



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO – BERNARDO LUIZ
MENDES GOMES**

BOSTON SCIENTIFIC

Relatório desenvolvido como requisito para aprovação na disciplina de estágio curricular obrigatório do curso de Química tecnológica ministrado pela Prof^a. Dr^a Esther Maria F. Lucas.

Belo Horizonte

JUNHO, 2023

Eu **Ana Amélia Brandão Cabral** , como supervisor do estágio obrigatório, estou ciente deste relatório de estágio supervisionado, redigido pelo estagiário(a) **Bernardo Luiz Mendes Gomes** e concordo com as informações descritas, confirmo a sua veracidade e aprovo o mesmo.

Carimbo da empresa e assinatura do supervisor:

DocuSigned by:
Ana Amélia Cabral
 Signer Name: Ana Amelia Cabral
Signing Reason: I approve this document
Signing Time: 30 May 2023 | 8:10:03 AM EDT
AB924BFC13AC4BE693B96D29AB43F827

Sumário

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 4 |
| 2. OBJETIVOS | 6 |
| 3. REVISÃO BIBLOGRÁFICA..... | 7 |
| 3.1 Métodos Analíticos: | 7 |
| 3.2 Métodos Microbiológicos..... | 10 |
| 3.3 Métodos Físico-Químicos:..... | 12 |
| 4. ATIVIDADES REALIZADAS | 13 |
| 4.1 Laboratório de Analítica | 13 |
| 4.2 Laboratório de Microbiologia..... | 16 |
| 4.3 Laboratório de físico-química..... | 20 |
| 5. RESULTADOS | 22 |
| 6. CONCLUSÃO | 23 |
| Referências..... | 24 |

1. INTRODUÇÃO

A Boston Scientific é uma empresa multinacional e fabricante de dispositivos médicos usados em especialidades intervencionistas. Atualmente conta com mais de 41.000 funcionários ao redor do mundo, presentes em cerca de 115 diferentes países, e com cerca de 750 funcionários nas plantas localizadas no Brasil. “Nossos produtos e tecnologias são utilizados para diagnosticar ou tratar muitas condições clínicas, incluindo as áreas cardíaca, digestiva, pulmonar, vascular, urológica, saúde da mulher e neuromodulação”. No Brasil, os produtos produzidos pela Boston são válvulas cardíacas aórticas artificiais. As válvulas são produzidas, basicamente, através de pericárdio porcino e liga metálica gerando um material que é capaz de contrair e expandir sem que haja deformações. A válvula passa por uma série de reduções microbianas e sai estéril da empresa dentro de uma embalagem e em uma solução que assegura sua esterilidade. Tem-se variações nos tamanhos da válvula como P, M e G e futuramente uma “GG”. Além disso, o procedimento das válvulas NEO 2 (nome da principal válvula fabricada) é denominado TAVI (implante trans cateter de válvula aórtica) um procedimento cirúrgico menos invasivo e que permite ao paciente uma recuperação mais fácil. Além do produto desenvolvido pela planta localizada no Brasil (Válvula cardíaca), a empresa também dispõe de vários outros produtos (cerca de 17 mil), que somam um total de 30 milhões de pacientes tratados por estes todos anos. [1]

O laboratório em que são realizadas as práticas, é um laboratório de controle de qualidade química e microbiológica, que têm como objetivo assegurar a qualidade dos produtos, amostras e soluções utilizadas no processo de produção da válvula aórtica. A equipe de profissionais do laboratório é organizada na seguinte estrutura hierárquica:

- Supervisor
- Analistas
- Técnicos
- Estagiários

O laboratório em questão é um laboratório de controle de qualidade, que trata as amostras enviadas à ele, com o objetivo principal de assegurar a qualidade das amostras, soluções e produtos gerados por uma linha produtiva.[2]. Além do controle de qualidade das soluções, amostras de processo, e produto final, o laboratório da Boston Scientific também é responsável pelo controle da documentação gerada durante a realização dos testes, a implementação de mudanças em documentos vigentes, e a proposição e elaboração de novos documentos. As atividades relacionadas a gestão do laboratório, dos técnicos e das suas atividades, são realizadas pelo Supervisor do laboratório. As relacionadas a documentação,

são realizadas pelos analistas e estagiários do ensino superior. Já as atividades de bancada são realizadas pelos técnicos, estagiários do ensino técnico e estagiários do ensino superior.

O laboratório é subdividido em 3 partes, são elas o laboratório de analítica, o laboratório de microbiologia, e o de físico-químico, situados no mesmo lugar, mas com atividades distintas e com objetivos diferentes. O laboratório de analítica tem como base a quantificação de substâncias presentes nas soluções de processo e as que condicionam o produto, nele, são utilizados equipamentos e vidrarias para que sejam realizados esses testes de quantificação e liberação dos resultados. O laboratório de microbiologia, tem como objetivo a testagem das amostras, soluções e produtos gerados durante o processo produtivo, a realização dos testes é feita com base nos procedimentos do laboratório a fim de gerar um controle da análise de tendência dos resultados gerados. Já o laboratório físico-químico, realiza apenas 1 teste, utilizando um equipamento capaz de quantificar a temperatura de encolhimento do pericárdio porcino, a fim de assegurar a qualidade do tecido que será utilizado durante o processo produtivo.

2. OBJETIVOS

O trabalho em questão, tem como objetivos principais, relatar as atividades realizadas no laboratório, relacionando-as aos conhecimentos teóricos adquiridos durante a formação no curso de Química tecnológica do CEFET-MG.

3. REVISÃO BIBLOGRÁFICA

Como citado na seção sobre “Atividades realizadas”, todo o método utilizado tem seu embasamento teórico, que será apresentado nessa seção, de forma detalhada, com os devidos referenciais teóricos.

3.1 Métodos Analíticos:

A curva de calibração é uma ferramenta fundamental na análise química, utilizada para relacionar a resposta analítica de um método instrumental com a concentração de um analito na amostra. Ela é construída por meio da medida da resposta analítica em diferentes concentrações conhecidas do analito, geralmente utilizando-se padrões externos. A construção da curva de calibração envolve a obtenção de uma série de pontos experimentais, nos quais a resposta analítica, como a absorvância, altura ou área do pico, é registrada em função da concentração conhecida do analito. Idealmente, são utilizadas três ou mais soluções-padrão em diferentes concentrações para garantir uma curva mais precisa e confiável. A curva de calibração é geralmente representada graficamente, plotando-se a resposta analítica no eixo vertical e a concentração do analito no eixo horizontal. Em casos em que a relação entre a resposta analítica e a concentração é linear, espera-se que os pontos experimentais se aproximem de uma linha reta. No entanto, devido a erros experimentais e outras fontes de variação, é comum que os pontos não se ajustem perfeitamente a uma linha reta, apresentando desvios ou dispersão ao redor da curva ideal. Para obter a melhor representação da relação entre a resposta analítica e a concentração, utiliza-se o método dos mínimos quadrados. Esse método permite encontrar a linha reta que minimiza a soma dos quadrados dos desvios entre os pontos experimentais e a curva de calibração. A partir dessa análise, é possível determinar a inclinação (m) e o intercepto (b) da reta, que representam a relação matemática entre a resposta analítica (y) e a concentração do analito (x) de acordo com a equação: $y = mx + b$. Além disso, a curva de calibração fornece informações importantes sobre a precisão e a exatidão do método analítico. O desvio padrão da regressão (s_r) é um parâmetro utilizado para avaliar a qualidade da curva de calibração e indica a dispersão dos pontos em relação à linha de melhor ajuste. Quanto menor o desvio padrão, mais precisa é a curva de calibração. Por meio da curva de calibração, é possível realizar a previsão da concentração desconhecida do analito em uma amostra, utilizando-se a resposta analítica obtida para essa amostra e a equação da curva de calibração. Essa técnica é conhecida como método de calibração externa. A partir da concentração prevista, é possível calcular a concentração do analito na amostra original, levando em consideração os fatores de diluição e as etapas de preparação da amostra. [3]

Para a realização desta metodologia, utiliza-se no laboratório da Boston Scientific os equipamentos de cromatografia Gasosa (Agilent Model 7890B) e Uv-Visível (Perkin Elmer Model Lambda 365).

O equipamento de UV-visível é uma ferramenta essencial na análise quantitativa de substâncias químicas. Ele baseia-se na capacidade de certas substâncias absorverem radiação eletromagnética na região do espectro ultravioleta e visível. O aparelho consiste em uma fonte de luz de amplo espectro, geralmente uma lâmpada de deutério para a faixa do ultravioleta e uma lâmpada de tungstênio para a faixa visível. A luz emitida passa por um monocromador, que seleciona uma faixa de comprimento de onda específica. Em seguida, a luz é direcionada para uma cubeta de amostra contendo a substância a ser analisada. A cubeta é feita de material transparente à radiação, como quartzo ou vidro de sílica, para permitir a passagem da luz. A absorção da radiação ocorre quando a luz passa através da amostra e a quantidade de luz absorvida é medida por um detector. O detector converte a luz transmitida em um sinal elétrico proporcional à intensidade da luz. Com base no princípio de Beer-Lambert, que estabelece uma relação entre a absorção da luz pela amostra e a concentração da substância, é possível determinar a concentração da substância em estudo. [3]

Os métodos colorimétricos são técnicas analíticas amplamente utilizadas na determinação quantitativa de substâncias em solução. Esses métodos são baseados na medição da absorção ou transmissão de luz por uma substância em função de sua concentração. A colorimetria é particularmente útil para a análise de espécies químicas que possuem propriedades de absorção de luz em uma determinada faixa de comprimento de onda. No método colorimétrico, uma solução contendo o analito é preparada e uma reação química específica pode ser realizada para produzir um produto com cor ou uma espécie que absorve luz em uma determinada faixa de comprimento de onda. Em seguida, a solução é colocada em um espectrofotômetro, que consiste em uma fonte de luz, um sistema óptico e um detector. A amostra é exposta à luz de um comprimento de onda específico e a quantidade de luz transmitida ou absorvida pela solução é medida pelo detector. A absorbância da luz pela solução é proporcional à concentração do analito presente. Portanto, é possível construir uma curva de calibração usando padrões de concentração conhecida do analito, estabelecendo uma relação entre a absorbância e a concentração. Com base nessa curva, é possível determinar a concentração desconhecida de uma amostra através da medição de sua absorbância. Os métodos colorimétricos têm diversas aplicações em diferentes áreas da química, biologia e ciências ambientais. Eles são utilizados para determinar a concentração de uma ampla variedade de analitos, como íons metálicos, compostos orgânicos, compostos inorgânicos e biomoléculas. Além disso, os métodos colorimétricos são frequentemente empregados em análises clínicas, monitoramento de qualidade da água, controle de qualidade de alimentos,

análise farmacêutica, entre outras aplicações. É importante ressaltar que os métodos colorimétricos exigem que a reação entre o analito e o reagente seja específica e seletiva, evitando interferências de outras espécies presentes na amostra. Além disso, é necessário utilizar comprimentos de onda de luz adequados para a faixa de absorção da espécie de interesse.[3]

O equipamento cromatógrafo gasoso (GC - Gas Chromatograph) é uma poderosa ferramenta analítica utilizada na separação e análise de compostos voláteis presentes em uma amostra. Ele se baseia no princípio da cromatografia, que envolve a distribuição diferencial dos componentes de uma mistura entre uma fase estacionária e uma fase móvel. O GC é composto por três componentes principais: um injetor, uma coluna cromatográfica e um detector. No injetor, a amostra é introduzida na forma gasosa através de uma seringa. Em seguida, a amostra é vaporizada e injetada na coluna cromatográfica, onde ocorrerá a separação dos componentes. A coluna cromatográfica é constituída por um tubo longo e fino, revestido internamente por uma fase estacionária, que pode ser líquida ou sólida. A fase móvel, geralmente um gás inerte como o nitrogênio ou o hélio, flui através da coluna, arrastando os componentes da amostra. À medida que os componentes interagem com a fase estacionária, eles são separados com base em suas diferentes afinidades e interações químicas. Após a separação na coluna, os componentes são detectados por um detector específico, como um detector de ionização em chama (FID - Flame Ionization Detector) ou um detector de captura de elétrons (ECD - Electron Capture Detector). O detector converte os componentes separados em sinais elétricos que são registrados e interpretados por um sistema computadorizado. Ele permite a análise precisa de compostos orgânicos voláteis, como hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, ácidos orgânicos, entre outros. Além disso, o GC oferece alta sensibilidade, seletividade e eficiência na separação dos componentes, tornando-se uma ferramenta essencial para a caracterização e quantificação de substâncias em diferentes matrizes. [3]

A titulação potenciométrica é um método analítico amplamente utilizado na determinação quantitativa de substâncias em solução. Ela se baseia na medição do potencial elétrico gerado por uma reação química que ocorre entre o analito e um titulante. Essa técnica é particularmente útil para determinar a concentração de espécies químicas que podem sofrer reações redox ou de complexação. No método de titulação potenciométrica, um eletrodo indicador é utilizado para medir o potencial elétrico da solução durante a titulação. O eletrodo mais comumente utilizado é o eletrodo de vidro, que consiste em um bulbo de vidro preenchido com uma solução interna de pH constante. Esse eletrodo é sensível às variações de pH da solução e gera um sinal elétrico proporcional à concentração de íons H^+ presentes.

Durante a titulação, o titulante é adicionado gradualmente à solução contendo o analito, e o potencial elétrico é registrado continuamente. A medida do potencial é feita em relação a um eletrodo de referência, geralmente o eletrodo de calomelano ou o eletrodo de prata/cloreto de prata. A partir das mudanças no potencial elétrico registradas durante a titulação, é possível determinar o ponto de equivalência, onde a quantidade estequiométrica do analito foi reagida com o titulante. A titulação potenciométrica oferece várias vantagens em relação a outros métodos de titulação. Ela é altamente precisa, permitindo a determinação precisa de concentrações desconhecidas. Além disso, a titulação potenciométrica é adequada para uma ampla gama de aplicações, desde análises simples até determinações complexas de múltiplas espécies em uma única amostra. No entanto, a titulação potenciométrica também apresenta algumas limitações. É importante que as condições de medição, como a temperatura e a agitação da solução, sejam controladas de forma rigorosa para obter resultados confiáveis. Além disso, certos interferentes químicos ou eletroquímicos podem afetar as leituras do potencial elétrico, exigindo técnicas adicionais, como a adição de agentes complexantes ou a realização de titulações em meio não aquoso. [3]

3.2 Métodos Microbiológicos

Método Pour Plate:

O método Pour Plate é uma técnica utilizada para isolar e contar microrganismos em uma amostra. O procedimento envolve a adição de uma quantidade conhecida de uma diluição da amostra a um meio de cultura estéril derretido. A mistura é então despejada em uma placa de Petri estéril e o meio é deixado solidificar. Os microrganismos presentes na amostra são distribuídos de maneira uniforme dentro do meio de cultura durante o processo de solidificação. As colônias bacterianas crescem tanto na superfície quanto dentro do meio de cultura. Esse método é particularmente útil quando a amostra contém uma densidade de microrganismos relativamente alta, pois diluições seriadas podem ser preparadas e utilizadas para garantir que as colônias sejam contáveis em uma única placa. Após o crescimento bacteriano, as colônias são contadas e o número de microrganismos na amostra original pode ser estimado.[4]

Método Spread Plate:

O método Spread Plate é semelhante ao método Pour Plate, mas a principal diferença reside na maneira como a amostra é distribuída no meio de cultura. Nesse método, uma pequena quantidade da amostra é colocada na superfície do meio de cultura sólido previamente

solidificado em uma placa de Petri estéril. Em seguida, uma alça de inoculação estéril é usada para espalhar a amostra de maneira uniforme na superfície do meio. O método Spread Plate é útil quando a amostra contém uma densidade relativamente baixa de microrganismos, pois a técnica permite uma melhor dispersão dos microrganismos na superfície do meio de cultura, facilitando a contagem de colônias individuais. Após o crescimento bacteriano, as colônias são contadas e o número de microrganismos na amostra original pode ser estimado.

Ambas as técnicas são amplamente utilizadas em microbiologia para análise quantitativa de microrganismos em amostras. A escolha entre o método Pour Plate e o método Spread Plate depende da densidade esperada de microrganismos na amostra e da finalidade do estudo.[4]

Teste de esterilidade:

O teste de esterilidade é um procedimento fundamental realizado em laboratórios microbiológicos e indústrias farmacêuticas para verificar se um determinado produto ou ambiente está livre de microrganismos viáveis. Esse teste é especialmente importante em produtos farmacêuticos, cosméticos, alimentos estéreis, dispositivos médicos e outros materiais que precisam ser estéreis para garantir a segurança e eficácia. O teste de esterilidade é realizado seguindo diretrizes e regulamentações específicas, como as estabelecidas pelas farmacopeias e órgãos reguladores. Geralmente, o teste é realizado por meio de uma abordagem asséptica rigorosa, onde o produto é transferido para um meio de cultura estéril, que oferece condições favoráveis ao crescimento microbiano. O meio de cultura pode ser líquido ou sólido, dependendo do tipo de produto sendo testado. Após a transferência do produto para o meio de cultura, as amostras são incubadas em condições controladas de temperatura e tempo adequados para permitir o crescimento de microrganismos presentes, caso haja contaminação. Após o período de incubação, as amostras são avaliadas quanto à presença de crescimento microbiano visível, indicando a contaminação. É importante ressaltar que o teste de esterilidade requer amostragem representativa do produto, considerando diferentes áreas, lotes ou unidades. Além disso, técnicas de enriquecimento podem ser aplicadas para aumentar a sensibilidade do teste, permitindo a detecção de um número menor de microrganismos presentes. Os resultados do teste de esterilidade são interpretados com base em critérios estabelecidos, que variam de acordo com o tipo de produto e sua finalidade. A ausência de crescimento microbiano após o período de incubação é indicativa de que o produto está estéril e em conformidade com os requisitos estabelecidos. Em casos de contaminação detectada, é necessário investigar a causa da contaminação, identificar os microrganismos presentes e implementar medidas corretivas para evitar futuras contaminações. A contaminação em produtos estéreis pode representar riscos à saúde dos

consumidores ou pacientes, portanto, é essencial garantir a eficácia dos processos de esterilização e realizar testes de esterilidade regularmente. [5]

3.3 Métodos Físico-Químicos:

A calorimetria de varredura diferencial (DSC) é uma técnica amplamente utilizada para caracterizar a estabilidade de biomoléculas, como proteínas, em sua forma nativa. A DSC mede a alteração de calor associada à desnaturação térmica da molécula quando aquecida a uma taxa constante. Isso permite determinar a entalpia de desdobramento (ΔH) e a alteração na capacidade de calor (ΔC_p) durante o processo de desnaturação. A DSC fornece informações valiosas sobre fatores que contribuem para o dobramento e a estabilidade de biomoléculas nativas, incluindo interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, entropia conformacional e ambiente físico. Os dados precisos e de alta qualidade obtidos pela DSC são essenciais no desenvolvimento de processos e na formulação de candidatos terapêuticos. O princípio de medição da DSC envolve o uso de células de referência e de amostra, aquecidas a uma taxa constante. A absorção de calor ocorre durante a desnaturação da proteína, resultando em um gradiente térmico entre as células. Esse gradiente é controlado por unidades Peltier para retornar à temperatura inicial. A análise dos dados permite obter informações termodinâmicas, como a entalpia de desdobramento, energia livre de Gibbs, entalpia calorimétrica, entalpia de van't Hoff, entropia e mudança de capacidade de calor associada à transição. A DSC possui diversas aplicações importantes, incluindo a caracterização e seleção de proteínas estáveis em desenvolvimento bioterapêutico, estudos de interação de ligantes, otimização de purificação e condições de fabricação, determinação de condições ideais para formulações líquidas e análise de estabilidade de proteínas-alvo. [6]

4. ATIVIDADES REALIZADAS

4.1 Laboratório de Analítica

No laboratório de analítica, são realizados testes nos equipamentos de UV-visível e Cromatógrafo gasoso. Além destes testes, também é realizado o teste de titulação potenciométrica, com o auxílio de vidrarias e pHmetro. Para a realização destes testes, é necessário a calibração prévia de todos os equipamentos utilizados nos testes, estas calibrações são realizadas diariamente conforme necessário, ou anualmente, para equipamentos e vidrarias. Além das calibrações, também são realizadas as verificações de balanças e pipetas, que são utilizadas diariamente no laboratório.

Os testes realizados no UV-visível são os testes de determinação da concentração de glutaraldeído e formaldeído, esses testes utilizam de propriedades químicas destes compostos, para a geração de um cromófilo, que é posteriormente lido no equipamento de absorvância. No cromatógrafo, é realizado apenas 1 teste, o de determinação da concentração de etanol em uma solução utilizada no processo produtivo. Já a titulação potenciométrica é realizada para determinar a concentração de glutaraldeído em uma solução utilizada também em processo, essa solução tem de ser testada pelo método de titulação, pois a mesma contém interferentes que inviabilizam a geração do cromófilo, fazendo com que não seja possível a quantificação deste composto via UV-visível.

UV-visível

O teste de UV-Visível é separado em 3 tipos diferentes, são eles o método rápido, o método lento e o método de formaldeído.

O método rápido é utilizado para a determinação da concentração de glutaraldeído em soluções utilizadas no processo que não necessitam retornar ao laboratório após a sua liberação, essa solução é testada da seguinte forma:

É preparada uma curva de calibração de 3 pontos, utilizando um padrão de glutaraldeído de concentração conhecida, após a preparação desta curva de calibração, é realizada a leitura da curva de calibração, após a leitura da curva, e realizada então a leitura da amostra. Todas as leituras são feitas em triplicata, os resultados de absorvância são lançados em uma planilha validada, que calcula a média das leituras, os resultados de concentração obtidos, além do coeficiente de linearidade da curva, e os critérios de aceitação do teste, bem como o próprio coeficiente de correlação da curva, porcentagem

de desvio das leituras da amostra e dos pontos da curva de calibração, e a porcentagem de desvio da leitura do “check”, que é a leitura dupla do ponto médio da curva de calibração, realizado para assegurar que as leituras estão corretas, e o teste é válido.

O método lento, é o método onde há a geração de um cromófilo, por meio de uma série de reações realizadas, que ao final, fazem com que seja possível a quantificação do analito em questão, que é o glutaraldeído. Esse teste, é necessário ser realizado como alternativa ao método rápido, pois o método rápido é feito para soluções que foram feitas em períodos menores, como em até 3 dias, ou seja, se a solução de glutaraldeído foi feita em até 3 dias, pode-se utilizar o método rápido para a quantificação, mas se caso a solução já foi feita a mais de 13 dias, faz-se necessário a utilização do método lento, e este método é realizado da seguinte forma:

È feita uma curva de calibração de 6 pontos utilizando um padrão de glutaraldeído de concentração conhecida, após a preparação da curva de calibração, é realizada então a diluição das amostras. Após a preparação da curva de calibração, e a preparação das amostras, há então a pipetagem de todas as soluções feitas, para um tubo de 10mL, nesse tubo são pipetados 1mL de cada solução, após essa pipetagem, é pipetado então 4 mL do primeiro reagente, esses tubos são aquecidos, resfriados e é então pipetado mais 5 mL do outro reagente, responsável pela coloração das soluções. Após todo esse processo, é realizada a leitura utilizando o UV-Visível, nesse caso, a leitura é realizada apenas 1 vez, não necessitando da leitura em triplicata, os resultados de absorbância são lançados em uma planilha validada, que calcula a média das leituras, os resultados de concentração obtidos, além do coeficiente de linearidade da curva, e os critérios de aceitação do teste, bem como o próprio coeficiente de correlação da curva, porcentagem de desvio das leituras da amostra e dos pontos da curva de calibração, e a porcentagem de desvio da leitura do “check”, que é a leitura dupla do ponto médio da curva de calibração, realizado para assegurar que as leituras estão corretas, e o teste é válido.

O método de formaldeído, é semelhante ao método lento, os dois reagentes que proporcionam a coloração das amostras são os mesmos. No método de formaldeído, inicialmente são preparados a curva de calibração de 3 pontos, por meio da diluição de um padrão de formaldeído de concentração conhecida. Após essa diluição, é realizada a primeira diluição da amostra de solução de formaldeído para teste, essa diluição é realizada em triplicata, após essa diluição, é feita então a diluição de cada uma das replicatas realizadas. Após essa segunda diluição das amostras, Após a preparação da curva de calibração, e a preparação das amostras, há então a pipetagem de todas as soluções feitas, para um tubo de 10mL, nesse tubo são pipetados 1mL de cada solução,

após essa pipetagem, é pipetado então 4 mL do primeiro reagente, esses tubos são aquecidos, resfriados e é então pipetado mais 5 mL do outro reagente, responsável pela coloração das soluções. Após todo esse processo, é realizada a leitura utilizando o UV-Visível, nesse caso, a leitura é realizada apenas 1 vez, não necessitando da leitura em triplicata, os resultados de absorbância são lançados em uma planilha validada, que calcula os resultados de concentração obtidos, além do coeficiente de linearidade da curva, e os critérios de aceitação do teste, bem como o próprio coeficiente de correlação da curva, e a porcentagem de desvio da leitura do “check”, que é a leitura do ponto médio da curva de calibração, realizado para assegurar que as leituras estão corretas, e o teste é válido.

Cromatografia

O método utilizado de cromatografia, é um método de quantificação de etanol utilizando um cromatógrafo gasoso, acomplado ao headspace (equipamento que serve como um autosampler). Neste método, é realizada a preparação de uma curva de calibração, utilizando etanol P.A, essa curva é preparada em 3 pontos com diferentes concentrações. Após a preparação da curva de calibração, é então realizada a diluição da amostra de produção, essa diluição é realizada em triplicata. Após a preparação da curva de calibração, e das amostras, elas então são pipetadas diretamente nos vials do equipamento headspace, todos os parâmetros de teste são configurados pelo software do equipamento. O teste é então realizado, e após a realização é disponibilizado as áreas de cada pico gerado. As leituras são realizadas apenas 1 vez de cada amostra. Os resultados de área são lançados em uma planilha validada, que calcula os resultados de concentração obtidos, além do coeficiente de linearidade da curva, e os critérios de aceitação do teste, bem como o próprio coeficiente de correlação da curva, porcentagem de desvio das leituras da amostra e a porcentagem de desvio da leitura do “check”, que é a leitura do ponto médio da curva de calibração, realizado para assegurar que as leituras estão corretas, e o teste é válido.

Titulação Potenciométrica

O método de titulação potenciométrica é utilizado para a quantificação também de glutaraldeído em soluções de processo. Mas para a solução em questão, não há a possibilidade de utilizar algum dos métodos citados anteriormente (rápido ou lento) pois a solução de processo em questão apresenta um interferente em sua composição, que inviabiliza a utilização de um desses métodos para a quantificação do analito. Para o método de titulação potenciométrica, é utilizado uma bureta, um pHmetro calibrado, um béquer e um agitador magnético. Para a realização deste método, deve-se preparar uma

solução com concentração conhecida de ácido clorídrico e cloreto de sódio. Deve-se transferir um volume da solução de cloreto de sódio para um béquer, após essa transferência, deve-se pipetar a amostra contendo o analito juntamente a esse béquer contendo a solução de cloreto de sódio. Finalmente, deve-se utilizar uma solução com concentração conhecida de ácido clorídrico para realizar a titulação potenciométrica do analito, com o auxílio de um pHmetro previamente calibrado. A titulação é finalizada quando uma faixa de pH é alcançada. Após o fim da titulação, os dados são preenchidos em um formulário interno, e é realizado os cálculos de concentração do analito na solução testada.

Equipamentos e Vidrarias

Todos os equipamentos e vidrarias do laboratório passam por calibrações externas anualmente, e diariamente são realizadas verificações, para certificar o pleno funcionamento de cada um deles. São realizadas as verificações nos seguintes equipamentos: Balança analítica e pipetas eletrônicas. E as verificações são realizadas da seguinte forma:

Balança Analítica

Para a verificação da balança analítica, é utilizado um kit de pesos padrão, que é calibrado anualmente, com isso, é realizada a pesagem de 6 diferentes massas, essas massas são registradas em um formulário interno, com suas devidas especificações de aceitação.

Pipetas Eletrônicas

Para a verificação das pipetas eletrônicas, são realizadas a pesagem de 3 diferentes volumes, utilizando água de alta pureza, essas pesagens são realizadas em 5 replicatas, os pesos são impressos diretamente do software da balança, os pesos são então registrados em uma planilha validada, onde são calculados valores como a média, desvio padrão, etc, que certifica que a pipeta está apta para a utilização naquele dia.

4.2 Laboratório de Microbiologia

No laboratório de microbiologia, são realizados em suma 3 diferentes tipos de teste, os testes considerados como spread plate, os considerados como pour plate, e o teste de esterilidade. Esses 3 testes, são utilizados para verificar a presença ou ausência de

fungos, bactérias ou outros microorganismos que podem estar presentes nas amostras de processo e produto final, como forma de controle de qualidade de ambos. Além disso, há a realização de outras atividades, como a de leitura de resultados, descontaminação de materiais, promoção de crescimento e adequação de meios de cultura.

Método spread plate

Nessa metodologia, são realizadas as análises das amostras de tecido enviadas ao laboratório, para esta análise, é utilizado um fluido que inativa o analito que está presente nas soluções de processo, esse fluido é utilizado para a realização das diluições. Para esse método, é realizado primeiramente o preparo da cabine de segurança biológica, colocando todos os insumos necessários para a realização do teste, como pinças estéreis, béqueres estéreis, pipetadores, pipetas graduadas, tubos de ensaio estéreis, entre outros. Após a entrada com todos esses insumos, é então iniciado o teste, para isso, é realizada uma diluição seriada até 10^5 do extrato retirado dessa amostra de tecido, essa diluição é feita utilizando o fluido diluente, e o extrato da amostra de teste, após a realização de todas as diluições, é então realizada a pipetagem de cada uma das diluições em duas placas, uma contendo um meio de cultura seletivo para fungos (Ágar Sabouraud) e um meio não seletivo (Ágar Tryptic Soy). Essa pipetagem é realizada em duplicata para cada um dos meios utilizados, para garantia de que o crescimento de uma placa possa ser comparado com o da outra. Após essa pipetagem, com o auxílio da alça de drigalski, é realizado o espalhamento da solução pipetada na superfície do meio de cultura, e logo após esse espalhamento, as placas são deixadas abertas na cabine de segurança biológica, para a secagem do líquido na superfície do meio de cultura. Todas as placas de meio de cultura utilizadas nesta metodologia, são compradas externamente, não necessitando então seu preparo previamente.

Método pour plate

Nessa metodologia, são testadas as amostras de solução, que são utilizadas durante o processo produtivo. Para a realização desse teste, são utilizados, os equipamentos e insumos de teste. Primeiramente, como no teste spread plate, é realizada a preparação da cabine, colocando todos os insumos de teste dentro da CSB (Cabine de Segurança Biológica). Após a preparação da cabine, o teste é realizado pela diluição da amostra de processo até 10^3 , essa diluição é realizada, assim como no teste anterior, com o auxílio de pipetas graduadas estéreis, fluido de diluição (o mesmo utilizado anteriormente), e tubos de ensaio estéreis. Após a realização dessa diluição, é pipetado então 1mL dessa solução preparada em 4 placas petri diferentes e após essa pipetagem, em 2 delas é vertido o meio previamente preparado seletivo para fungos e nas outras 2 o

meio não seletivo, esse processo é realizado para todas as diluições preparadas e após todo o processo de diluição e plaqueamento, as placas são deixadas na cabine de segurança biológica fechadas, para o endurecimento dos meios de cultura.

Para ambos os testes, é pipetada uma placa de controle negativo para cada um dos meios utilizados, e estas placas, juntamente com as placas de teste, são incubadas em 2 incubadoras distintas, uma para fungos (para os meios seletivos), e uma para o meio não seletivo (Fungos e bactérias), a para fungo é incubada entre 20-25°C, já a de bactérias são incubadas de 30-35°C. O processo de incubação tem uma duração de 5 dias para todas elas, e ao final do processo de incubação é realizada a leitura das placas, os resultados de leitura são registrados no formulário devido, e o cálculo é realizado manualmente.

Método de teste de esterilidade

O teste de esterilidade é realizado em uma sala a parte do laboratório, essa sala é presente na área limpa da empresa, isso se deve ao fato de que esse teste deve ser realizado com o máximo de cuidado, para que haja a mínima chance de contaminação desse teste, pois resultaria na invalidação de um lote inteiro de produtos. Para esse teste, é utilizada a cabine de segurança biológica, assim como nos testes pour plate e spread plate, mas diferentemente desses supracitados, é utilizado um equipamento de nome steritest pump, da merck, e todos os insumos utilizados, da mesma marca, são próprios para esse equipamento, e para a realização desse teste. Inicialmente, assim como nos testes anteriores, deve-se entrar com todos os insumos dentro da CSB, após a limpeza dos insumos e amostra com solução sanitizante preparada internamente por outros setores da empresa. O teste então se baseia na testagem do produto final, e da solução que acomoda o produto final. Para o teste de esterilidade do produto final, o produto é inserido assepticamente utilizando uma pinça esteril em um frasco contendo um meio de cultura líquido preparado internamente e devidamente esterilizado. Após essa parte, é então realizado o teste de esterilidade da solução, onde com o auxílio dos utensílios, soluções e insumos do steritest, há primeiro a passagem do fluido de rinsagem no filtro, para que o filtro seja devimamente umidecido, após isso, há a passagem da solução que acomoda o produto final, e após a passagem a solução, o filtro é lavado 3 vezes com o fluido de rinsagem, para retirar qualquer resto de solução sanitizante que pode ter ficado no filtro, e após essa rinsagem, os dois filtros são preenchidos com o meio de cultura do steritest. Após todo esse processo, os meios são então incubados em uma incubadora de 30-35°C por 14 dias, e durante o processo de incuação, deve-se realizar a leitura intermediária para acompanhar se houve o crescimento microbiano.

Leitura de resultados

A leitura de resultados é realizada dependendo do período de incubação de cada um dos testes propostos, supracitados, a leitura é realizada nas duplicatas, e após a leitura, os resultados são registrados em formulário interno, a média das leituras é então feita, e o resultado final é baseado nas leituras de melhor resolução, que apresentarem menor variação entre os crescimentos. Após a leitura das placas petri, elas são armazenadas em sacos plasticos autoclaváveis, e dentro de um refrigerador, para posterior descontaminação.

Descontaminação de materiais

A descontaminação dos materiais é realizada utilizando uma autoclave vertical, as placas petri juntas em sacos, da etapa de leitura, são inseridas dentro de baldes e colocadas dentro da autoclave vertical, o processo de descontaminação tem uma duração fixa de 30 minutos após a chegada na temperatura de descontaminação. Após a descontaminação realizada, o líquido gerado pelo processo é descartado diretamente na pia, e o resíduo sólido é jogado em lixeiras comuns, pois não há mais a presença de contaminantes.

Esterilização de instrumentos

Para a esterilização de instrumentos utilizados no processo, os mesmos são lavados no laboratório, com o auxílio de sabão neutro, secos em estufa de secagem, e preparados, utilizando papeis grau cirurgico, ou papel crepado, dependendo de sua utilização. Após a preparação destes insumos, os mesmos são destinados ao setor de esterilização de materiais.

Teste de promoção de crescimento

No teste de promoção de crescimento, é realizada a verificação dos meios de cultura, certificando que os mesmos estão de acordo para a utilização, e que os mesmos também estão apresentando crescimento na presença dos microorganismos. Esse teste é realizado para garantir que os meios de cultura que serão utilizados no laboratório estão aptos para o crescimento microbiológico, evitando assim a utilização de meios de cultura que mesmo na presença dos microorganismos não apresentem o crescimento. Para a realização desse teste, é necessária a utilização de cepas contendo microorganismos conhecidos, em concentrações conhecidas. Primeiramente as cabines de segurança

biológica são previamente preparadas, com os meios e insumos a serem utilizados. É então realizada a etapa de ativação destas cepas, onde a pilula do microorganismo é inserida em uma água de alta pureza (ambos já presentes no kit) e solubilizadas com o auxílio de um equipamento vortex. Após essa ativação das cepas, são então pipetados 1 mL dessa solução em cada uma dos lotes de meio de cultura a serem testados, seguidos de espalhamento dessa solução com o auxílio da alça de drigalski. Após a realização do teste, esses meios de cultura são incubados por 3 dias de 30-35°C e por 5 dias de 20-25°C, seguido da leitura e descontaminação.

Adequação do meio de cultura

Na adequação do meio de cultura, é certificado a esterilidade do meio, para a verificação que o meio realmente apresenta a ausência de contaminação prévia, o que faria os resultados gerados pelo laboratório estarem errados, podendo gerar resultados falso-positivos. O teste consiste somente na incubação desses meios de cultura de 3 a 5 dias na incubadora de 30-35°C seguidos de 5 a 7 dias na incubadora de 20-25°C. Após essa incubação, é realizada a leitura, se o lote apresentar crescimento o mesmo deve ser rejeitado para uso interno, e devolvido ao fornecedor.

Limpeza das cabines

Como dito em todos os procedimentos de teste, há a prévia preparação das cabines de segurança biológica, para isso, diariamente deve-se realizar a limpeza das cabines conforme procedimento. Esse procedimento é descrito pela limpeza da cabine com solução sanitizante, todo dia ao ser ligada, após essa limpeza com solução, há a ligação da luz UV, que incide sobre a cabine por 20 minutos. Após esse procedimento o uso da cabine será liberado.

Há também a limpeza semanal, que é realizada todo primeiro dia da semana. A limpeza é realizada com a passagem de uma solução sanitizante mais forte, produzida internamente, a marcação de 20 minutos, para que essa solução possa agir sobre a superfície. Após os 20 minutos, é realizada a retirada dessa solução com o auxílio de água de alta pureza, há a passagem da segunda solução sanitizante (utilizada na limpeza diária), e por fim o procedimento com luz UV (idêntico ao da limpeza diária).

4.3 Laboratório de físico-química

No laboratório de físico-química é realizado apenas 1 teste, o chamado teste de encolhimento, esse teste tem como objetivo a determinação da temperatura em que o tecido utilizado no processo perde suas propriedades (desnaturação das proteínas). Para esse teste, é utilizado um calorímetro denominado DSC (differential scanning

calorimeter), nele são colocadas a amostra e o branco (recipiente vazio), para que o teste possa ser realizado. A amostra é preparada colocando no recipiente um pequeno pedaço do tecido previamente curtido, após essa inserção do tecido, o recipiente é pesado em balança previamente calibrada e verificada, e por fim esse recipiente é colocado no DSC, para início da leitura. Os dados do lote da amostra, peso e configurações do teste são selecionados dentro do software do equipamento, e o teste é iniciado. O teste tem duração de 20 minutos, e é totalmente realizado pelo equipamento. Após a realização do teste, é gerado um gráfico, que é tratado estatisticamente para a determinação da temperatura de encolhimento do tecido. Essa temperatura é então registrada no formulário interno, e o teste devidamente liberado.

Para este equipamento, também é realizada a verificação semanal, com isso, utiliza-se um metal com temperatura de fusão conhecida (e presente no certificado de análise do fornecedor), onde o preparo da amostra é idêntico ao preparo supracitado. Após o preparo, os dados da amostra e configuração do equipamento são realizados pelo software do equipamento, que realiza o teste automaticamente. Após a realização do teste, a temperatura encontrada é comparada com a temperatura fornecida pelo certificado de análise, e após essa comparação, caso dentro dos parâmetros, é registrado no documento interno, e o equipamento liberado para utilização.

5. RESULTADOS

Durante o período de estágio realizados, a partir do início da matéria de estágio curricular obrigatório (09/03/2023) até a data atual (19/06/2023), nos testes microbiológicos, houveram 2 resultados fora de especificação no método de spread plate, já no método pour plate, houveram 3 resultados que atingiram os limites de alerta e nenhum resultado fora de especificação. Quanto ao teste de esterilidade do produto, não houveram nenhum resultado fora de especificação, nenhum limite de alerta ou ação. No laboratório de analítica, não houve nenhum resultado fora de especificação no período analisado, considerando todas as amostras enviadas ao laboratório. E no laboratório de físico-química, também não foi realizada nenhum teste que apresentou resultado fora de especificação. Demonstrando que o processo produtivo, e o produto que é produzido pela empresa, se apresenta em total conformidade com as legislações e parâmetros exigidos pelas agências de controle.

6. CONCLUSÃO

Ao final deste trabalho, pode-se concluir então, que o estágio realizado na empresa Boston Scientific proporcionou ampla vivência na área laboratorial, podendo aplicar os conhecimentos adquiridos durante todo o curso de Química Tecnológica realizado no CEFET-MG. Eu também pude ter contato com alguns equipamentos, metodologias e softwares que não foram disponibilizados para realização de práticas nas disciplinas lecionadas pela instituição e estão sendo amplamente utilizados atualmente no ramo laboratorial. Além disso, houve também a familiarização com o dia a dia de um laboratório, tendo contato com as hierarquias, os processos, e as demandas do mercado de trabalho.

Com isso, conclui-se que o estágio realizado proporcionou a mim adquirir vivência e experiência, também me desafiou, para que houvesse o crescimento no âmbito pessoal, como o trabalho em equipe, a dedicação, a pontualidade, a boa comunicação, entre outras soft skills que são importantes para o mercado de trabalho atual.

Referências

- [1] – BOSTON SCIENTIFIC ,Disponível em: < <https://www.bostonscientific.com/pt-BR/home.html>> Acesso em 23. Mai. 2023
- [2] – LAB SYS, 2020, Disponível em: <https://labsysweb.com.br/blog/569/o_que_e_controle_de_qualidade_laboratorial#:~:text=CQ%20ou%20Controle%20de%20Qualidade%20laboratorial%20%C3%A9%20um,proporcionar%20maior%20confiabilidade%20que%20%C3%A9%20transmitida%20aos%20pacientes.> Acesso em 23. Mai. 2023
- [3] - SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Fundamentos da Química Analítica. 9ª ed. São Paulo: Thomson, 2014. Acesso em 24. Mai. 2023
- [4] – MAITAN, Valéria, s.d – **Quantificação de Microorganismos: Diluição e Plaqueamento “Spreader Plate” e “Pour Plate”** – Disponível em: <<https://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/7456/material/Aula%20n%C2%BA%20207%20e%208%20%20Plaqueamento.pdf>> Acesso em: 24 Mai. 2023
- [5] – FERREIRA, Márcia, 2020- **Teste de Esterilidade** – Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5285666/mod_resource/content/1/Teste%20de%20esterilidade%20-%20folhetos%20anotados.pdf>. Acesso em 24. Mai. 2023
- [6] - MALVERN PANALYTICAL, s.d. – **Calorimetria de Varredura diferencial (DSC)** – Disponível em: <<https://www.malvernpanalytical.com/br/products/technology/microcalorimetry/differential-scanning-calorimetry>> Acesso em 25. Mai. 2023