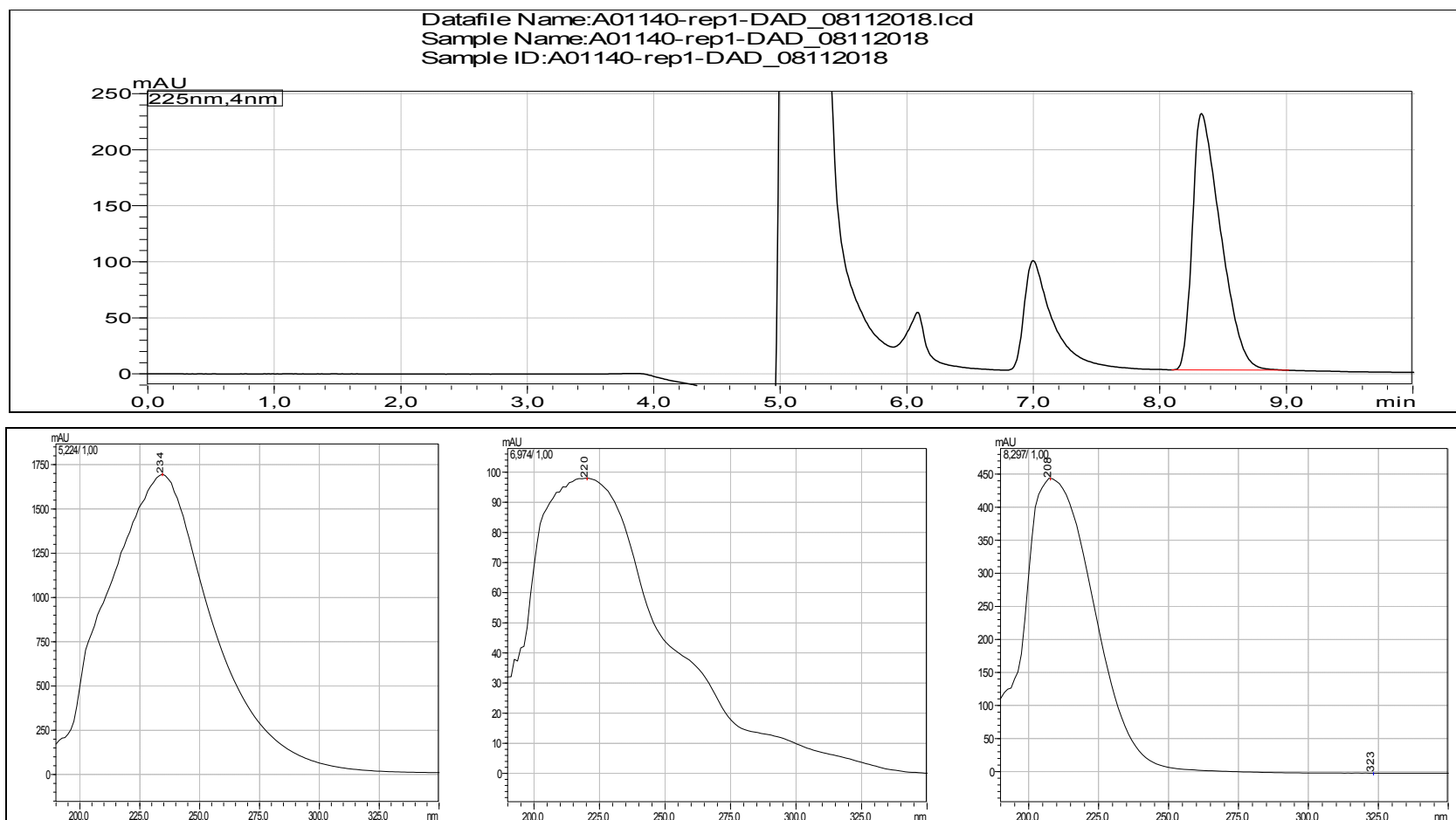
Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

De acordo com os estudos iniciais realizados na MP, o teste de estabilidade indicou que esta é uma solução estável no período de tempo estudado. No perfil cromatográfico foi observado somente sinais do PH (TR = 5,2 min), diluente (TR = 6,0 min), APA (TR = 6,9 min) e AAc (TR = 8,2 min), característica de uma matriz simples. Portanto, a MP pode ser considerada uma candidata a Substância Química Caracterizada (SQC) para futura validação do método desenvolvido conforme RDC 166/2017 da Anvisa sobre Validação de Métodos Analíticos. A partir destas considerações, a MP foi adotada como referência para comparação com os resultados das amostras.

Em relação às amostras incluídas no presente estudo, estas foram injetadas no cromatógrafo, segundo condições do sistema cromatográfico 2 e os espectros (UV) foram obtidos nos TR dos sinais de interesse. Estes foram analisados comparativamente com os espectros (UV) do cromatograma da MP. A análise preliminar visual dos espectros, na região de absorção molecular na região UV de 190 a 350 nm, permitiu reconhecer a presença ou ausência do PH, APA e AAc nas amostras.

Na análise do cromatograma e do espectro da amostra A01140 (Figura 16) foi observado similaridade visual dos espectros do PH, APA e AAc com os espectros da MP, sendo indicativo da presença destes componentes na amostra estudada e a intensidade dos sinais estavam dentro do limite.

Figura 16 - Cromatograma da Amostra A01140 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).

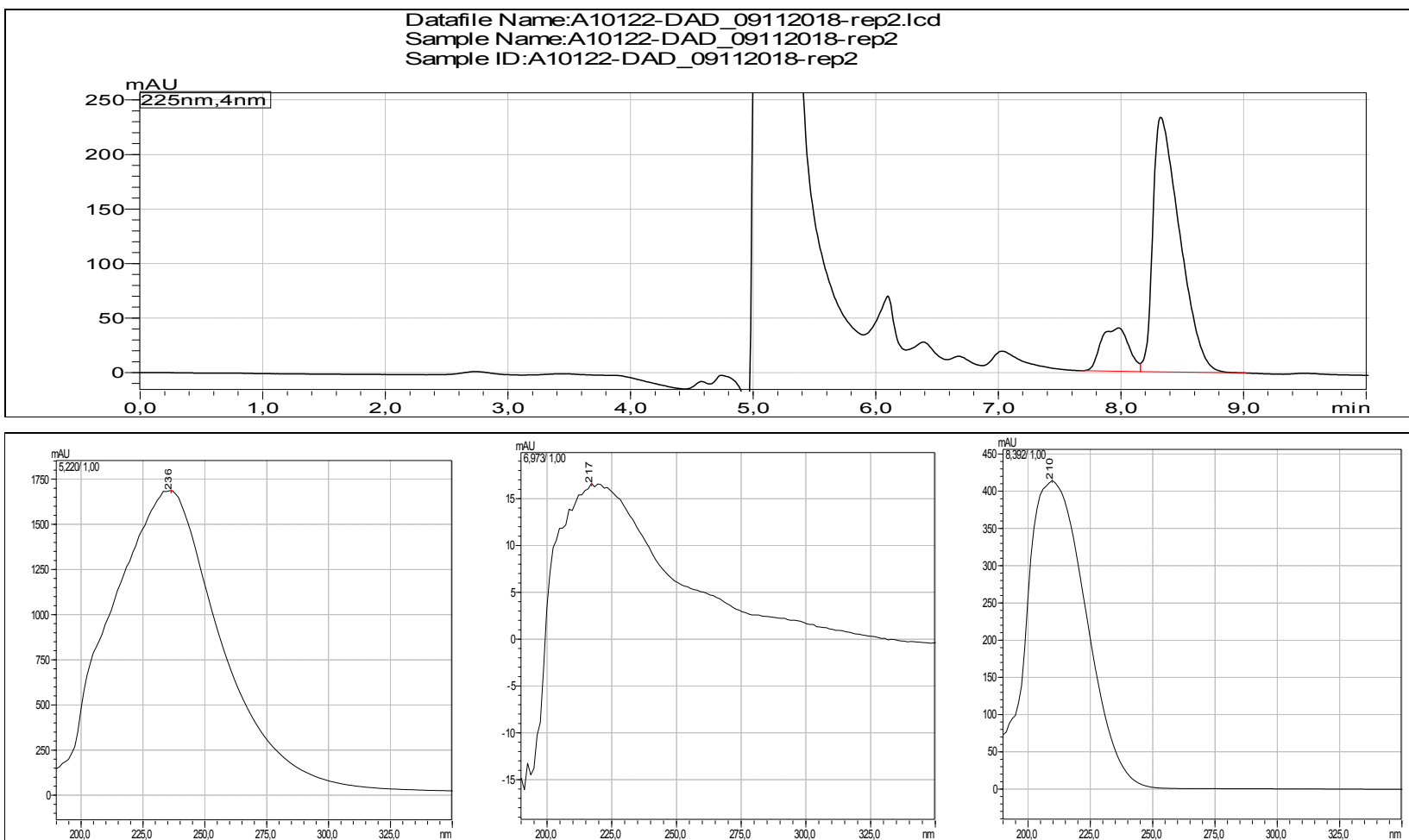


Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

Na análise dos cromatogramas e espectros das amostras A10122, A11130, A18015 e A36176 foi observado similaridade visual dos espectros do PH e AAc em relação a MP, sendo indicativo da presença e intensidade do sinal destes componentes nas amostras estudadas. Na comparação do espectro do APA, o resultado em relação à similaridade visual foi inconclusivo (Figuras 17, 19, 21 e 23) e suas intensidades foram abaixo do esperado (teor 0,05%, 0,03%, 0%, 0,05%, página 100). Para verificar se o sistema cromatográfico estava adequado foi realizada a adição da MP na amostra (Figuras 18, 20, 22 e 24). Após adição, nas quatro amostras, foi observado que os três analitos de interesse tiveram a intensidade dos sinais aumentada e a comparação visual dos seus espectros foi satisfatória em relação a MP. Outra observação foi a ausência do efeito das matrizes na estrutura do APA adicionado.

Figura 17 - Cromatograma da Amostra A10122 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).

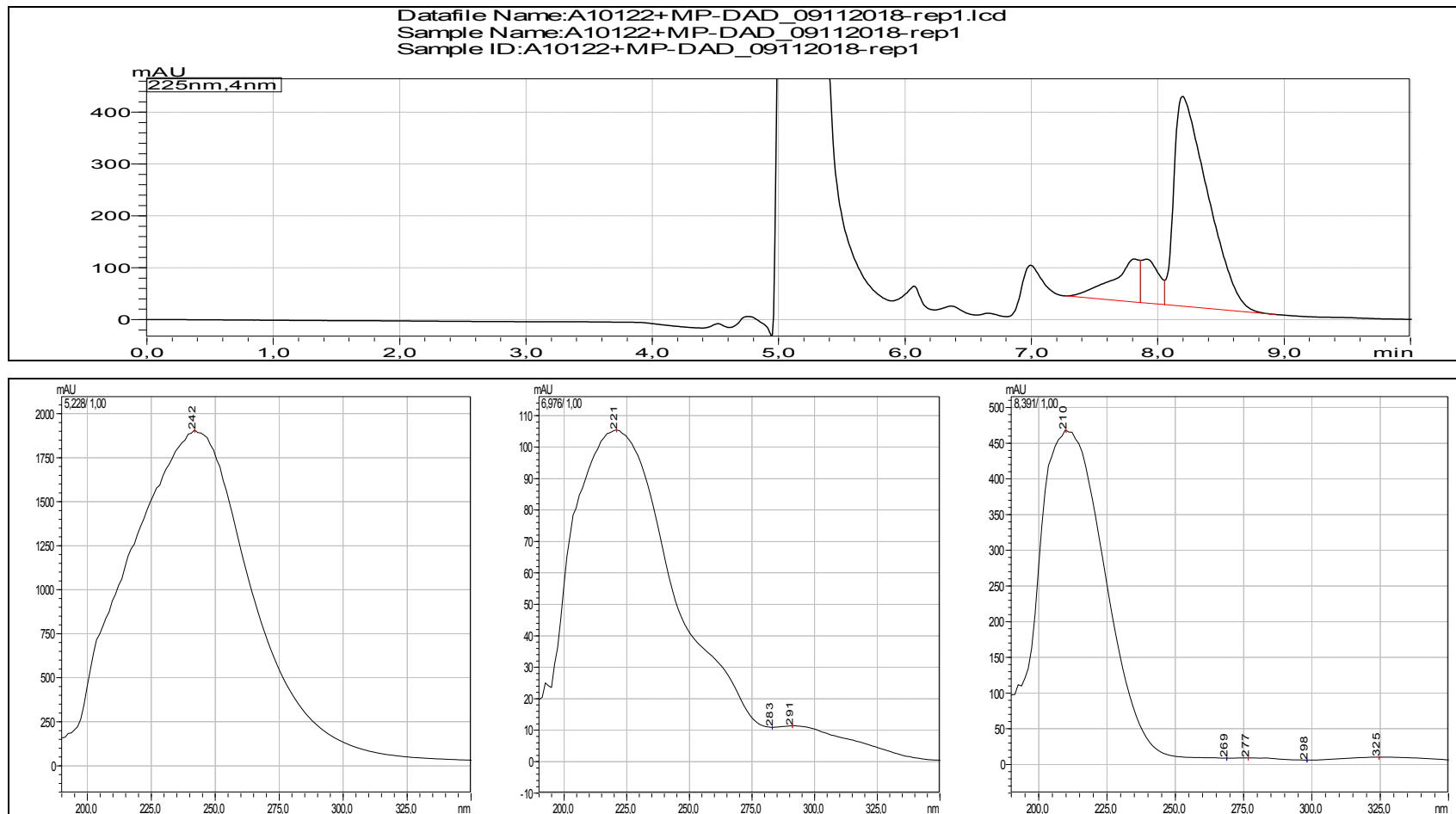


Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min)



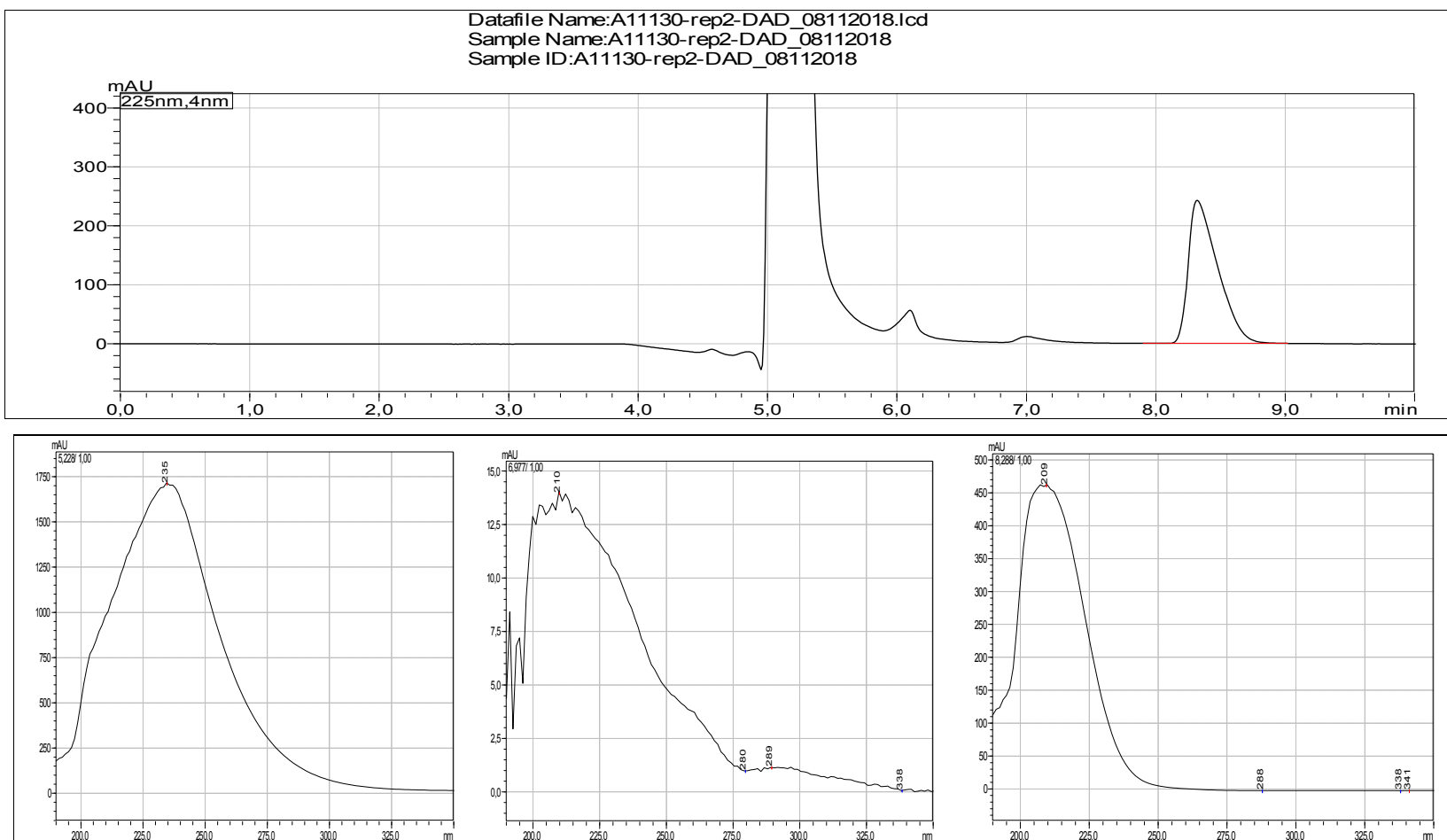
Figura 18 - Cromatograma da Amostra A10122 adicionada de MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

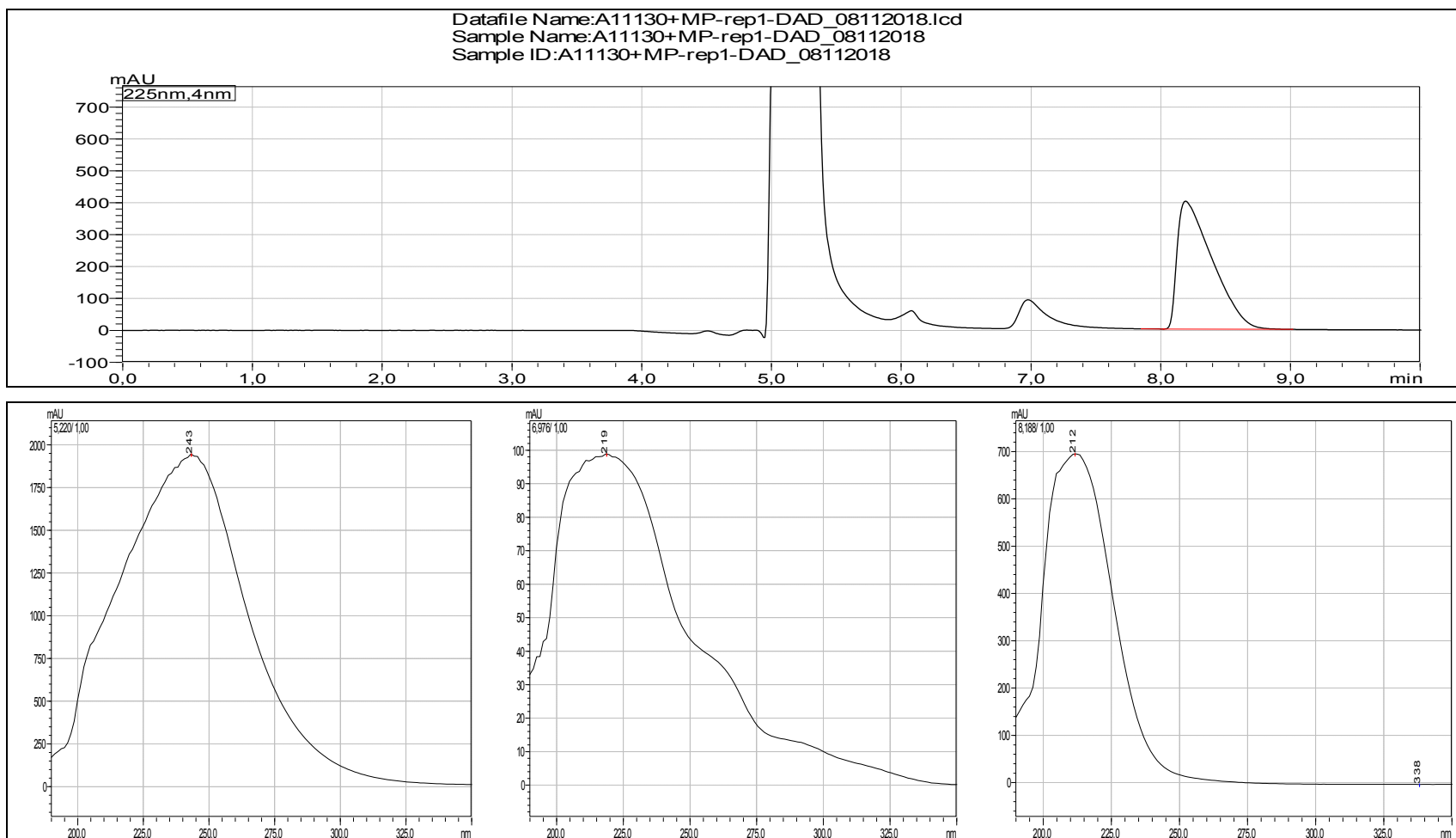
Figura 19 - Cromatograma da Amostra A11130 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

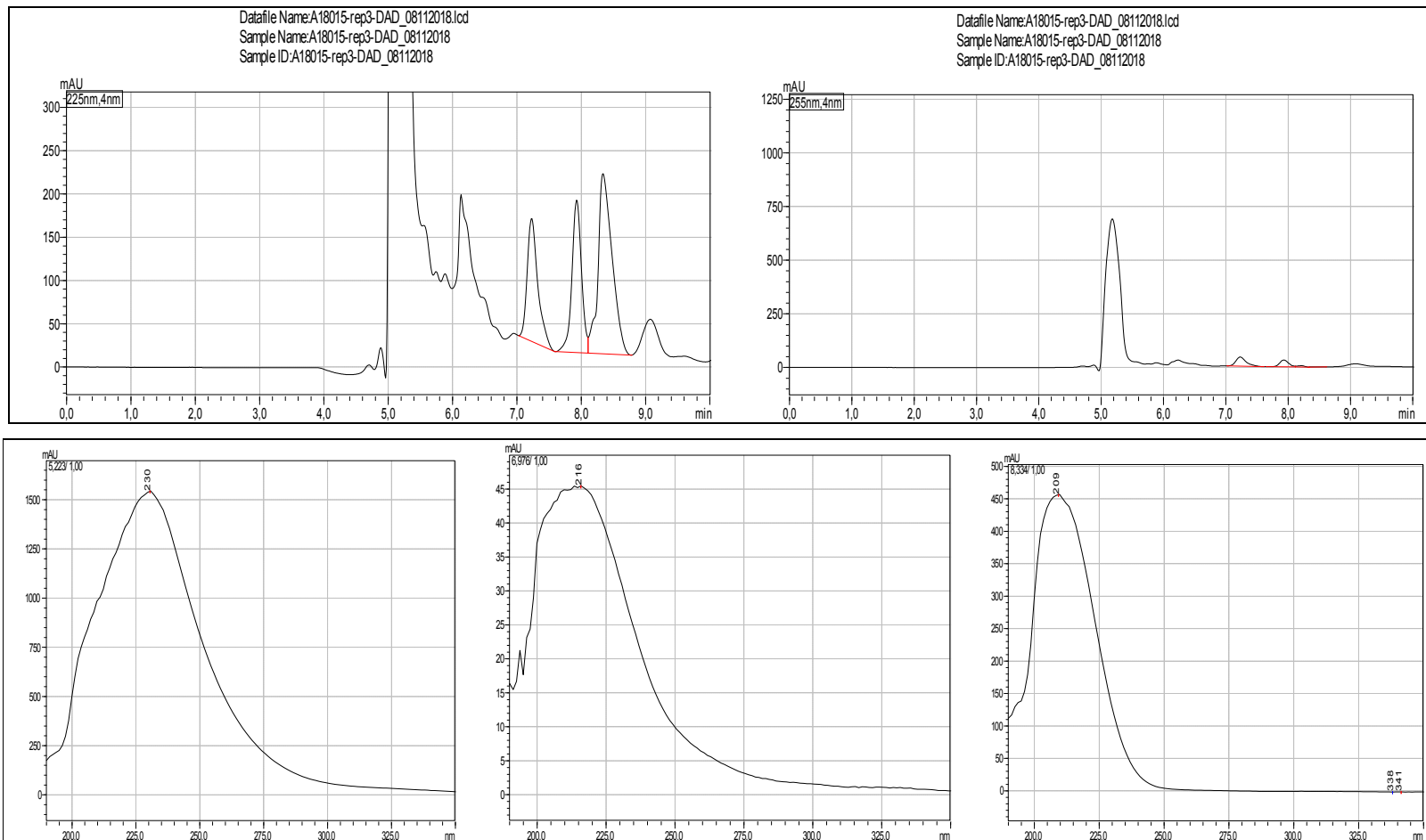
Figura 20 - Cromatograma da Amostra A11130 adicionada da MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

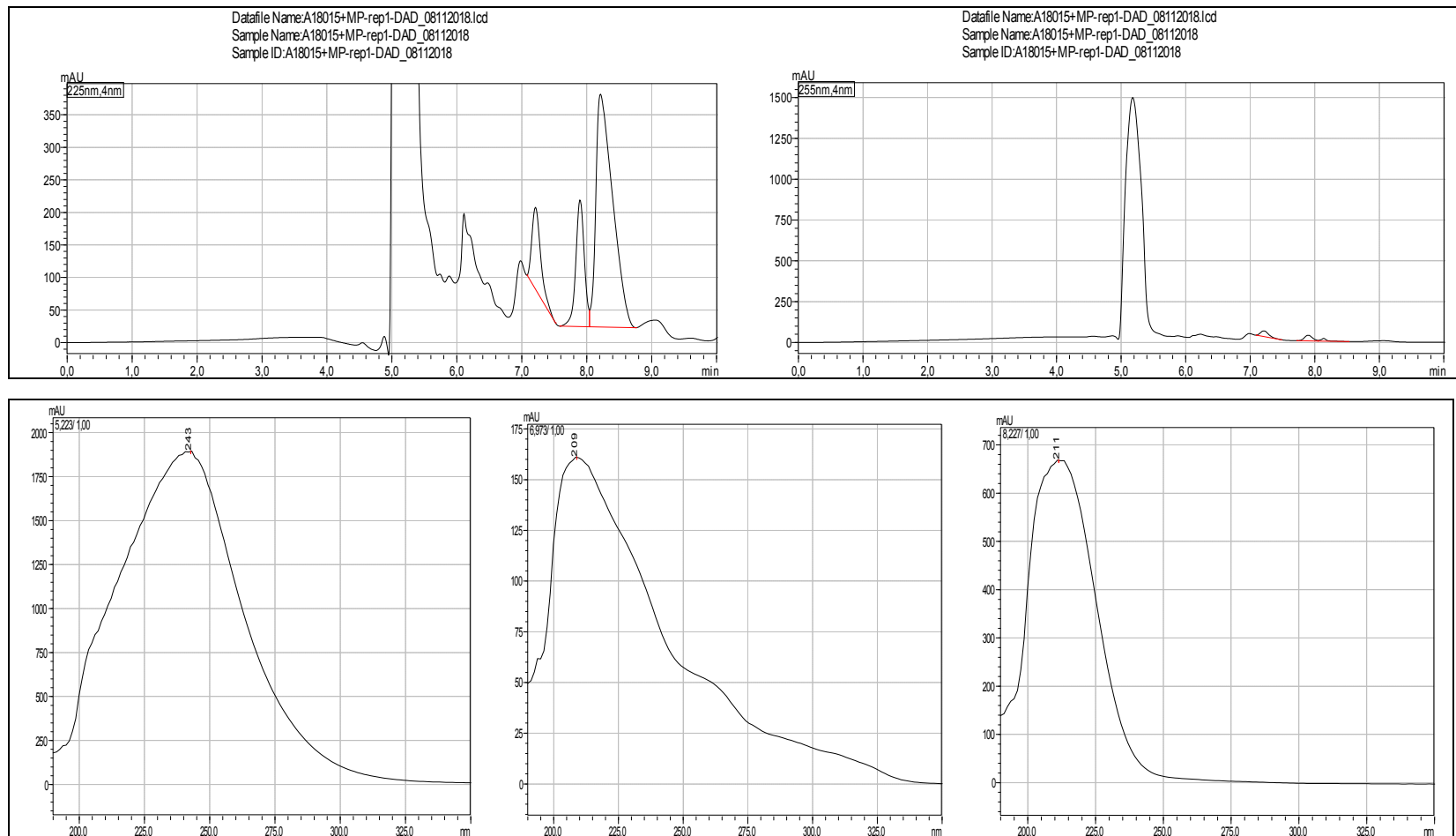
Figura 21 - Cromatograma da Amostra A18015 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

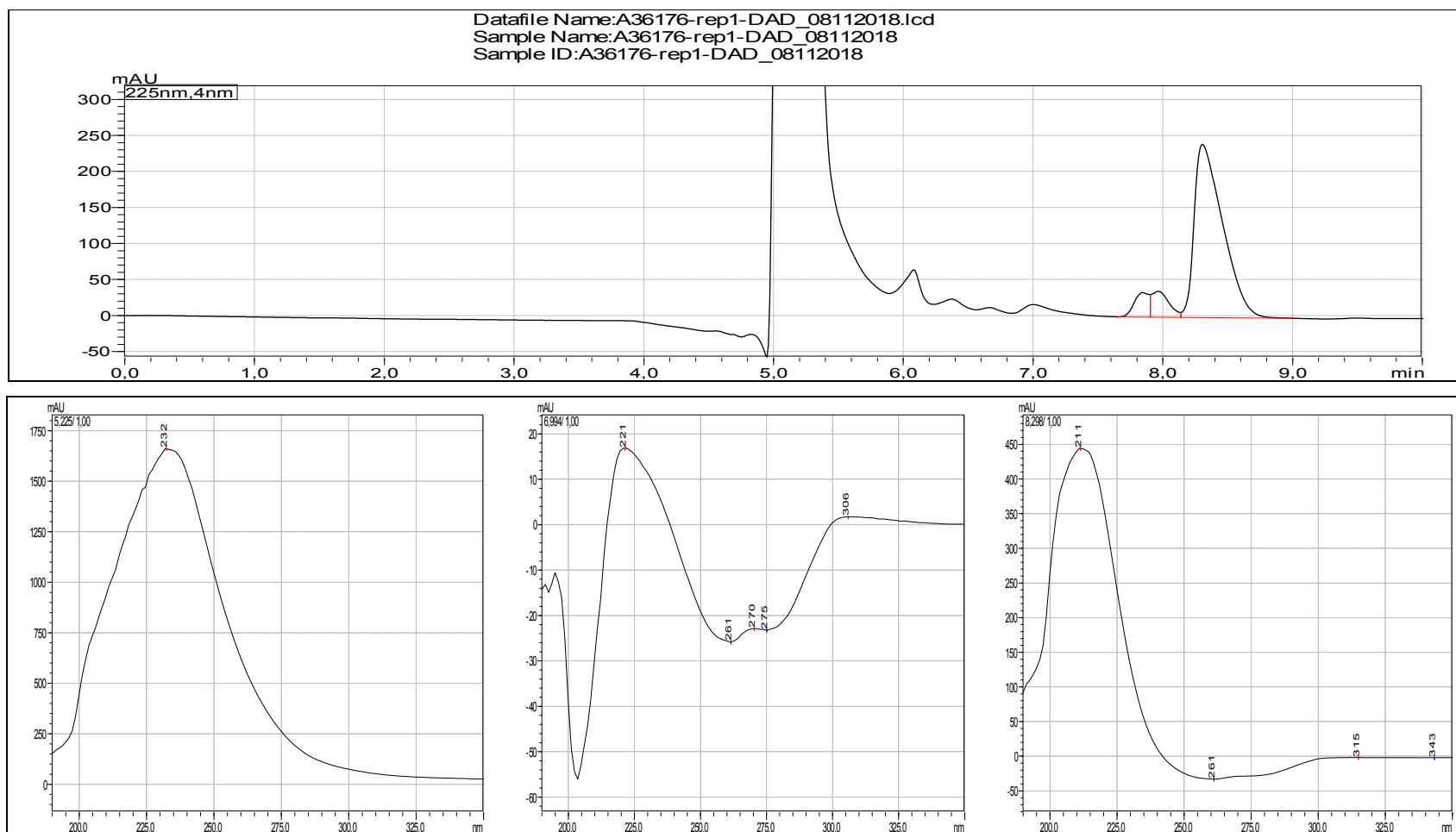
Figura 22 - Cromatograma da Amostra A18015 adicionada da MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

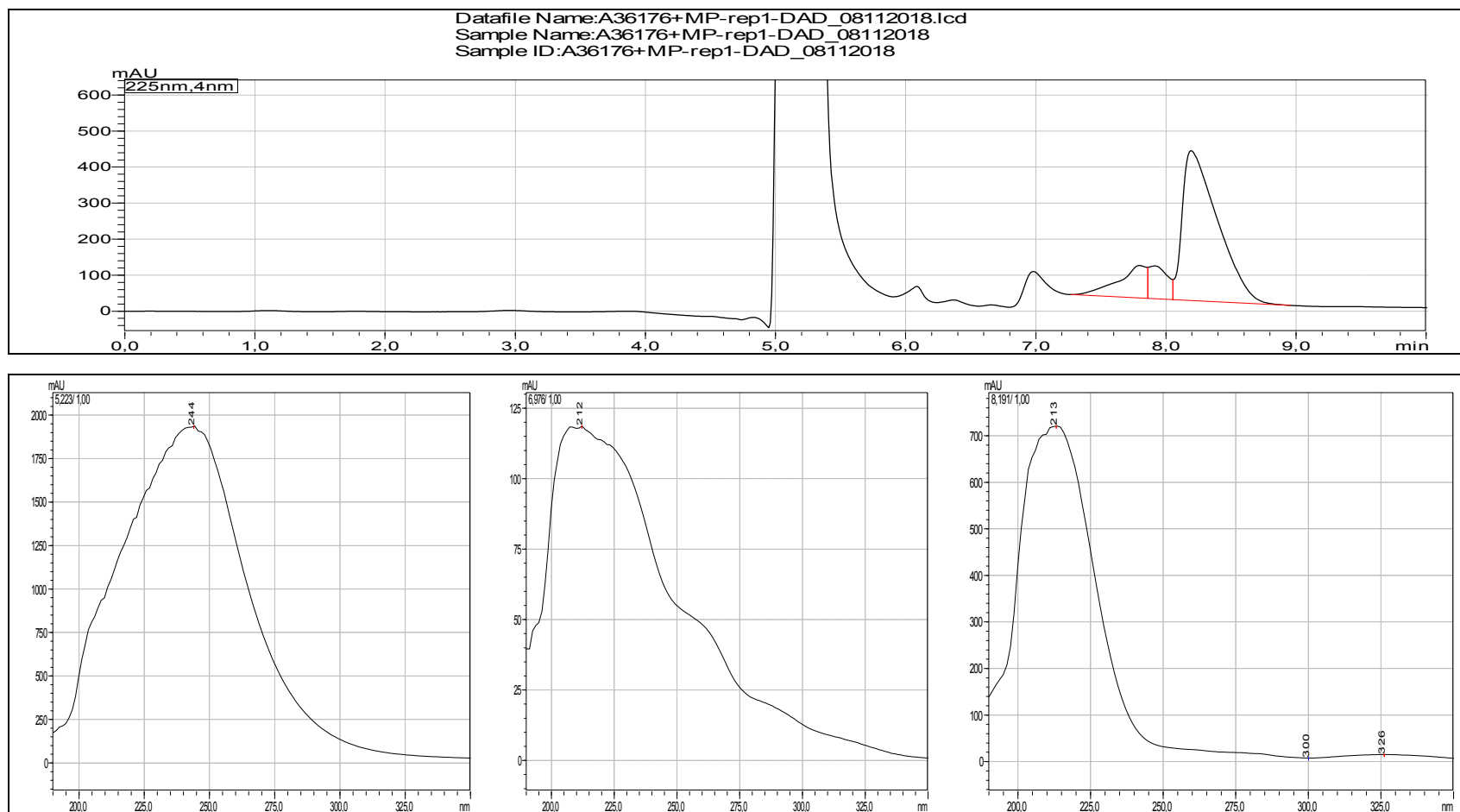
Figura 23 - Cromatograma da Amostra A36176 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

Figura 24 - Cromatograma da Amostra A36176 adicionada de MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

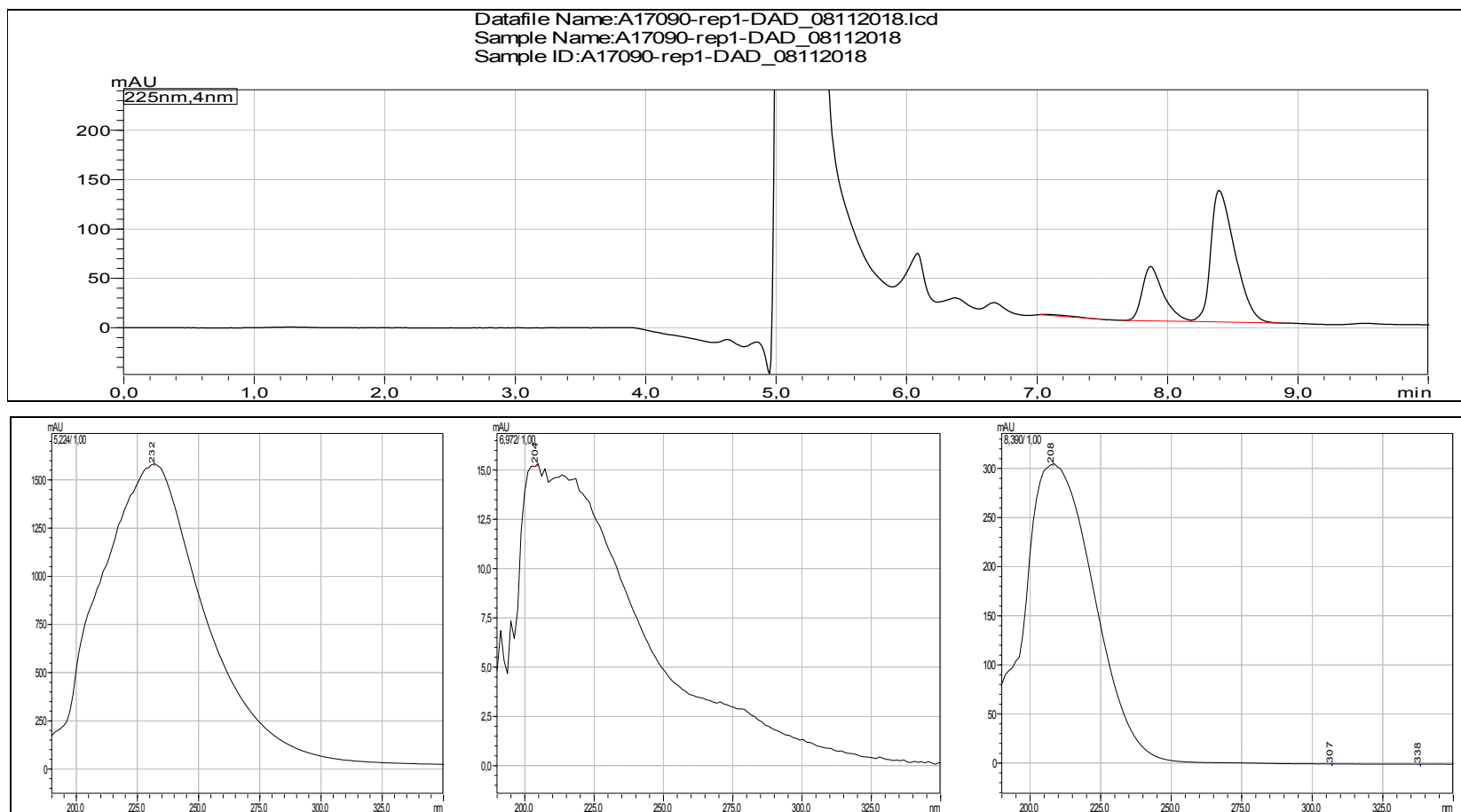
Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

Na análise dos cromatogramas e espectros das amostras A17090 e A13169 foi observado similaridade visual dos espectros do PH e AAc em relação a MP, sendo indicativo da presença e intensidade do sinal destes componentes nas amostras estudadas. Na comparação do espectro do APA, o resultado em relação a similaridade visual foi inconclusivo (Figuras 25 e 27) e suas intensidades foram abaixo do esperado (teor 0%, 0%, página 100). Para verificar se o sistema cromatográfico estava adequado foi realizada a adição da MP na amostra (Figuras 26 e 28). Após adição, nas duas amostras, foi observado que os três analitos de interesse tiveram a intensidade dos sinais aumentada e a comparação visual dos espectros do PH e AAc foi satisfatória em relação a MP. O diferencial nestas amostras foi a mudança dos espectros do APA em relação à MP, indicando o efeito das matrizes na estrutura do APA adicionado.

Estas informações precisam ser mais estudadas, não só pela ausência do APA como também pela possibilidade de formação de uma outra molécula que a princípio não conhecemos suas propriedades nem sua toxicidade.



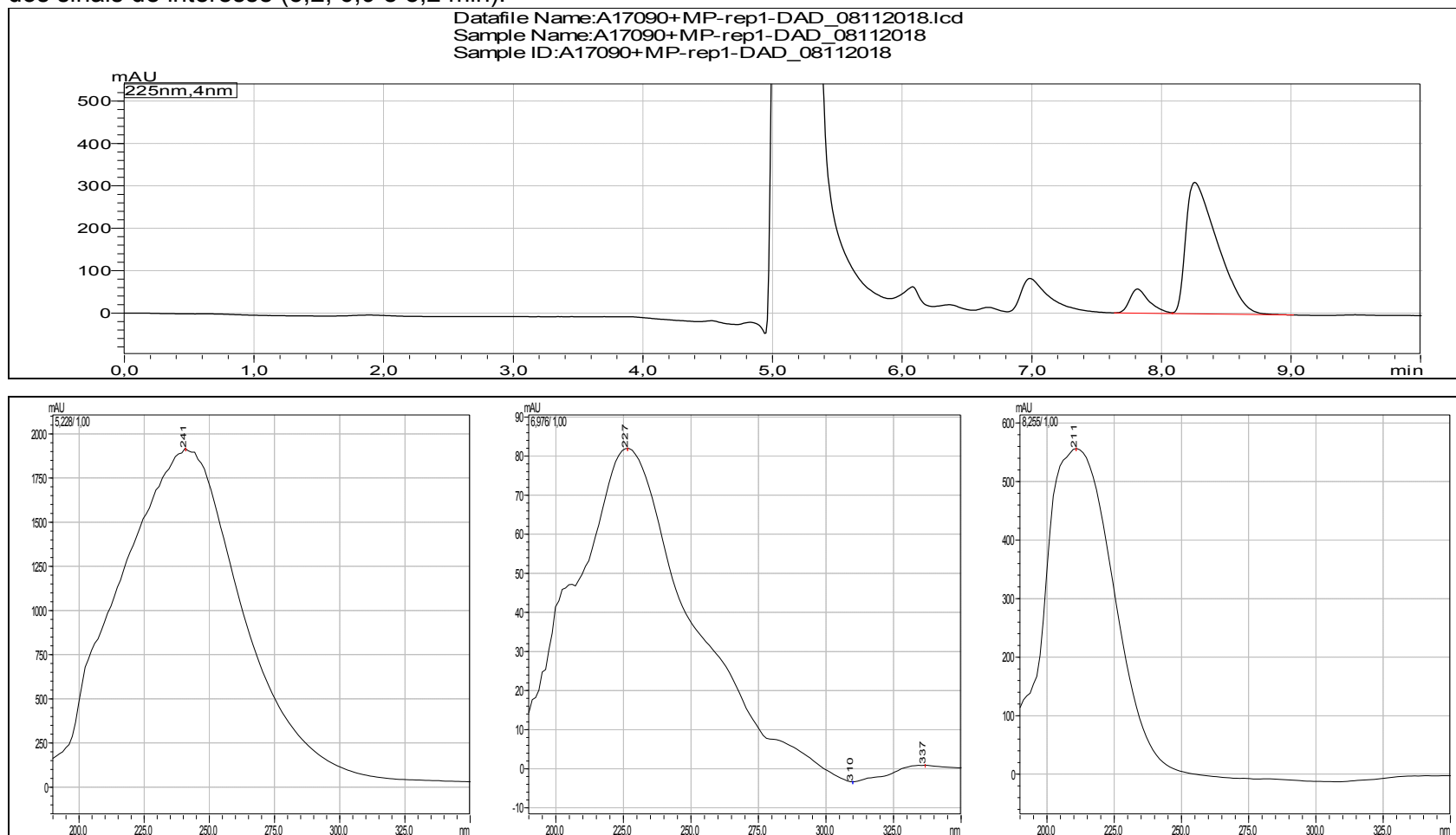
Figura 25 - Cromatograma da Amostra A17090 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

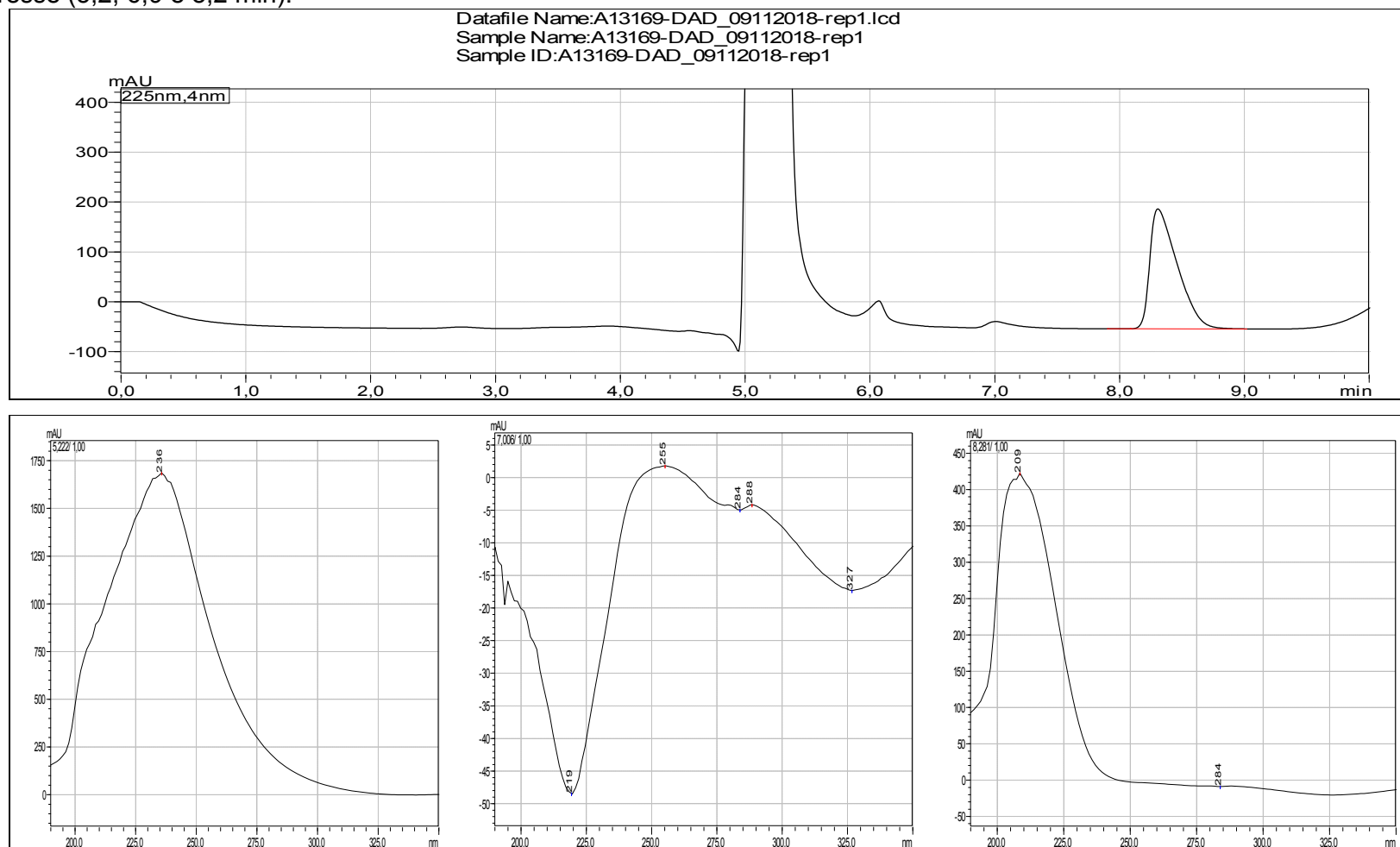
Figura 26 - Cromatograma da Amostra A17090 adicionada de MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

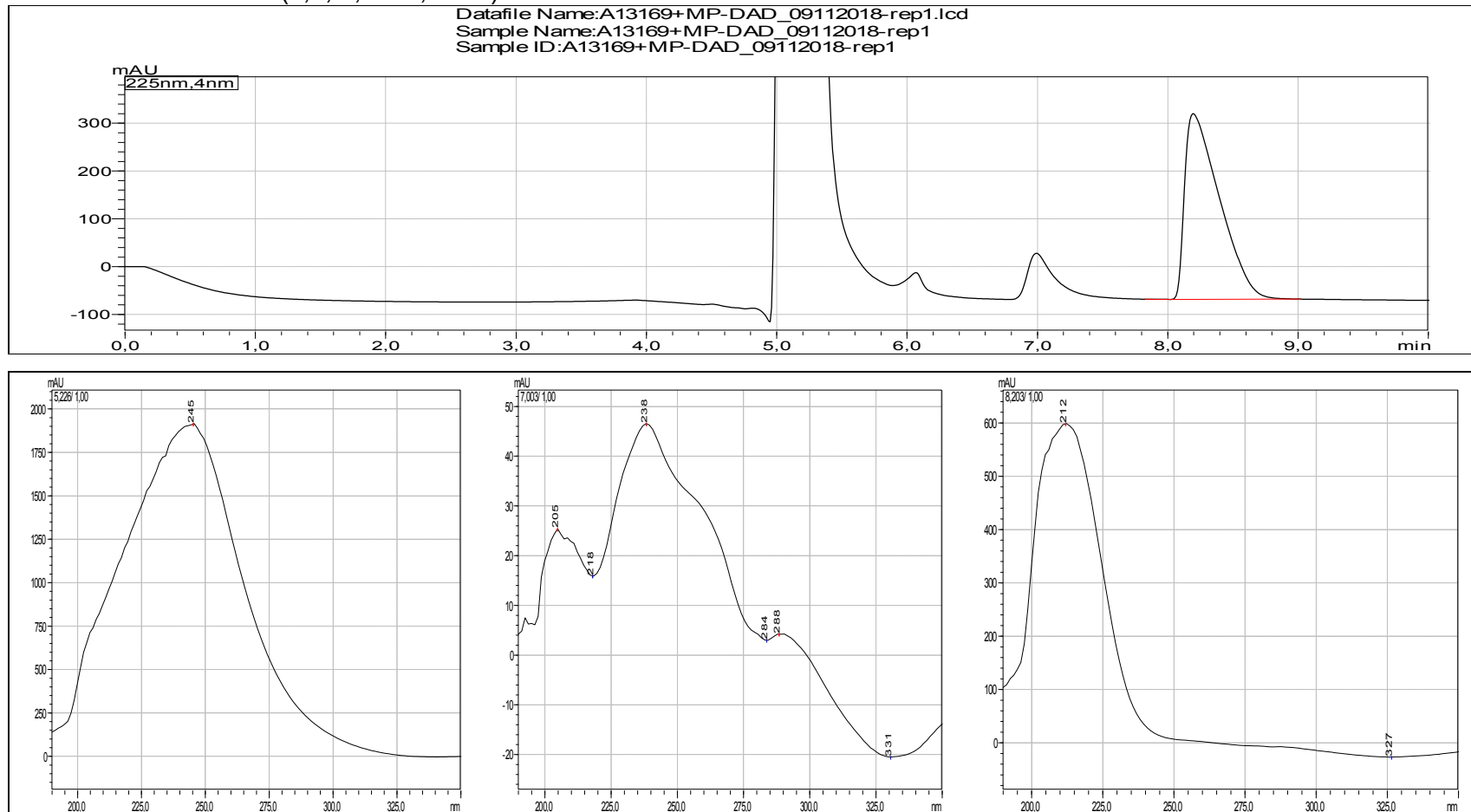
Figura 27 - Cromatograma da Amostra A13169 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

Figura 28 - Cromatograma da Amostra A13169 adicionada de MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

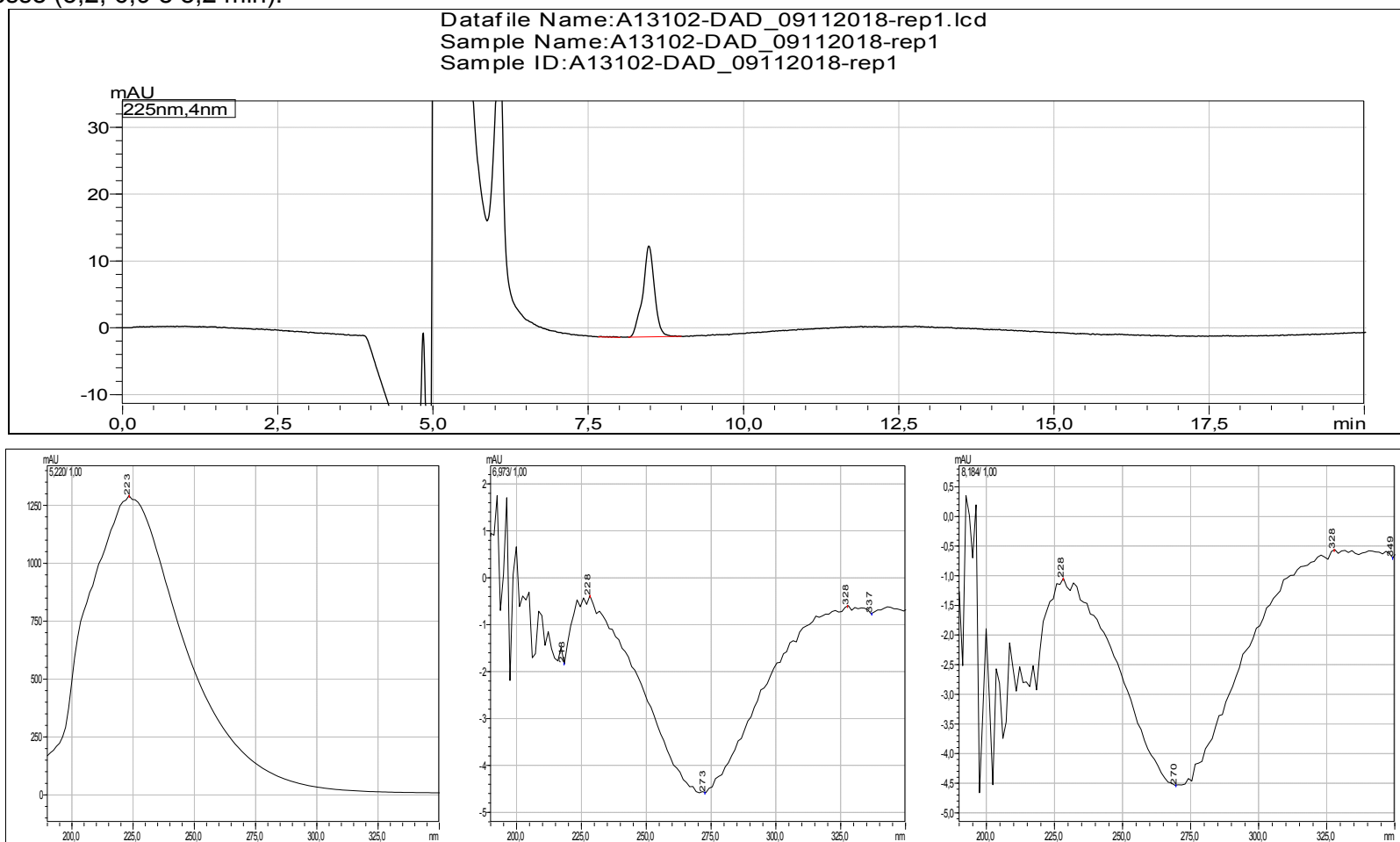
Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min)

As amostras A13102 e A12320 foram analisadas individualmente porque são formulações de APA, obtidas por rotas de síntese diferentes das amostras citadas anteriormente. Na amostra A13102 o APA é obtido a partir da reação do PH e acetilcaprolactama. Na amostra A12320 o APA é obtido a partir da reação do percarbonato de sódio e tetracetiletilenodiamina (TAED).

Na análise do cromatograma e espectro da amostra A13102 foi observada similaridade visual do espectro do PH em relação a MP, sendo indicativo da presença e intensidade do sinal deste componente na amostra estudada. Na comparação do espectro do AAC era esperada ausência deste componente, conforme indicação do fabricante. Na comparação do espectro do APA, o resultado em relação à similaridade visual foi inconclusivo (Figuras 29) e a intensidade do sinal foi abaixo do esperado (teor 0%, página 100). Para verificar se o sistema cromatográfico estava adequado foi realizada a adição da MP na amostra (Figura 30). Após adição na amostra, os três analitos de interesse, foram observados e tiveram a intensidade do sinal aumentada e a comparação visual dos seus espectros do PH, APA e AAC foram satisfatórias em relação a MP. Outra observação foi a ausência do efeito da matriz na estrutura do PH, APA e AAC adicionado. Embora seja uma amostra com uma matriz completamente diferente da MP, este método foi capaz de identificar os três analitos de interesse. Portanto, também poderá ser utilizado para o controle do APA.

Na análise dos cromatogramas e espectros da amostra A12320 não foi observada similaridade visual dos espectros do PH, APA e AAC em relação a MP, sendo indicativo da ausência destes componentes na amostra estudada. Na comparação do espectro do PH, APA e AAC o resultado em relação a similaridade visual foi inconclusivo (Figura 31) e suas intensidades foram abaixo do esperado (teor 0%, página 100). Para verificar se o sistema cromatográfico estava adequado foi necessário realizar adição da MP na amostra (Figura 32). Após adição nas amostras, os três analitos de interesse foram observados e tiveram a intensidade dos sinais aumentada e a comparação visual do espectro do PH e AAC foram satisfatórias em relação a MP, porém foi observado a mudança dos espectros do APA em relação à MP, indicando um provável efeito da matriz na estrutura do APA ou o método não está adequado para este tipo de mecanismo de reação. Portanto, o método desenvolvido neste trabalho não servirá para o controle do APA neste tipo de amostra que utiliza outra rota de síntese do APA.

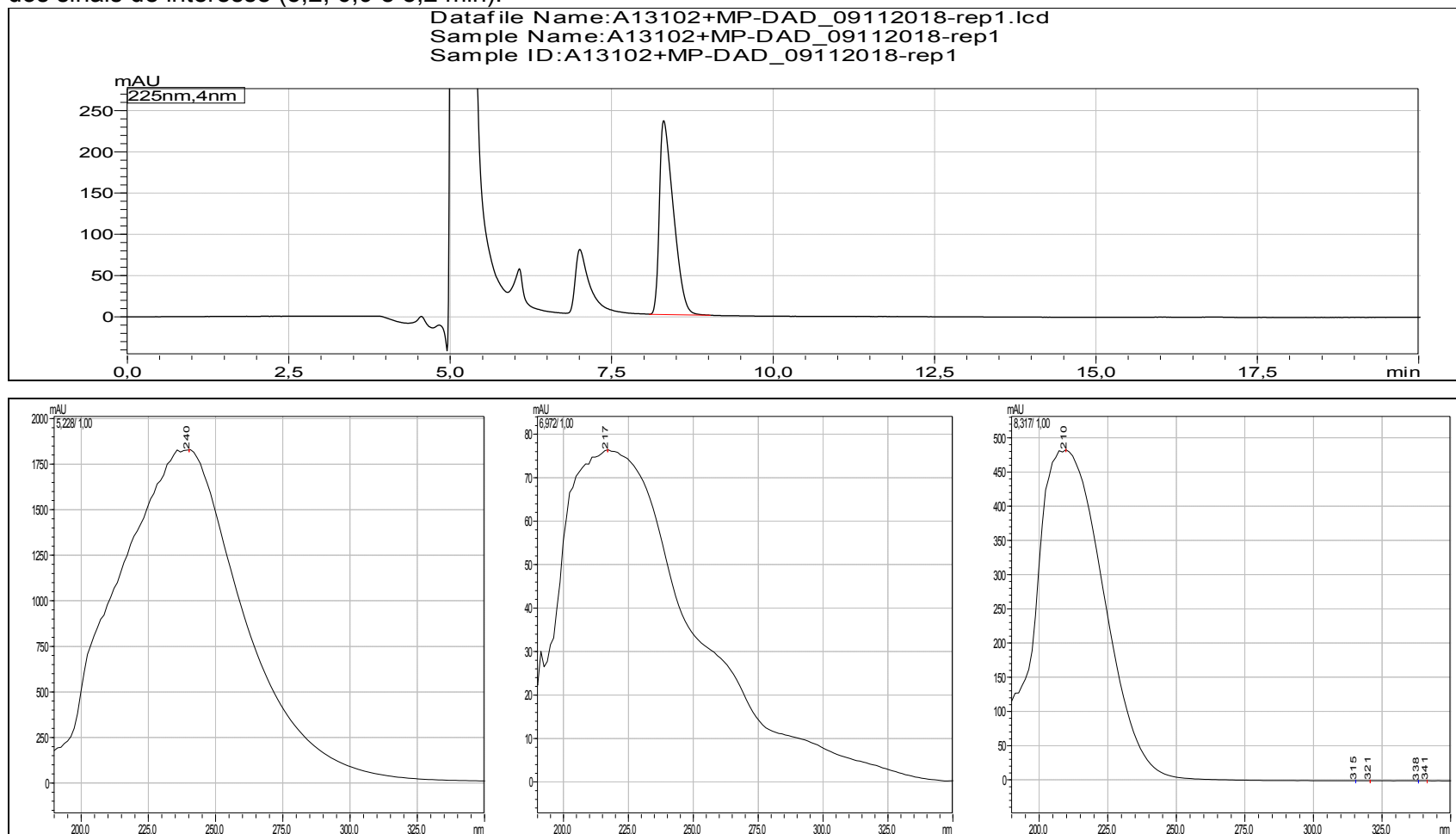
Figura 29 - Cromatograma da Amostra A13102 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

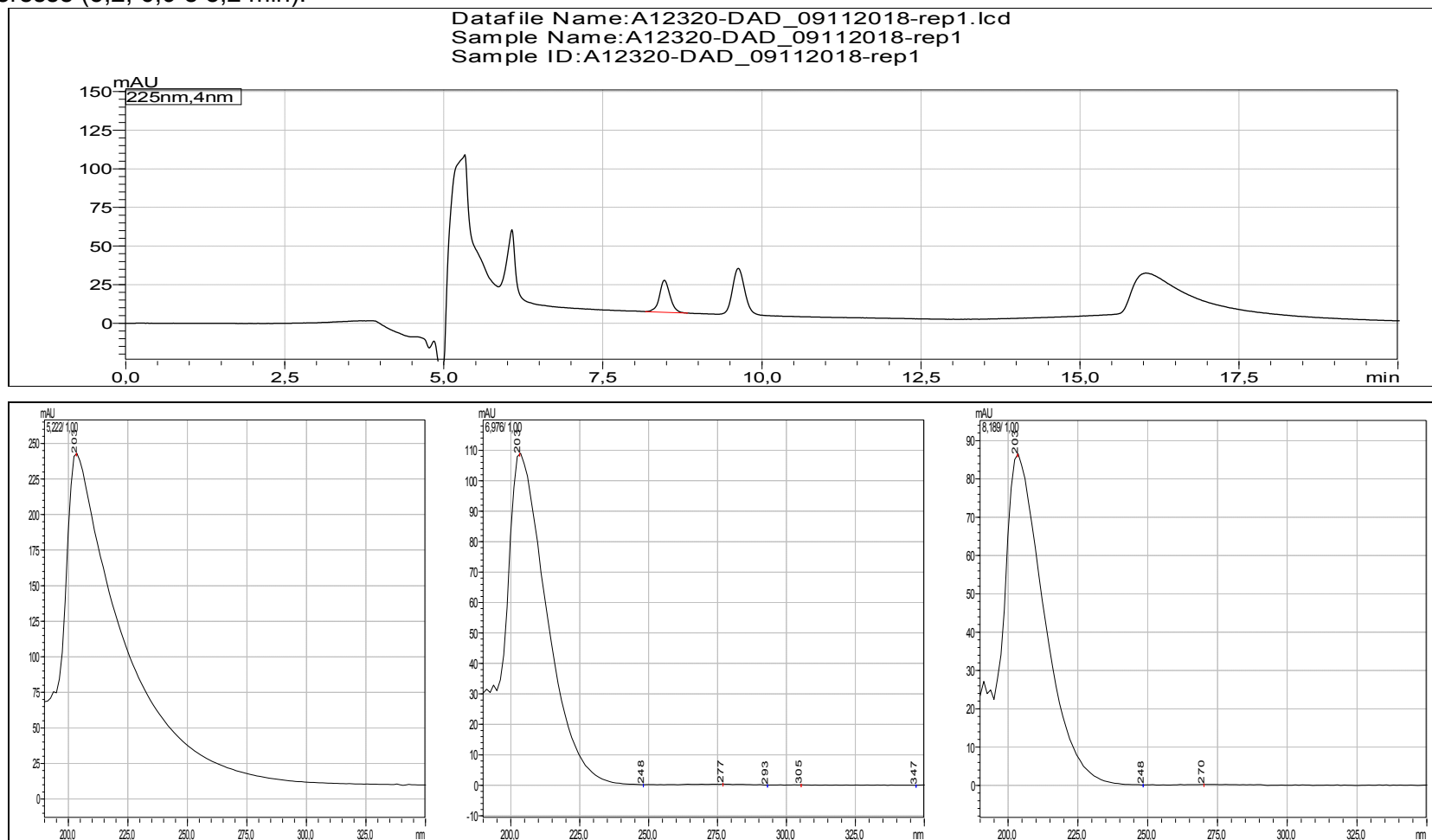
Figura 30 - Cromatograma da Amostra A13102 adicionada da MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

Figura 31 - Cromatograma da Amostra A12320 em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).

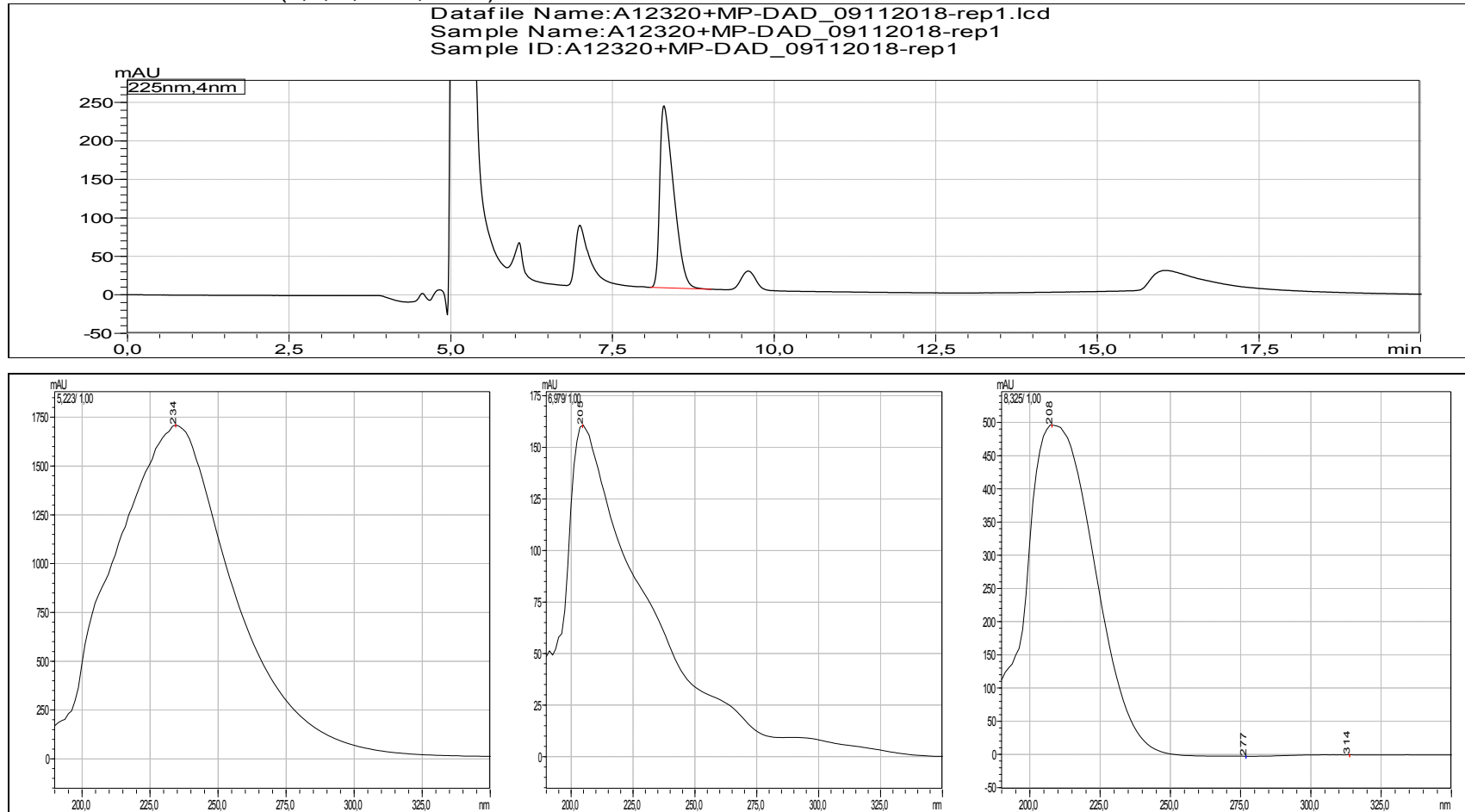


Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).



Figura 32 - Cromatograma da Amostra A12320 adicionada da MP, em 225 nm e os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais de interesse (5,2; 6,9 e 8,2 min).



Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: Eixos do cromatograma: Intensidade do sinal cromatográfico (mAU) x tempo de corrida (min).

Antes da Validação, o método deverá ser adequado para todas as amostras analisadas neste trabalho, sendo necessários ajustes no sistema cromatográfico para melhorar a resolução entre os sinais de interesses (PH, APA e AAc) e os sinais desconhecidos (da matriz). A Validação deverá ser feita com padrão de referência ou SQC seguindo a legislação da Anvisa, RDC 166/2017, para avaliar os parâmetros do Anexo I desta legislação. A identificação dos analitos será confirmada na Validação do método com o cálculo da similaridade (mínimo de 99%) entre os espectros de absorção molecular na região UV dos sinais dos analitos com os mesmos sinais obtidos no cromatogramas dos padrões de PH, de AAc e de uma SQC que contenha APA. A pureza dos sinais de interesses (PH, APA e AAc) será determinada através do cálculo da pureza angular (pureza de pico < ruído) (PAPADOYANNIS; GIKA, 2003), conforme preconiza a RDC 166/2017.

#### 4.2.5.3 Curva analítica da MP e teores dos analitos nas amostras

Neste estudo, o diluente, os reagentes de PH e AAc, a matéria prima e as amostras foram injetadas no cromatógrafo, segundo condições do sistema cromatográfico 3 e adequação do sistema mostrado na Tabela 12. As áreas dos analitos de interesse foram integradas e avaliadas.

Tabela 12 - Adequação do sistema cromatográfico da matéria prima e Amostra A01140.

	MATÉRIA PRIMA			AMOSTRA A01140		
	PH	APA	AAc	PH	APA	AAc
<b>FATOR DE CAPACIDADE</b>	0,49	1,01	1,34	0,48	1,00	1,33
<b>RESOLUÇÃO</b>	0,00	2,86	2,67	0,00	2,83	2,62
<b>ASSIMETRIA</b>	1,07	1,98	1,67	1,09	1,97	1,56
<b>PRATOS TEÓRICOS</b>	2488	3906	6317	2594	3966	5884

Fonte: (Da autora, 2019).

#### 4.2.5.3.1 Curva analítica da matéria prima

No cromatograma do diluente foi observado que não havia interferentes nos tempos de retenção dos analitos de interesse e apenas um sinal cromatográfico no tempo de retenção de 5,46 min.

Nos cromatogramas dos reagentes de AAc e PH foram observados os sinais cromatográficos do AAc e PH nos tempos de retenção de 7,35 min e 4,66 min, respectivamente. Estes resultados identificam o AAc e o PH nas condições do sistema cromatográfico 3.

No cromatograma da MP foi observado a separação dos três componentes (PH, APA e AAc) nos tempos de retenção esperados (4,67 min; 6,33 min; 7,36 min) e o sinal cromatográfico do diluente.

A curva analítica foi construída a partir da MP, em sete níveis de concentração, estudado no desenvolvimento, em triplicatas independentes e injetadas no cromatógrafo, segundo condições do sistema cromatográfico 3. As concentrações de PH e AAc para cada nível da curva analítica foram calculadas a partir da análise do teor por CLAE/UV considerando o teor do certificado de análise do reagente como referência. As concentrações de APA foram estimadas a partir do valor do teor no certificado de análise da MP.

A linearidade da curva analítica do PH, APA e AAc (Apêndice E) na faixa de concentração estudada foi confirmada (Tabela 10). Foi confirmado e não foi retirado valor extremo para o PH e APA e foram retirados 3 valores extremos para o AAc pelo teste Jackknife (em vermelho no Apêndice E). A premissa de que os resíduos devem seguir a distribuição normal foi confirmada pelo teste Ryan-Joiner. A variabilidade dos resíduos da regressão ao longo dos níveis de concentração estudados foi constante, demonstrando homoscedasticidade, a estatística  $t$  de Levene não foi significativa ( $p > 0,05$ ). A independência dos resíduos da regressão foi evidenciada pelo teste de Durbin-Watson. Os resultados permitem concluir que a significância da regressão foi alta ( $p < 0,001$ ) com desvio da linearidade não significativo ( $p > 0,05$ ). O método está livre de tendência (valor  $p$  da intercepção  $> 0,05$ ) (JUNQUEIRA, 2005).

Tabela 13 - Resumo dos testes para avaliação da linearidade da curva analítica.

<b>Testes estatísticos</b>	<b>Peróxido de hidrogênio</b>	<b>Ácido peracético</b>	<b>Ácido acético</b>
<b>Análise da Regressão (Modelo: <math>Y = bx + a</math>)</b>	$A = 1,32 \cdot 10^7 C + 5,07 \cdot 10^5$	$A = 2,50 \cdot 10^7 C - 2,67 \cdot 10^4$	$A = 4,59 \cdot 10^6 C - 1,07 \cdot 10^4$
<b>Coefficiente de determinação (r)</b>	0,9999	0,9999	1,000
<b>Significância da regressão (ANOVA, <math>p &lt; 0,001</math>)</b>	$p = 2,47 \cdot 10^{-37}$	$p = 3,16 \cdot 10^{-37}$	$p = 9,89 \cdot 10^{-34}$
<b>Desvio da linearidade (Falta de Ajuste, <math>p &gt; 0,05</math>)</b>	$p = 6,25 \cdot 10^{-2}$	$p = 6,23 \cdot 10^{-1}$	$p = 7,45 \cdot 10^{-2}$
<b>Normalidade dos resíduos Rcrit = 0,95 (PH) Rcrit = 0,95 (APA) Rcrit = 0,95 (AAc) (Ryan-Joiner, Req &gt; Rcrit)</b>	Req = 0,98	Req = 0,98	Req = 0,98
<b>Autocorrelação dos resíduos dL = 1,22 dU = 1,42 (PH) dL = 1,22 dU = 1,42 (APA) dL = 1,16 dU = 1,39 (AAc) (Durbin-Watson, dcal &gt; dU)</b>	d (calculado) = 1,43	d (calculado) = 2,41	d (calculado) = 1,62
<b>Homogeneidade dos resíduos (Brown-Forsythe, <math>p &gt; 0,05</math>)</b>	$p = 6,06 \cdot 10^{-1}$	$p = 9,91 \cdot 10^{-1}$	$p = 2,22 \cdot 10^{-1}$
<b>Limite de Detecção (LD)</b>	$9,32 \cdot 10^{-3}$	$3,98 \cdot 10^{-4}$	$4,20 \cdot 10^{-3}$
<b>Limite de Quantificação (LQ)</b>	$2,79 \cdot 10^{-2}$	$1,19 \cdot 10^{-3}$	$1,26 \cdot 10^{-2}$

Fonte: (Da autora, 2019).

#### 4.2.5.3.2 Quantificação do PH, APA e AAc das amostras, a partir da curva analítica da matéria prima

Para a quantificação dos três analitos (PH, APA e AAc), as amostras foram diluídas (4/25) e injetadas no cromatógrafo (Apêndice F), segundo condições do sistema cromatográfico 3. Nos cromatogramas os sinais cromatográficos de interesse foram integrados e as áreas calculadas. A média das áreas foi colocada na equação da reta de cada curva analítica para o cálculo estimado do teor de PH, APA e AAc. Os teores por CLAE/UV encontrados nas amostras estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Resultado estimado do teor de PH, APA e AAc pelo método CLAE/UV.

	A01140	A10122	A11130	A18015	A36176	A17090	A13169	A13102	A12320
PH	6,21	6,13	6,43	3,88	6,18	5,11	6,53	2,61	-
APA	0,335	0,05	0,03	-	0,05	-	-	-	-
AAc	4,05	3,68	4,29	2,65	3,59	1,93	5,65	-	-

Fonte: (Da autora, 2019).

Legenda: coluna amarela – amostra com APA satisfatório, colunas na cor laranja – amostras de matrizes que não alteram o APA, colunas na cor vermelho – amostras de matrizes que alteram o APA, colunas na cor verde – amostras de outras rotas sintéticas do APA.

Os resultados da Tabela 14 mostram que todas as amostras foram insatisfatórias para o teor de APA. De acordo com a RDC 59/2010, produtos com componente declarado menor que 2,5, a variação aceitável é de 15%. O fabricante da amostra A01140 declara 0,25% para APA, portanto, as variações mínima e máxima são 0,2125 e 0,2875 e o resultado do teor de APA é insatisfatório. As amostras A10122, A11130, A18015 e A36176 indicam pelo TR nos cromatogramas que possuem APA e na análise preliminar espectral, a adição de MP nestas matrizes não foi capaz de alterar a molécula do APA. A área integrada, relativa ao TR do APA, dos sinais cromatográficos destas amostras foi muito pequena, abaixo da curva analítica. Logo, estes resultados não tem confiabilidade. As amostras A17090 e A13169 indicam pelo TR nos cromatogramas que possuem APA, mesmo com um sinal cromatográfico muito pequeno e na análise preliminar espectral, a adição de MP nestas matrizes alterou a molécula do APA, confirmando a ausência do APA. As amostras A13102 e A12320 são proveniente de outras rotas sintéticas, entretanto,

conforme estudo anterior, o método desenvolvido também aplica-se a amostra A13102. Por enquanto, para a amostra A12320 o indicativo é de desenvolvimento de um novo método por CLAE.

## 5 CONCLUSÃO

Na pesquisa do site da Anvisa por produtos saneantes foi encontrado um número maior de registros de produtos na categoria desinfetante de alto nível em relação aos produtos da categoria desinfetante para superfície fixa e artigos não críticos e desinfetantes para roupas hospitalares que contribuiu na seleção das amostras estudadas.

O estudo das notificações de QT e EA, realizado no sistema Notivisa, foi importante para conhecer os problemas ocorridos com os trabalhadores dos centros de esterilização de materiais (CEM).

O valor do pH das misturas estabilizadas de APA está relacionado a hidrólise que tem impacto direto na estabilidade, portanto, é necessário aprofundar este tema.

As fitas de monitoramento diário da concentração mínima de APA devem ser melhor estudadas devido aos possíveis resultados falso positivo encontrados, considerando que são sensíveis ao PH e as divergências dos resultados analíticos.

Os métodos de permanganometria, cerimetria e iodometria para quantificação de PH e APA em desinfetantes à base de APA 0,25% são seletivos para agentes oxidantes mas não são específicos para PH e APA. Os resultados das análises da matéria prima e das amostras, obtidos neste estudo, foram superestimados para APA quando comparados aos certificados de análise dos fabricantes, indicando não ser adequado para as soluções muito diluídas.

O método por CLAE desenvolvido e otimizado neste estudo para identificação e quantificação de PH, APA e AAc em desinfetantes à base de APA 0,25% é seletivo, sensível e mostrou-se linear na faixa de trabalho estudada nas soluções preparadas a partir da matéria prima.

## **6 PERSPECTIVAS**

Estabelecer uma SQC a partir da MP para quantificação de PH, APA e AAC, conforme preconiza a RDC 166/2017. O estudo para estabelecer a MP em SQC será realizada por CLAE-MS de alta resolução e o teor dos três analitos será determinado por CLAE-CAD Corona, nos equipamentos localizados no DQ do INCQS.

Validar o método desenvolvido por CLAE/UV para quantificação dos três analitos.

Propor aos órgãos de vigilância sanitária municipal, estadual e Anvisa um monitoramento do controle da qualidade dos produtos saneantes à base de APA.

Aprofundar o estudo da eficácia do uso diário das fitas teste e validar o resultado através da quantificação por CLAE/UV.



## REFERÊNCIAS

AGUIAR, J.L.N.; LEANDRO, K.C.; ABRANTES, S.M.P.; ALBERT, A.L.M. Development of a new analytical method for determination of acetylsalicylic and salicylic acids in tablets by reversed phase liquid chromatography. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**, v. 45, n. 4, p. 723-727, 2009.

AMORIM, E. S. **Avaliação do risco ocupacional no uso de desinfetante químico de alto nível a base de ácido peracético em centro de material esterilizado – CME**. 2015. 117 f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia Aplicada à Vigilância Sanitária) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

ANVISA (Brasil). **Notivisa – Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária**. Brasília, 2019a. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/notivisa>. Acesso em: 23 jan. 2019.

ANVISA (Brasil). **Notivisa – Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária/Sobre**. Brasília, 2019b. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/notivisa/sobre>. Acesso em: 23 jan. 2019.

ANVISA (Brasil). **Rede Sentinela/Apresentação**. Brasília, 2019c. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/rede-sentinela-apresentacao>. Acesso em: 23 jan. 2019.

ANVISA (Brasil). **Rede Sentinela**. Brasília, 2019d. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/rede-sentinela>. Acesso em: 23 jan. 2019.

ANVISA (Brasil). Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde. **Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde**. Brasília: ANVISA, 2016.

BASILIO, F. S.; BOMFIM, M. V. J.; ALMEIDA, R. J.; ABRANTES, S. M. P. Uso da planilha eletrônica na verificação da adequação de curva analítica ao modelo linear. **Revista Analytica**, v. 59, p. 60-67, 2012.

BECKER, B. *et al.* Virucidal efficacy of peracetic acid for instrument disinfection. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 6, p. 114-119, 2017.

BRANCO, M. A. F. Sistemas de informação em saúde no nível local. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 267-270, abr./jun., 1996.

BRANCO, N. M. C. *et al.* NOTIVISA e os Laboratórios de Saúde Pública: A interface da informação em Vigilância Sanitária. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 3, n. 3, p. 130-134, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lei nº 6360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a Vigilância Sanitária a que ficam sujeitos os Medicamentos, as Drogas, os Insumos Farmacêuticos e Correlatos, Cosméticos, Saneantes e Outros Produtos, e dá outras Providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 set. 1976.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 122, de 29 de novembro de 1993. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 nov. 1993.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos saneantes com ação antimicrobiana harmonizado no âmbito do Mercosul através da Resolução GMC n 50/06. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 01 mar. 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 67, de 21 de dezembro de 2009. Dispõe sobre normas de tecnovigilância aplicáveis aos detentores de registro de produtos para saúde no Brasil. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 dez. 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 35, de 16 de agosto de 2010. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para produtos com ação antimicrobiana utilizado sem artigos críticos e semicríticos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 ago. 2010a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 59, de 17 de dezembro de 2010. Dispõe sobre os procedimentos e requisitos técnicos para a notificação e o registro de produtos saneantes e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 dez. 2010b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 55, de 14 de novembro de 2012. Dispõe sobre os detergentes enzimáticos de uso restrito em estabelecimentos de assistência à saúde com indicação para limpeza de dispositivos médicos e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 15 nov. 2012.

BRASILEIRO, L. B.; COLODETTE, J.L.; VELOSO, D.P. A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 819-829, 2001.

CAVALLINI, G. S. **Estudo do ácido peracético na desinfecção de esgoto sanitário**: influência das características físico-químicas do efluente, determinação de concentração residual e cinética de degradação. 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2011.

CAVALLINI, G. S. *et al.* Utilização do ácido peracético na desinfecção de esgoto sanitário: uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 27-40, 2012.

CARRARA, D.; SHIRAHIGE, C.A.; BRAGA, A. C.P.V.; ISHIOKA, S.; SAKAI, P.; TAKEITI, M.H.; STRABELLI, T.M.V. A desinfecção de endoscópios com ácido peracético por 10 minutos é efetiva? **Revista SOBECC**, v.18, n.4, p.38-46, 2013.

DUGHERI, S.; BONARI, A.; POMPILIO, I.; COLPO, M.; MONTALTI, M.; MUCCI, N.; ARCANGELI, G. Assessment of occupational exposure to gaseous peracetic acid **International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health**, v.31, n.4, p.527-535, 2018.

ECDC. **Healthcare-associated infections**. Suécia, 2016. Disponível em: <https://ecdc.europa.eu/en/healthcare-associated-infections>. Acesso em: 07 jan. 2019.

EU. **Regulation (EU) N° 528/2012**: concerning the making available on the market and use of biocidal products. Finlândia, 2015

FDA. **Cleared Sterilants and High Level Disinfectants with General Claims for Processing Reusable Medical and Dental Devices**. [Silver Spring, MD ], March 2015. Disponível em: <https://www.fda.gov/medical-devices/reprocessing-reusable-medical-devices-information-manufacturers/fda-cleared-sterilants-and-high-level-disinfectants-general-claims-processing-reusable-medical-and>. Acesso em: 30 de abril de 2019.

GREENSPAN, F. P.; MACKELLAR, D. G. Analysis of aliphatic per acids. **Analytical Chemistry**, v. 20, n. 11, p. 1061-1063, 1948.

HAGE, D.S.; CARR, J.D. **Química Analítica e Análise Quantitativa**. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2012.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2013.

INMETRO (Brasil). **DOQ-CGCRE-008 rev. 05**: orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro: INMETRO, 2016. 31p.

KHAN, H. A.; BAIG, F. K.; MEHBOOB, R. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 5, p. 478-482, 2017.

KOVALEVA, J. *et al.* Transmission of infection by flexible gastrointestinal endoscopy and bronchoscopy. **Clin Microbiol Rev**, v. 26, n. 2, p. 231-254, 2013.

KOVALEVA, J. Infectious complications in gastrointestinal endoscopy and their prevention. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 30, p. 689-704, 2016.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia líquida moderna: HPLC/CLAE**. Campinas, SP: Editora Átomo, 2009

LORENZINI, E.; COSTA, T.C.; SILVA, E.F. Prevenção e controle de infecção em unidade de terapia intensiva neonatal. **Rev. Gaúcha Enferm.**, v.34, n.4, p. 107-113 2013.

MCDONNELL, G; RUSSELL, A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, 12, 147-179, 1999.

MEADE, E.; GARVEY, M. Efficacy testing of novel chemical disinfectants on clinically relevant microbial pathogens. **American Journal of Infection Control**, v. 46, 44-49, 2018.

OLIVEIRA A.C.; CARDOSO C.S.; MASCARENHAS D. Precauções de contato em Unidade de Terapia Intensiva: fatores facilitadores e dificultadores para adesão dos profissionais. **Rev Esc Enferm USP**, v. 44, n. 1, p. 161-165, 2010.

OLIVEIRA, J. R.; XAVIER, R. M. F.; JUNIOR, A. F. S. Eventos adversos notificados ao Sistema Nacional de Notificações para a Vigilância Sanitária (NOTIVISA): Brasil, estudo descritivo no período 2006 a 2011. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 671-678, out-dez 2013.

OLIVEIRA, A.C.; Mati, M.L.M. Fatores relacionados à troca das soluções de desinfecção dos aparelhos endoscópicos. **Revista SOBECC**, v.20, n.1, p.24-29, 2015.

OMS. **Descontaminação e reprocessamento de produtos para saúde em instituições de assistência à saúde**. Genebra: OMS; OPAS, 2016.

PAPADOYANNIS, I. N.; GIKA, H. G. **Peak Purity Determination with a diode array detector**. Encyclopedia of Chromatography, 2003. Disponível em: [http://quimica.udea.edu.co/~carlopez/cromatohplc/hplc\\_dad\\_purity\\_peak\\_2004.pdf](http://quimica.udea.edu.co/~carlopez/cromatohplc/hplc_dad_purity_peak_2004.pdf). Acesso em: 18 mar. 2019.

PECHACEK, N.; OSORIO, M.; CAUDILL, J.; PETERSON, B. Evaluation of the toxicity data for peracetic acid in deriving occupational exposure limits: a minireview. **Toxicology Letters**, v.233, p.45-57, 2015.

RODRIGUES, C. N.; PEREIRA, D.C.A. Infecções relacionadas à assistência à saúde ocorridas em uma Unidade de Terapia Intensiva. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 8, p. 41-51, 2016.

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. **Guideline for disinfection and sterilization in health care facilities**. Atlanta, 2008. Disponível em: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/disinfection-guidelines.pdf>. Acesso em: 12 set. 2017.

RUTALA, W.A., WEBER, D.J. Selection of the ideal disinfectant. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v. 35, p. 855-865, 2014.

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. Disinfection, sterilization and antiseptics: an overview. **American Journal of Infection Control**, v. 44, p. e1-e6, 2016a.

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. Disinfection and sterilization in health care facilities: An overview and current tissues. **Infect Dis Clin N Am**, v. 30, p. 609-637, 2016b.

Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891552016300228?via%3Dihub>.

Acesso em: 12 set. 2017.

SEBRAE. **O mercado brasileiro de produtos de limpeza**. Brasília, 2019.

Disponível em: <http://www.sebraemercados.com.br/o-mercado-brasileiro-de-produtos-de-limpeza/>. Acesso em: 15 fev. 2019.

SILVA, A. S. **Estudo das formulações e metodologias analíticas de saneantes domissanitários com ação antimicrobiana, de uso hospitalar, com registro em 2004 e 2005**. 2008. 58 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.

SOLVAY. **Peróxidos do Brasil LTDA**. Disponível em:

<https://www.peroxidos.com.br/pt/dados-tecnicos/acido-peracetico/index.html>. Acesso em: 22 jan. 2019a.

SOLVAY. **Peróxidos do Brasil LTDA**. Disponível em:

<https://www.peroxidos.com.br/pt/binaries/MSDS-PROXITANEALFA025-PT-BR-326300.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2019b.

SODE, F. Simultaneous determination of peracetic acid and acid by titration with NaOH. **Analytical Methods**, v. 6, p. 2406-2409, 2014.

SULLY, B. D.; WILLIAMS, P. L. The analysis of solutions of per-acids and hydrogen peroxide. **Research Laboratory**, London, v. 87, p. 653-657, 1962.

VOGEL, A. I. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2013.

WEBER, D.J., RUTALA W.A. Lessons learned from outbreaks and pseudo-outbreaks associated with bronchoscopy. **Infect Control Hosp Epidemiol** v. 33, n. 3, p. 230-234, 2012.

WHO. **Prevention of hospital-acquired infections. A practical guide**. 2. ed. Genebra, 2002.

ZHAO, X. *et al*. Preparation of peracetic acid from hydrogen peroxide, Part I: Kinetics for peracetic acid synthesis and hydrolysis. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 271, p. 246-252, 2007.

ZHAO, X. *et al*. Preparation of peracetic acid from hydrogen peroxide, Part II: Kinetics for spontaneous decomposition of peracetic acid in the liquid phase. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 284, p. 58-68, 2008.



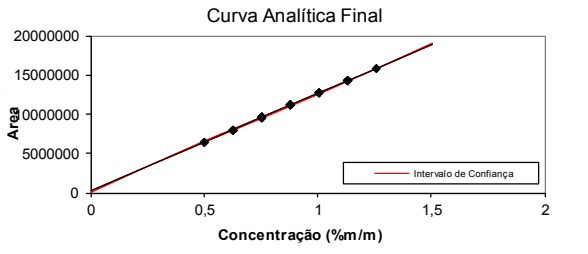
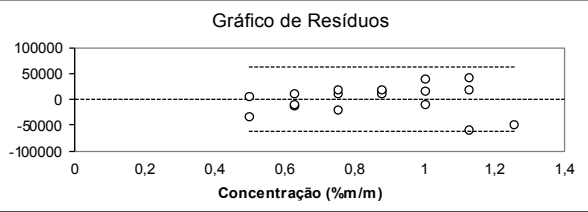
## APENDICE A – AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DO PH, APA e AAc (1ª SEMANA)

### Curva analítica do APA a partir da matéria prima

Ministério da Saúde		FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		INCQS	
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Linearidade-MP-APA-v1				
Data de Confeção da Curva:	03/09/2018	Curva N°:			
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	7		
Equipamento:	Responsável:				
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. % m/m	Resposta Area		
1	01	0,0216	632146		
	02	0,0216	626388		
	03	0,0216	631869		
2	04	0,027	776404		
	05	0,027	774885		
	06	0,027	771979		
3	07	0,0324	920951		
	08	0,0324	937918		
	09	0,0324	922585		
4	10	0,0378	1092974		
	11	0,0378	1094761		
	12	0,0378	1076809		
5	13	0,0432	1253154		
	14	0,0432	1254105		
	15	0,0432	1252986		
6	16	0,0486	1414807		
	17	0,0486	1391735		
	18	0,0486	1534925		
7	19	0,054	1572141		
	20	0,054	1540521		
	21	0,054	1537596		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,98				
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )	0,95				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	1,93				
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$	1,20				
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$	1,41				
<b>Estadísticas da Regressão Linear (Modelo: Y = a + bX)</b>					
Coefficiente Angular (b):	2,87E+07	Coefficiente Linear (a):	4,03E+03		
r	0,9995	R <sup>2</sup>	0,9989		
N	20	Graus de Liberdade	18		
<b>Limites de Detecção e Quantificação (LD e LQ)</b>					
Limite de Detecção	1,01E-03	Limite de Quantificação	3,00E-03		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	1,92E+12	1,92E+12	1,67E+04	3,60E-28
resíduos	18	2,07E+09	1,15E+08		
Ajuste	5	6,64E+08	1,33E+08	1,23E+00	3,49E-01
erro puro	13	1,40E+09	1,08E+08		
total	19	1,92E+12			
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA					Pág.:1/1

Fonte: (BASÍLIO *et al.*, 2012; SOUZA; JUNQUEIRA, 2005).

## Curva analítica do PH a partir da matéria prima

 Ministério da Saúde <b>FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ</b> Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde		 INCQS			
<b>AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Linearidade-MP-H2O2-v1				
Data de Confeção da Curva:	03/09/2018	Curva N°:			
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	7		
Equipamento:		Responsável:			
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. %m/m	Resposta Area		
1	01	0,5024	6363223		
	02	0,5024	6416728		
	03	0,5024	6456057		
2	04	0,628	7999258		
	05	0,628	8002820		
	06	0,628	8024402		
3	07	0,7536	9554134		
	08	0,7536	9586883		
	09	0,7536	9592775		
4	10	0,8792	11151525		
	11	0,8792	11148603		
	12	0,8792	11155069		
5	13	1,0048	12689880		
	14	1,0048	12738909		
	15	1,0048	12714584		
6	16	1,1304	14278527		
	17	1,1304	14200264		
	18	1,1304	14301465		
7	19	1,256	15772461		
	20	1,256	15687119		
	21	1,256	15731034		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,96				
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )	0,95				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	2,48				
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$	1,16				
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$	1,39				
<b>Estadísticas da Regressão Linear (Modelo: <math>Y = a + bX</math>)</b>					
Coefficiente Angular (b):	1,24E+07	Coefficiente Linear (a):	2,04E+05		
r	1,0000	R <sup>2</sup>	0,9999		
N	18	Graus de Liberdade	16		
<b>Limites de Detecção e Quantificação (LD e LQ)</b>					
Limite de Detecção	6,74E-03	Limite de Quantificação	2,02E-02		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	1,38E+14	1,38E+14	1,66E+05	1,47E-33
resíduos	16	1,33E+10	8,31E+08		
Ajuste	5	4,43E+09	8,86E+08	1,10E+00	4,14E-01
erro puro	11	8,86E+09	8,06E+08		
total	17	1,38E+14			
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA				Pág.:1/1	

## Curva analítica do AAC a partir da matéria prima

Ministério da Saúde		FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		INCQS	
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde					
<b>AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Linearidade-MP-HAc-v1				
Data de Confeção da Curva:	09/03/2018	Curva N°:			
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	7		
Equipamento:			Responsável:		
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc.	Resposta		
1	01	0,312	1545154		
	02	0,312	1533902		
	03	0,312	1530319		
2	04	0,39	1893239		
	05	0,39	1878523		
	06	0,39	1874419		
3	07	0,468	2239411		
	08	0,468	2242376		
	09	0,468	2220589		
4	10	0,546	2599061		
	11	0,546	2785148		
	12	0,546	2611973		
5	13	0,624	2985971		
	14	0,624	2983654		
	15	0,624	2985941		
6	16	0,702	3364784		
	17	0,702	3353120		
	18	0,702	3346285		
7	19	0,78	3805614		
	20	0,78	3765929		
	21	0,78	3770759		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,85				
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )	0,95				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	2,11				
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$	1,22				
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$	1,42				
<b>Estadísticas da Regressão Linear (Modelo: <math>Y = a + bX</math>)</b>					
Coefficiente Angular (b):	4,78E+06	Coefficiente Linear (a):	2,68E+04		
r	0,9985	R <sup>2</sup>	0,9970		
N	21	Graus de Liberdade	19		
<b>Limites de Detecção e Quantificação (LD e LQ)</b>					
Limite de Detecção	2,42E-02	Limite de Quantificação	7,19E-02		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	1,17E+13	1,17E+13	6,23E+03	2,22E-25
resíduos	19	3,55E+10	1,87E+09		
Ajuste	5	1,22E+10	2,45E+09	1,47E+00	2,61E-01
erro puro	14	2,33E+10	1,66E+09		
total	20	1,17E+13			
<b>Resumo da Avaliação</b>					
Homogeneidade de variância					
Há Homocedasticidade	$p > 0,05$				
Regressão e Teste de Desvio de Linearidade					
A regressão é significativa	$p < 0,001$				
Não há desvio de Linearidade	$p > 0,05$				
Autocorrelação dos Resíduos ( $\alpha = 0,05$ )					
Não há autocorrelação	$d > dU$				
Teste de Normalidade ( $\alpha = 0,05$ )					
<b>Não segue a normal</b>	Req $\leq$ Rcrit				
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA					Pág.:1/1

Fonte: (BASÍLIO et al., 2012; SOUZA; JUNQUEIRA, 2005).



## APENDICE B – AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DO PH, APA e AAc (2ª SEMANA)

### Curva analítica do PH a partir da matéria prima

Ministério da Saúde		FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		INCQS	
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde		AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA			
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Linearidade-MP-H2O2				
Data de Confecção da Curva:	10/09/2018	Curva N°:			
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	7		
Equipamento:	Responsável:				
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. %m/m	Resposta Area	<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos) Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.	
1	01	0,5	6640847		
	02	0,5	6627972		
	03	0,5	6600387		
2	04	0,625	8171165		
	05	0,625	8185441		
	06	0,625	8167860		
3	07	0,75	9786181		
	08	0,75	9802044		
	09	0,75	9761779		
4	10	0,875	11312395		
	11	0,875	11300292		
	12	0,875	11249607		
5	13	1	12816797		
	14	1	12902068		
	15	1	12800725		
6	16	1,125	14306703		
	17	1,125	14314350		
	18	1,125	14378531		
7	19	1,25	15834461		
	20	1,25	15880954		
	21	1,25	15893367		
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,98				
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )	0,95				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	1,55				
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$	1,18				
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$	1,40				
<b>Homogeneidade da Variância dos Resíduos</b> (Teste de Brown-Forsythe)					
Variância Combinada	1,10E+09				
$t_L$ calculado	3,13E-01				
$t_{\text{tabelado}} (\alpha = 0,05)$	2,11E+00				
p	7,58E-01				
<b>Resumo da Avaliação</b>					
Homogeneidade de variância					
Há Homocedasticidade	$p > 0,05$				
Regressão e Teste de Desvio de Linearidade					
A regressão é significativa	$p < 0,001$				
Não há desvio de Linearidade	$p > 0,05$				
Autocorrelação dos Resíduos ( $\alpha = 0,05$ )					
Não há autocorrelação	$d > dU$				
Teste de Normalidade ( $\alpha = 0,05$ )					
Segue a Normal	Req > Rcrit				
<b>Estadísticas da Regressão Linear (Modelo: <math>Y = a + bX</math>)</b>					
Coefficiente Angular (b):	1,23E+07	Coefficiente Linear (a):	4,88E+05		
r	1,0000	R <sup>2</sup>	0,9999		
N	19	Graus de Liberdade	17		
<b>Limites de Detecção e Quantificação (LD e LQ)</b>					
Limite de Detecção	7,14E-03	Limite de Quantificação	2,14E-02		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	1,94E+14	1,94E+14	1,84E+05	9,53E-36
resíduos	17	1,79E+10	1,05E+09		
Ajuste	5	9,20E+09	1,84E+09	2,53E+00	8,69E-02
erro puro	12	8,72E+09	7,26E+08		
total	18	1,94E+14			
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA				Pág.:1/1	

## Curva analítica do APA a partir da matéria prima

Ministério da Saúde		FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		INCQS	
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde					
<b>AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Linearidade-MP-APA-v1				
Data de Confeção da Curva:	10/09/2018	Curva N°:			
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	7		
Equipamento:	Responsável:				
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. %m/m	Resposta Area		
1	01	0,0216	617425		
	02	0,0216	622970		
	03	0,0216	619594		
2	04	0,027	780643		
	05	0,027	779375		
	06	0,027	773854		
3	07	0,0324	928590		
	08	0,0324	927026		
	09	0,0324	931208		
4	10	0,0378	1083872		
	11	0,0378	1078522		
	12	0,0378	1078549		
5	13	0,0432	1233887		
	14	0,0432	1240092		
	15	0,0432	1233583		
6	16	0,0486	1386308		
	17	0,0486	1400050		
	18	0,0486	1391212		
7	19	0,054	1557134		
	20	0,054	1563960		
	21	0,054	1566493		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req		0,98			
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )		0,95			
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)		1,73			
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$		1,18			
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$		1,40			
<b>Estadísticas da Regressão Linear (Modelo: <math>Y = a + bX</math>)</b>					
Coeficiente Angular (b):		2,86E+07		Coeficiente Linear (a): 1,71E+03	
r		0,9999		R <sup>2</sup> 0,9998	
N		19		Graus de Liberdade 17	
<b>Homogeneidade da Variância dos Resíduos</b> (Teste de Brown-Forsythe)					
Variância Combinada		2,36E+07			
t <sub>L</sub> calculado		-9,70E-01			
t <sub>tabelado</sub> ( $\alpha = 0,05$ )		2,11E+00			
p		3,46E-01			
<b>Limites de Detecção e Quantificação (LD e LQ)</b>					
Limite de Detecção		4,58E-04		Limite de Quantificação 1,37E-03	
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	1,53E+12	1,53E+12	6,94E+04	3,84E-32
resíduos	17	3,75E+08	2,21E+07		
Ajuste	5	1,81E+08	3,63E+07	2,25E+00	1,16E-01
erro puro	12	1,94E+08	1,61E+07		
total	18	1,53E+12			
<b>Resumo da Avaliação</b>					
Homogeneidade de variância					
Há Homocedasticidade $p > 0,05$					
Regressão e Teste de Desvio de Linearidade					
A regressão é significativa $p < 0,001$					
Não há desvio de Linearidade $p > 0,05$					
Autocorrelação dos Resíduos ( $\alpha = 0,05$ )					
Não há autocorrelação $d > dU$					
Teste de Normalidade ( $\alpha = 0,05$ )					
Segue a Normal $Req > Rcrit$					
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA				Pág.:1/1	

Fonte: (BASÍLIO *et al.*, 2012; SOUZA; JUNQUEIRA, 2005).

## Curva analítica do AAC a partir da matéria prima

Ministério da Saúde		FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		INCQS	
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde					
<b>AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Linearidade-MP-HAC				
Data de Confeção da Curva:	10/09/2018	Curva N°:			
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	7		
Equipamento:	Responsável:				
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. %m/m	Resposta Area	<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos) Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.	
1	01	0,3384	1454963		
	02	0,3384	1452280		
	03	0,3384	1560857		
2	04	0,423	1944976		
	05	0,423	1934495		
	06	0,423	1974676		
3	07	0,5076	2352290		
	08	0,5076	2364758		
	09	0,5076	2413498		
4	10	0,5922	2781853		
	11	0,5922	2784494		
	12	0,5922	2826766		
5	13	0,6768	3210122		
	14	0,6768	3222801		
	15	0,6768	3233858		
6	16	0,7614	3608502		
	17	0,7614	3620211		
	18	0,7614	3664636		
7	19	0,846	4068649		
	20	0,846	4022729		
	21	0,846	4089606		
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,98				
Rcrit (α = 0,05)	0,95				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	1,98				
dL (Limite Inferior) α = 0,05	1,22				
dU (Limite Superior) α = 0,05	1,42				
<b>Homogeneidade da Variância dos Resíduos</b> (Teste de Brown-Forsythe)					
Variância Combinada	1,05E+09				
t <sub>i</sub> calculado	5,36E-01				
t <sub>t</sub> tabelado (α = 0,05)	2,09E+00				
p	5,98E-01				
<b>Resumo da Avaliação</b>					
Homogeneidade de variância					
Há Homocedasticidade p > 0,05					
Regressão e Teste de Desvio de Linearidade					
A regressão é significativa p < 0,001					
Não há desvio de Linearidade p > 0,05					
Autocorrelação dos Resíduos (α = 0,05)					
Não há autocorrelação d > dU					
Teste de Normalidade (α = 0,05)					
Segue a Normal Req > Rcrit					
<b>Estadísticas da Regressão Linear (Modelo: Y = a + bX)</b>					
Coefficiente Angular (b):	5,03E+06	Coefficiente Linear (a):	-1,90E+05		
r	0,9994	R <sup>2</sup>	0,9987		
N	21	Graus de Liberdade	19		
<b>Limites de Detecção e Quantificação (LD e LQ)</b>					
Limite de Detecção	1,71E-02	Limite de Quantificação	5,09E-02		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	1,52E+13	1,52E+13	1,47E+04	6,44E-29
resíduos	19	1,97E+10	1,03E+09		
Ajuste	5	3,39E+09	6,77E+08	5,82E-01	7,13E-01
erro puro	14	1,63E+10	1,16E+09		
total	20	1,52E+13			
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA				Pág.:1/1	

Fonte: (BASÍLIO et al., 2012; SOUZA; JUNQUEIRA, 2005).



**APENDICE D – AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO PH (1ª E 2ª SEMANA)**

Curva com solvente		MP	03/09/2018						
Padrão	Conc. (mg/mL) (X <sub>1</sub> )	Abs (Y <sub>1</sub> )	Y <sub>1</sub> est	Y <sub>1</sub> -Y <sub>1</sub> est	(X <sub>1</sub> -X <sub>1</sub> med) <sup>2</sup>	X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	Homocedasticidade das variâncias dos resíduos (Teste F Snedecor)		
S1					0,736621671	0	S <sup>2</sup> res 25/09	781881282,1	
S2	5,02E-01	6416728	6451547,985	-34819,9853	0,126641084	0,2524058	S <sup>2</sup> res 01/10	995194288,5	
S3	5,02E-01	6456057	6451547,985	4509,01475	0,126641084	0,2524058	GL (n1 + n2) - 4	33	
S1	6,28E-01	7999258	8013439,755	-14181,7552	0,053022738	0,394384	F (1-n/2;GL)	2,32	
S2	6,28E-01	8002820	8013439,755	-10619,7552	0,053022738	0,394384	Teste F	1,272820198	
S3	6,28E-01	8024402	8013439,755	10962,2448	0,053022738	0,394384			
S1	7,54E-01	9554134	9575331,525	-21197,5251	0,010955111	0,567913			
S2	7,54E-01	9586883	9575331,525	11551,4749	0,010955111	0,567913			
S3	7,54E-01	9592775	9575331,525	17443,4749	0,010955111	0,567913			
S1	8,79E-01	11151525	11137223,29	14301,705	0,000438204	0,7729926	Estatísticas (curva solvente)		
S2	8,79E-01	11148603	11137223,29	11379,705	0,000438204	0,7729926	Inclinação	12435444,03	
S3	8,79E-01	11155069	11137223,29	17845,705	0,000438204	0,7729926	Interceção	203980,9056	
S1	1,00E+00	12689880	12699115,06	-9235,0649	0,021472018	1,009623	Sxx <sub>1</sub>	3,101172853	
S2	1,00E+00	12738909	12699115,06	39793,9351	0,021472018	1,009623	s <sup>2</sup> res <sub>1</sub>	781881282,1	
S3	1,00E+00	12714584	12699115,06	15468,9351	0,021472018	1,009623	n <sub>1</sub>	18	
S1	1,13E+00	14278527	14261006,83	17520,1652	0,074056551	1,2778042	ΣX <sub>1</sub> <sup>2</sup>	14,15049792	
S2	1,13E+00	14200264	14261006,83	-60742,8348	0,074056551	1,2778042	X <sub>1</sub> med	0,858266667	
S3	1,13E+00	14301465	14261006,83	40458,1652	0,074056551	1,2778042			
S1	1,26E+00	15772461	15822898,6	-50437,6047	0,158191804	1,577536	Estatísticas (curva matriz)		
S2					0,736621671	0	Inclinação	12315953,76	
S3					0,736621671	0	Interceção	488267,516	
							Sxx <sub>2</sub>	2,8125	
							s <sup>2</sup> res <sub>2</sub>	995194288,5	
							n <sub>2</sub>	19	
							ΣX <sub>2</sub> <sup>2</sup>	15,828125	
							X <sub>2</sub> med	0,88	
Curva com matriz		MP	10/09/2018						
Padrão	Conc. (mg/mL) (X <sub>2</sub> )	Abs (Y <sub>2</sub> )	Y <sub>2</sub> est	Y <sub>2</sub> -Y <sub>2</sub> est	(X <sub>2</sub> -X <sub>2</sub> med) <sup>2</sup>	X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	Avaliação		
S1	0,500	6640847	6646244,394	-5397,39409	0,140625	0,25	s <sup>2</sup> D	891769800,5	
S2	0,500	6627972	6646244,394	-18272,3941	0,140625	0,25	t <sub>b</sub>	4,859446144	
S3	0,500	6600387	6646244,394	-45857,3941	0,140625	0,25	t <sub>a</sub>	12,84010889	
S1	0,625	8171165	8185738,614	-14573,6136	0,0625	0,390625	GL (n1 + n2) - 4	33	
S2	0,625	8185441	8185738,614	-297,613607	0,0625	0,390625	t (1-n/2;GL)	2,03	
S3	0,625	8167860	8185738,614	-17878,6136	0,0625	0,390625			
S1	0,750	9786181	9725232,833	60948,1669	0,015625	0,5625			
S2					0,765625	0			
S3	0,750	9761779	9725232,833	36546,1669	0,015625	0,5625			
S1	0,875	11312395	11264727,05	47667,9474	1,2326E-32	0,765625			
S2	0,875	11300292	11264727,05	35564,9474	1,2326E-32	0,765625			
S3	0,875	11249607	11264727,05	-15120,0526	1,2326E-32	0,765625			
S1	1,000	12816797	12804221,27	12575,7279	0,015625	1			
S2					0,765625	0			
S3	1,000	12800725	12804221,27	-3496,27214	0,015625	1			
S1	1,125	14306703	14343715,49	-37012,4917	0,0625	1,265625			
S2	1,125	14314350	14343715,49	-29365,4917	0,0625	1,265625			
S3	1,125	14378531	14343715,49	34815,5083	0,0625	1,265625			
S1	1,250	15834461	15883209,71	-48748,7112	0,140625	1,5625			
S2	1,250	15880954	15883209,71	-2255,71117	0,140625	1,5625			
S3	1,250	15893367	15883209,71	10157,2888	0,140625	1,5625			



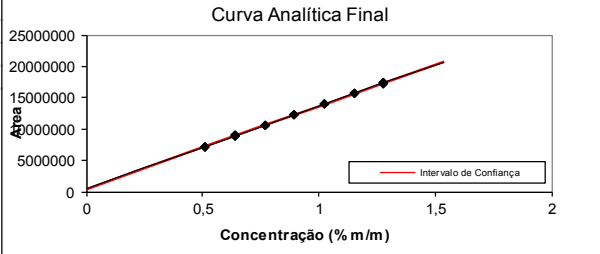
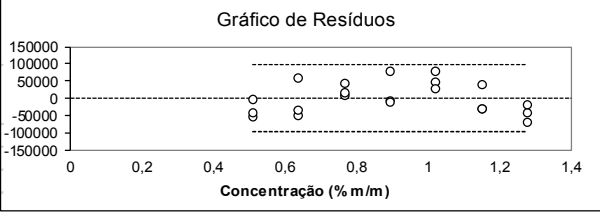
Graph showing Absorbance (Y-axis, 0 to 18000000) versus Concentration (%) (X-axis, 0,00E+00 to 1,50E+00). The regression equation is  $y = 1E+07x + 203981$  with  $R^2 = 0,9999$ .

Graph showing Absorbance (Y-axis, 0,0 to 18000000,0) versus Concentration (%) (X-axis, 0,000 to 1,500). The regression equation is  $y = 1E+07x + 488268$  with  $R^2 = 0,9999$ .



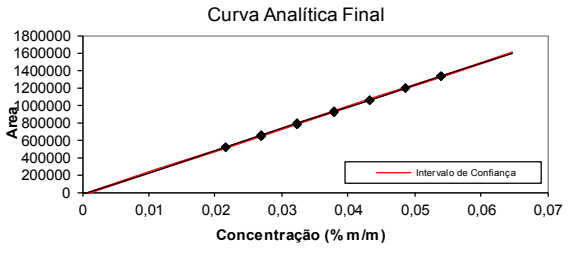
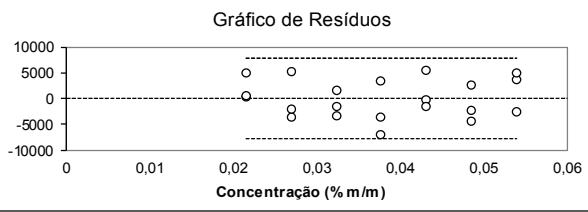
Fonte: (BASÍLIO *et al.*, 2012).

## APENDICE E – AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DO PH, APA E AAC

### Curva analítica do PH a partir da matéria prima



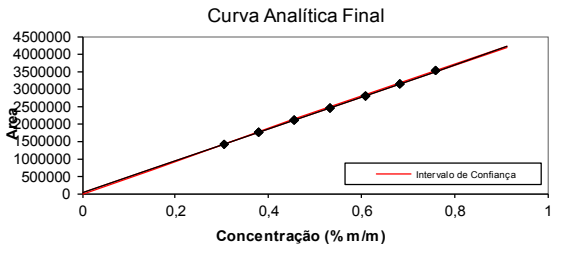
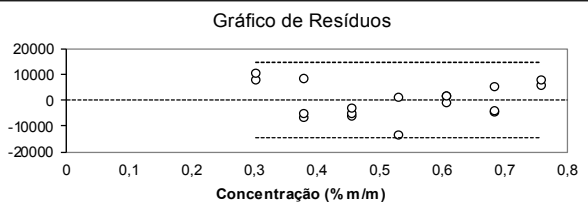
 Ministério da Saúde <b>FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ</b> Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde		 INCQS			
<b>AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Curva analítica-MP-H2O2-v1				
Data de Confeção da Curva:	22/11/2018	Curva N°:			
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	7		
Equipamento:	CLAE	Responsável:	Ana Lucia		
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. % m/m	Resposta Area		
1	01	0,512	7191520		
	02	0,512	7200588		
	03	0,512	7240607		
2	04	0,64	8876743		
	05	0,64	8894602		
	06	0,64	8988295		
3	07	0,768	10621723		
	08	0,768	10630151		
	09	0,768	10654762		
4	10	0,896	12287880		
	11	0,896	12287432		
	12	0,896	12376297		
5	13	1,024	14028715		
	14	1,024	14008722		
	15	1,024	14059174		
6	16	1,152	15636083		
	17	1,152	15634381		
	18	1,152	15705561		
7	19	1,28	17309432		
	20	1,28	17280767		
	21	1,28	17330300		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,98				
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )	0,95				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	1,43				
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$	1,22				
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$	1,42				
<b>Estadísticas da Regressão Linear (Modelo: <math>Y = a + bX</math>)</b>					
Coefficiente Angular (b):	1,32E+07	Coefficiente Linear (a):	5,07E+05		
r	0,9999	R <sup>2</sup>	0,9998		
N	21	Graus de Liberdade	19		
<b>Limites de Detecção e Quantificação (LD e LQ)</b>					
Limite de Detecção	9,32E-03	Limite de Quantificação	2,79E-02		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	2,38E+14	2,38E+14	1,13E+05	2,47E-37
resíduos	19	4,00E+10	2,10E+09		
Ajuste	5	1,98E+10	3,96E+09	2,74E+00	6,25E-02
erro puro	14	2,02E+10	1,44E+09		
total	20	2,38E+14			
<b>Resumo da Avaliação</b>					
Homogeneidade de variância					
Há Homocedasticidade $p > 0,05$					
Regressão e Teste de Desvio de Linearidade					
A regressão é significativa $p < 0,001$					
Não há desvio de Linearidade $p > 0,05$					
Autocorrelação dos Resíduos ( $\alpha = 0,05$ )					
Não há autocorrelação $d > dU$					
Teste de Normalidade ( $\alpha = 0,05$ )					
Segue a Normal $Req > Rcrit$					
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA				Pág.:1/1	

## Curva analítica do APA a partir da matéria prima

 Ministério da Saúde <b>FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ</b> Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde		 INCQS			
<b>AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Curva analítica-MP-APA				
Data de Confeção da Curva:	22/11/2018	Curva N°:			
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	7		
Equipamento:	CLAE	Responsável:	Ana Lucia		
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. % m/m	Resposta Area		
1	01	0,0216	514557		
	02	0,0216	514768		
	03	0,0216	519144		
2	04	0,027	645954		
	05	0,027	647474		
	06	0,027	654762		
3	07	0,0324	781504		
	08	0,0324	783267		
	09	0,0324	786275		
4	10	0,0378	913051		
	11	0,0378	916419		
	12	0,0378	923347		
5	13	0,0432	1055010		
	14	0,0432	1053640		
	15	0,0432	1060842		
6	16	0,0486	1188099		
	17	0,0486	1186181		
	18	0,0486	1193032		
7	19	0,054	1329420		
	20	0,054	1323152		
	21	0,054	1330616		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,98				
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )	0,95				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	2,41				
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$	1,22				
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$	1,42				
<b>Estadísticas da Regressão Linear (Modelo: <math>Y = a + bX</math>)</b>					
Coefficiente Angular (b):	2,50E+07	Coefficiente Linear (a):	-2,67E+04		
r	0,9999	R <sup>2</sup>	0,9998		
N	21	Graus de Liberdade	19		
<b>Limites de Detecção e Quantificação (LD e LQ)</b>					
Limite de Detecção	3,98E-04	Limite de Quantificação	1,19E-03		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	1,54E+12	1,54E+12	1,10E+05	3,16E-37
resíduos	19	2,65E+08	1,39E+07		
Ajuste	5	5,38E+07	1,08E+07	7,14E-01	6,23E-01
erro puro	14	2,11E+08	1,51E+07		
total	20	1,54E+12			
<b>Resumo da Avaliação</b>					
<b>Homogeneidade de variância</b>					
Há Homocedasticidade	$p > 0,05$				
<b>Regressão e Teste de Desvio de Linearidade</b>					
A regressão é significativa	$p < 0,001$				
Não há desvio de Linearidade	$p > 0,05$				
<b>Autocorrelação dos Resíduos (<math>\alpha = 0,05</math>)</b>					
Não há autocorrelação	$d > dU$				
<b>Teste de Normalidade (<math>\alpha = 0,05</math>)</b>					
Segue a Normal	$Req > Rcrit$				
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ____/____/____ Verificado por: _____ Data: ____/____/____					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA			Pág.:1/1		

Fonte: (BASÍLIO *et al.*, 2012; SOUZA; JUNQUEIRA, 2005).

## Curva analítica do AAC a partir da matéria prima

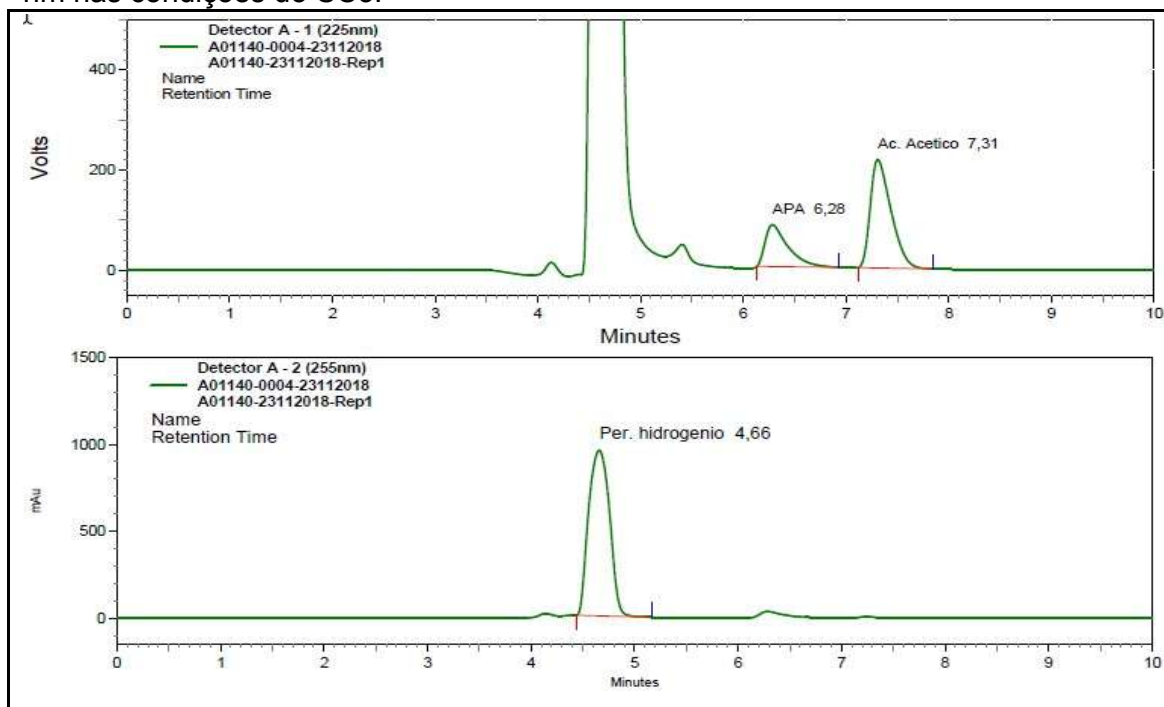
 Ministério da Saúde <b>FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ</b> Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde		 INCQS			
<b>AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Curva analítica-MP-HAc-v1				
Data de Confeção da Curva:	22/11/2018	Curva N°:			
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	7		
Equipamento:	CLAE	Responsável:	Ana Lucia		
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. % m/m	Resposta Area		
1	01	0,304	1412963		
	02	0,304	1415382		
	03	0,304	1416326		
2	04	0,38	1746555		
	05	0,38	1748514		
	06	0,38	1762085		
3	07	0,456	2095845		
	08	0,456	2097116		
	09	0,456	2098915		
4	10	0,532	2436576		
	11	0,532	2437108		
	12	0,532	2451880		
5	13	0,608	2800568		
	14	0,608	2798410		
	15	0,608	2801023		
6	16	0,684	3143164		
	17	0,684	3143555		
	18	0,684	3152882		
7	19	0,76	3506020		
	20	0,76	3501815		
	21	0,76	3503884		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,98				
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )	0,95				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	1,62				
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$	1,16				
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$	1,39				
<b>Estadísticas da Regressão Linear (Modelo: <math>Y = a + bX</math>)</b>					
Coefficiente Angular (b):	4,59E+06	Coefficiente Linear (a):	1,07E+04		
r	1,0000	R <sup>2</sup>	0,9999		
N	18	Graus de Liberdade	16		
<b>Limites de Detecção e Quantificação (LD e LQ)</b>					
Limite de Detecção	4,20E-03	Limite de Quantificação	1,26E-02		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	8,02E+12	8,02E+12	1,74E+05	9,89E-34
resíduos	16	7,36E+08	4,60E+07		
Ajuste	5	4,10E+08	8,19E+07	2,76E+00	7,45E-02
erro puro	11	3,26E+08	2,97E+07		
total	17	8,02E+12			
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ____/____/____ Verificado por: _____ Data: ____/____/____					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA				Pág.:1/1	

Fonte: (BASÍLIO *et al.*, 2012; SOUZA; JUNQUEIRA, 2005).

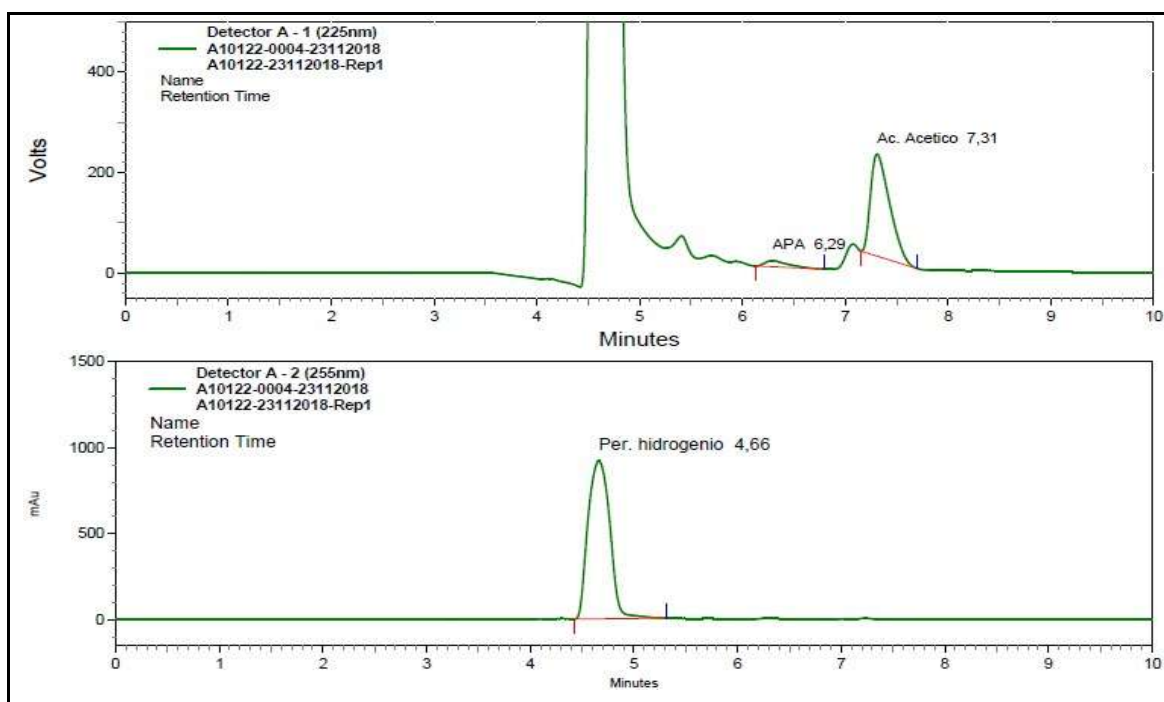


## APENDICE F – CROMATOGRAMAS DA SOLUÇÃO TRABALHO DAS AMOSTRAS

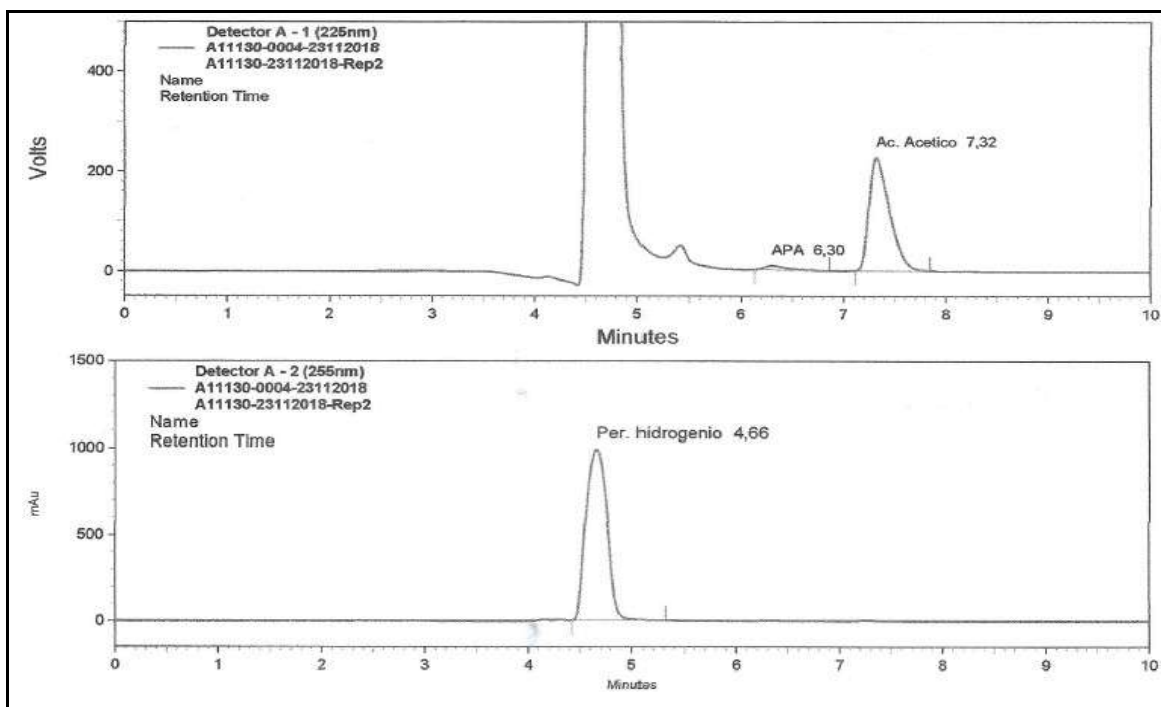
Cromatograma da solução trabalho da amostra A01140 (diluição 4/25) em 225 e 255 nm nas condições do SC3.



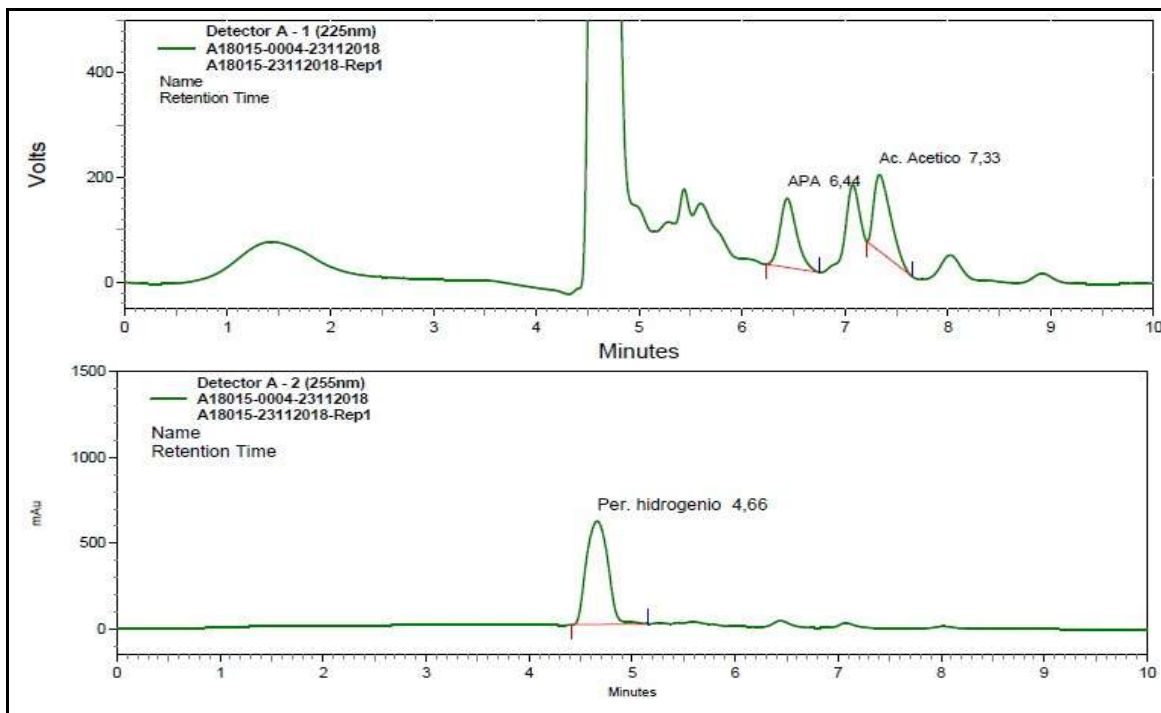
Cromatograma da solução trabalho da amostra A10122 (diluição 4/25) em 225 e 255 nm nas condições do SC3.



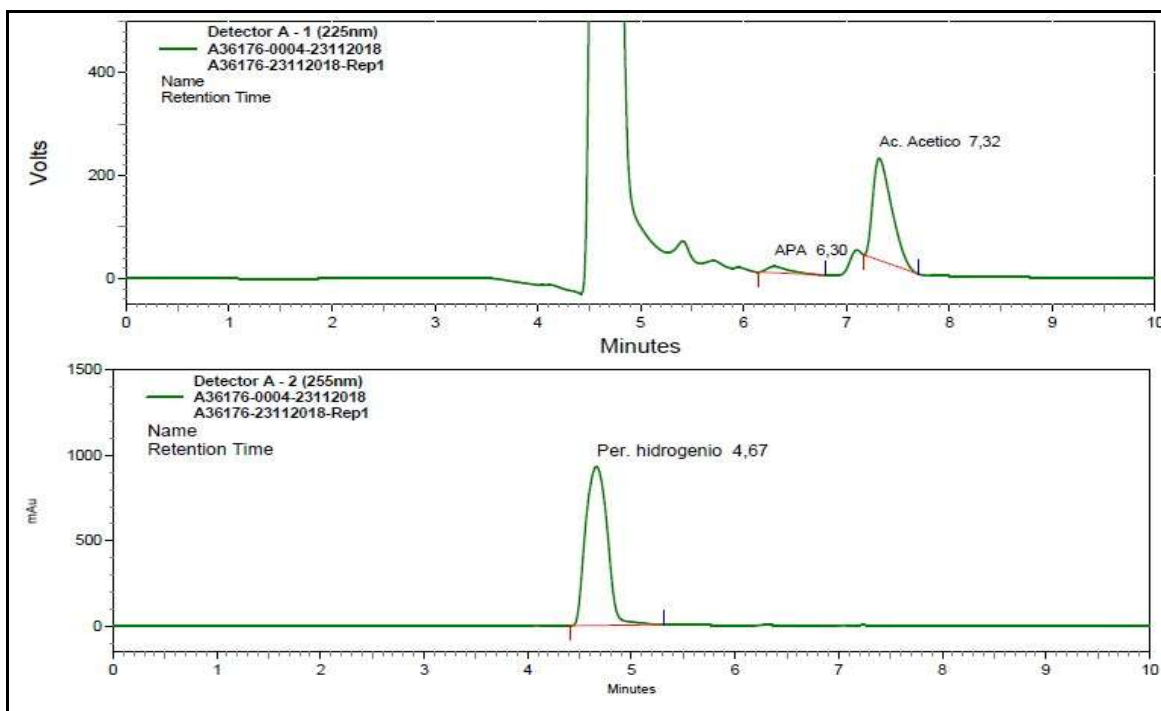
Cromatograma da solução trabalho da amostra A11130 (diluição 4/25) em 225 e 255 nm nas condições do SC3.



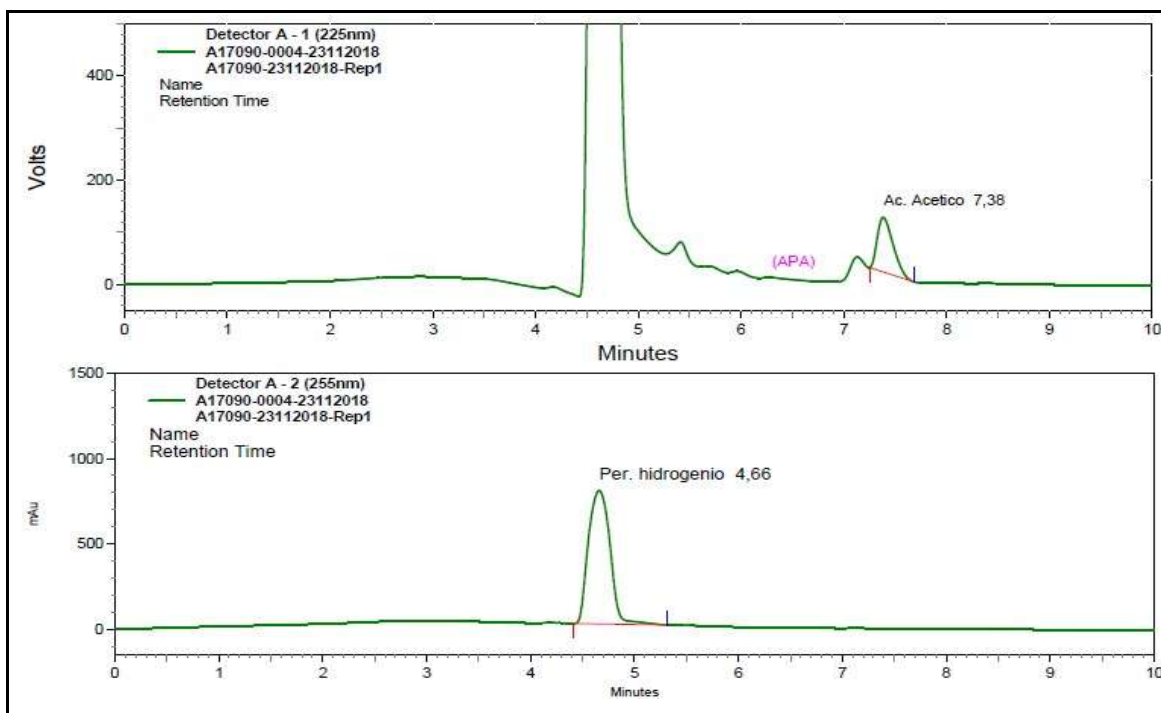
Cromatograma da solução trabalho da amostra A18015 (diluição 4/25) em 225 e 255 nm nas condições do SC3.



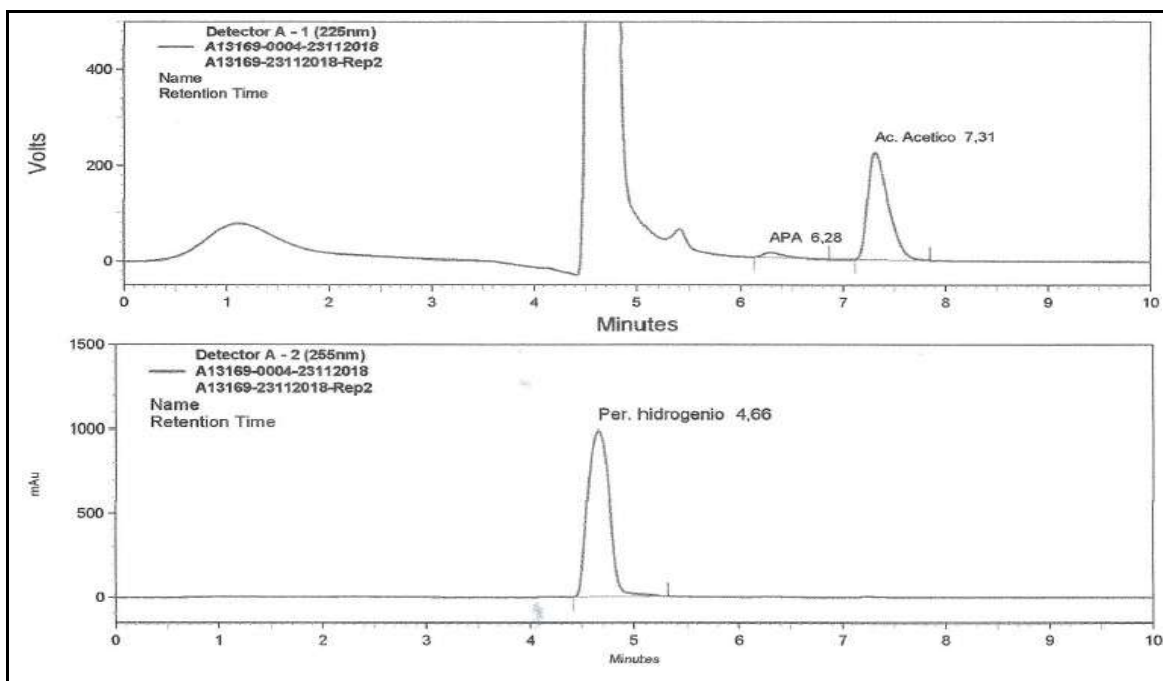
Cromatograma da solução trabalho da amostra A36176 (diluição 4/25) em 225 e 255 nm nas condições do SC3.



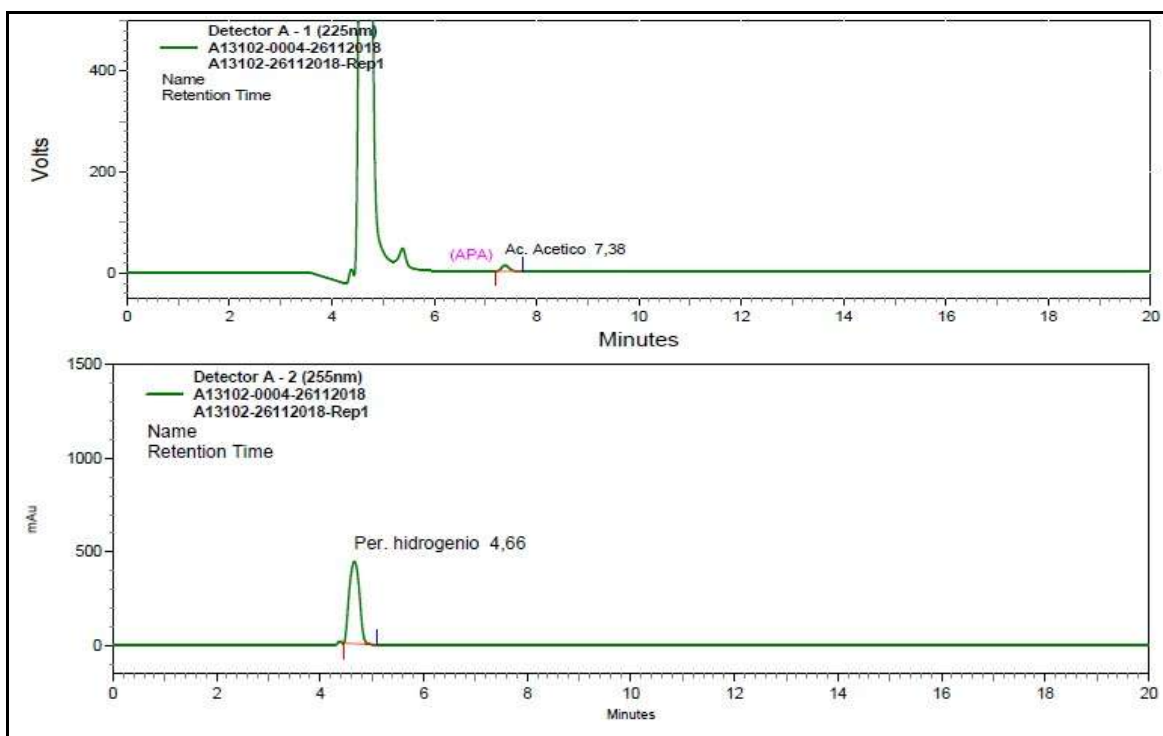
Cromatograma da solução trabalho da amostra A17090 (diluição 4/25) em 225 e 255 nm nas condições do SC3.



Cromatograma da solução trabalho da amostra A13169 (diluição 4/25) em 225 e 255 nm nas condições do SC3.



Cromatograma da solução trabalho da amostra A13102 (diluição 4/25) em 225 e 255 nm nas condições do SC3.



Cromatograma da solução trabalho da amostra A12320 (diluição 4/25) em 225 e 255 nm nas condições do SC3.

