

ARTIGO

Nanometrologia - desafios para a regulação sanitária

Nanometrology - challenges for health regulation

**Jailton Carreteiro
Damasceno**

*Instituto Nacional de
Metrologia, Qualidade e
Tecnologia (Inmetro), Rio
de Janeiro, RJ, Brasil
jcdamasceno@inmetro.
gov.br*

Ana R Ribeiro

*Instituto Nacional de
Metrologia, Qualidade e
Tecnologia (Inmetro), Rio
de Janeiro, RJ, Brasil*

Luciene B Balottin

*Instituto Nacional de
Metrologia, Qualidade e
Tecnologia (Inmetro), Rio
de Janeiro, RJ, Brasil*

José Mauro Granjeiro

*Instituto Nacional de
Metrologia, Qualidade e
Tecnologia (Inmetro), Rio
de Janeiro, RJ, Brasil*

RESUMO

A relação entre a metrologia, a nanotecnologia e a nanociência e a regulação sanitária é discutida sob o ponto de vista da sua importância e da inter-relação entre os temas para o desenvolvimento de produtos e serviços envolvendo a nanotecnologia. A discussão envolve as principais técnicas de medição de propriedades dimensionais, químicas e biológicas de materiais, além de apresentar alguns dos desafios para o futuro. Questões como os processos de normatização e regulamentação na Europa, nos EUA e no Brasil também são abordadas, fornecendo uma visão geral sobre como esses processos estão relacionados com a regulação sanitária.

PALAVRAS-CHAVE: Nanotecnologia; Metrologia; Nanobiotecnologia; Regulação sanitária

ABSTRACT

The relationship between metrology, nanotechnology and nanoscience and sanitary regulation is discussed from the point of view of its importance and the interrelationship between the themes for the development of products and services involving nanotechnology. The discussion involves the main techniques for measuring dimensional, chemical and biological properties of materials, and presents some of the challenges for the future. Issues such as processes of standardization and regulation in Europe, U.S. and Brazil are also addressed, providing an overview of how these processes are related to sanitary regulation.

KEYWORDS: Nanotechnology; Metrology; Nanobiotechnology; Health regulation



Introdução

Metrologia

A metrologia é a ciência que abrange todos os conceitos teóricos e práticos envolvidos em uma medição que, quando aplicados, são capazes de fornecer resultados com maior exatidão e confiabilidade metrológica. Em qualquer área na qual uma decisão é tomada a partir de um resultado de medição é primordial toda atenção para os conceitos metrológicos envolvidos. Particularmente, sempre que possível, é desejável que a medida realizada possa ser rastreável ao SI (Sistema Internacional).

A credibilidade de dados analíticos nunca chamou tanto a atenção da sociedade quanto nos dias de hoje. De acordo com os requisitos da norma ABNT NBR ISO/IEC 17025¹, para que um resultado de medição seja confiável, o mesmo deve apresentar evidências quanto à sua rastreabilidade e também ter comprovada a sua confiabilidade metrológica. Essas evidências se estabelecem como propriedades importantes para a avaliação da qualidade de uma medição.

Um princípio fundamental para a qualidade e confiabilidade dos resultados é a sua comparabilidade entre laboratórios sobre uma base internacional. Para serem comparáveis, os resultados analíticos devem ser apresentados com uma declaração da sua incerteza de medição e devem ser rastreáveis a referências primárias comuns. Na área industrial a confiabilidade metrológica de um resultado de medição é a base para gerar produtos e serviços de melhor qualidade. Essa característica influencia diretamente nas decisões das transações comerciais nacionais e internacionais, contribuindo, muitas vezes, para a superação de barreiras técnicas.

Nanotecnologia

O termo nanotecnologia refere-se à aplicação de conhecimento científico para manipular e controlar a matéria na escala atômica, molecular ou macromolecular e que, em ao menos uma dimensão, esteja na faixa entre 1 e 100 nm e resulte em estruturas, dispositivos ou sistemas que possuam novas propriedades e funções devido ao seu tamanho². A mínima definição³ internacionalmente aceita para nanomaterial é de um corpo que tem, ao menos, uma de suas dimensões entre 1 e 100 nm (ver Fig. 1). Essa definição é adotada pela FDA⁴ (*Food and Drug Administration*), mas a Comunidade Europeia⁵ adota uma definição mais detalhada:

“Nanomaterial” designa um material natural, incidental ou fabricado, que contém partículas num estado desagregado ou na forma de um agregado ou de um aglomerado, e em cuja distribuição número-tamanho 50% ou mais das partículas têm uma ou mais dimensões externas na gama de tamanhos compreendidos entre 1 nm e 100 nm. Em casos específicos e sempre que tal se justifique devido a preocupações ambientais e ligadas à saúde, segurança e competitividade, o limiar da distribuição número-tamanho de 50% pode ser substituído por um limiar compreendido entre 1% e 50%. Especificamente para fullerenos, flocos de grafeno e os nanotubos de carbono de pa-

rede simples com uma ou mais dimensões externas inferiores a 1 nm deve ser considerada como nanomateriais.

Norio Taniguchi foi o primeiro a utilizar o termo nanotecnologia ao descrever as tecnologias envolvidas com a construção de produtos na escala nanométrica desenvolvendo os conceitos de Richard P. Feynman apresentados em 1959, em uma palestra para a Sociedade Americana de Física. Nas décadas seguintes sucederam-se impressionantes avanços das tecnologias de manufatura e miniaturização, gerando uma ampla diversidade de produtos com dimensões e propriedades nessa escala. Apenas para ilustrar, na área de liberação controlada de drogas, o mercado global atingiu em 2012 US\$ 22,5 bilhões, estimando-se US\$ 43,3 bilhões em 2017⁶.

Considerando a nanotecnologia como uma tecnologia portadora do futuro e o desafio que seu desenvolvimento representa, o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação instituiu pela Portaria nº 245, de 5 de abril de 2012, regulamentada pela Instrução Normativa nº 2, de 15 de junho de 2012, a rede SisNANO, que configura um sistema multiusuário de laboratórios direcionados ao apoio da pesquisa, desenvolvimento e inovação (P,D&I) em nanociências e nanotecnologias, e visa estruturar e ampliar o acesso de pesquisadores e empresas à infraestrutura laboratorial, estimulando a P,D&I em nanociências e nanotecnologias.

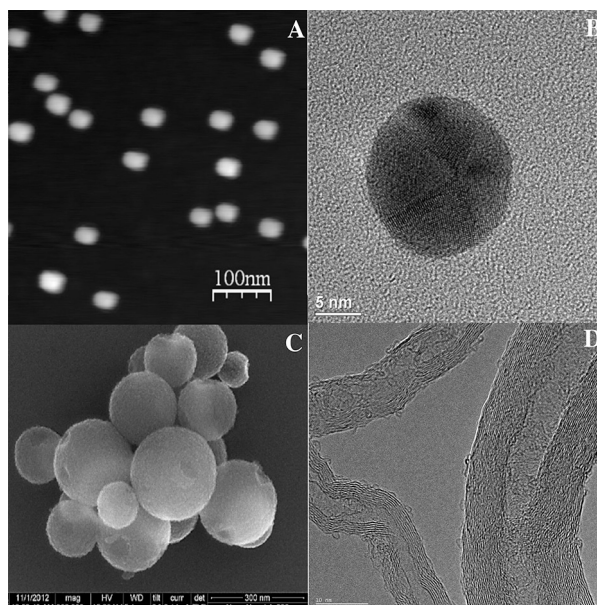


Figura 1: (A) Imagem topográfica de nanopartículas de ouro obtidas por microscopia de força atômica revelando o tamanho e distribuição das NPs (cortesia Dra. Giselle Nogueira Fontes). (B) Micrografia obtida pelo microscópio eletrônico de transmissão de alta resolução revelando a morfologia e tamanho de uma NP de ouro. (C) Micrografia de nanopartículas de sílica obtida pelo microscópio eletrônico de varredura. (D) Micrografia de nanotubos de carbono obtida por microscopia eletrônica de transmissão.



No entanto, da mesma forma que produtos e processos convencionais passam a ganhar qualidade e comparabilidade por meio da metrologia, a nanotecnologia também necessita desses meios para se tornar competitiva e confiável. É dessa necessidade então que nasce a nanometrologia.

Nanometrologia

A nanometrologia aborda medições de espécies ou eventos em escala nanométrica, tais como dimensões nessa escala ou interações entre moléculas ou biomoléculas. O grande desafio dessa nova ciência é o desenvolvimento e a criação de novas técnicas de medição capazes de fornecer resultados com alta exatidão, necessários para atender as necessidades da indústria que trabalha com nanotecnologia.

Nesse contexto, o Brasil é considerado como um dos poucos países a investir em nanometrologia, já que em 2008 foi instituído o Centro de Nanometrologia no Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro).

A Coordenação Europeia de Nanometrologia (Co-Nanomet) subdivide a nanometrologia em diversas áreas de atuação de acordo com suas especificidades⁷: dimensional, química, biológica, mecânica, elétrica, filmes finos, materiais nanoestruturados e modelagem e simulação.

Dimensional

A nanometrologia dimensional lida diretamente com medidas de propriedades dimensionais de materiais em nanoescala. Diversas aplicações em nanotecnologia requerem um fino controle dimensional em seus processos de manufatura. Dessa forma, técnicas de medição capazes de fornecer valores confiáveis para propriedades dimensionais de nanomateriais são cada vez mais necessárias.

As técnicas mais utilizadas atualmente para a caracterização dimensional em nanoescala são a interferometria ótica, a microscopia de força atômica (AFM) e a microscopia eletrônica.

O microscópio de força atômica é considerado por muitos o instrumento mais adequado em longo prazo para medições para a nanotecnologia. Esse equipamento faz uso de uma ponteira montada numa haste flexível que varre a superfície a ser analisada e reage às forças de interação entre os átomos da ponteira e da superfície, revelando assim a topografia desta, além de outras propriedades de superfície. O AFM é capaz de fornecer resolução vertical na escala atômica, enquanto a sua resolução lateral é tipicamente limitada pelo tamanho da ponteira em alguns nanômetros. Esse equipamento abriu uma janela para o mundo em nanoescala, sendo aplicado na geração de imagens, na metrologia e para a manipulação de superfícies. Institutos de metrologia em diversos países desenvolvem uma versão metrológica do AFM que, acoplada a interferômetros óticos, abre caminho para a rastreabilidade das medidas diretamente à definição do metro pelo Sistema Internacional de Unidades (SI). Esses sistemas podem fornecer medidas no eixo z com incertezas nas escalas nanométrica e subnanométrica. No entanto, há muito ainda por fazer, como

por exemplo a ampliação das escalas de medida lateral para alguns milímetros, permitindo a medição de grandes objetos com exatidão na escala subnanométrica, o desenvolvimento de sensores com maior estabilidade e menor ruído e o correto tratamento das forças interatômicas entre materiais com diferentes interações^{7,8}. Há também grupos usando o AFM em conjunto com outras técnicas de medição dimensional, como as máquinas de medição por coordenadas⁸. Métodos para a determinação do formato correto da ponteira por meio de algoritmos também são objeto de alguns estudos⁹.

A interferometria ótica é a principal ferramenta utilizada para medição de pequenas diferenças de altura em Institutos Nacionais de Metrologia e na indústria, uma vez que geralmente se pode trabalhar numa ampla faixa, que vai de metros a nanômetros, e oferece uma rota direta à rastreabilidade por meio da frequência do laser. A interferometria baseia-se na superposição de ondas eletromagnéticas, que, seguindo caminhos óticos diferentes, interagem construtiva ou destrutivamente, evidenciando a informação sobre a distância percorrida. Os sistemas interferométricos atualmente atingem resolução na faixa subnanométrica^{7,8} e podem ser de dois tipos: homódinos (único comprimento de onda é utilizado) ou heteródinos (com modulação em um dos feixes, geralmente por um desvio de frequência), sendo que nesse último caso é possível um aumento considerável da resolução atingida e da razão sinal-ruído. No entanto a interferometria ótica sofre de problemas de não linearidade nas faixas nanométrica e subnanométrica, levando a erros nas medidas, que podem ser, até certo ponto, contornados artificialmente por meio de algoritmos⁸. Ainda assim, a geração atual de interferômetros óticos chegou ao seu limite de desempenho no que diz respeito à metrologia em nanoescala. Entretanto, novos esforços têm sido postos em prática para melhorar ainda mais a interferometria ótica dentro dos institutos de metrologia^{7,8}.

Outra técnica que deve ser mencionada é a microscopia eletrônica. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica razoavelmente bem estabelecida e que possui grande versatilidade no que diz respeito à profundidade de escala. Isso significa que um ponto bastante específico da amostra observada pode ser investigado, partindo-se de uma magnificação pequena até uma relativamente grande, ao contrário do AFM, que permite uma faixa de varredura de apenas centenas de micrômetros. No MEV, o feixe eletrônico ao qual se submete a amostra varre a superfície desta enquanto a imagem é formada pela detecção dos elétrons secundários emitidos em resposta. No entanto, a microscopia eletrônica abrange também a técnica de transmissão, que pode chegar a resoluções superiores, em níveis de alguns sub-ångstrons. Nela, o feixe eletrônico atravessa a amostra, que precisa de preparação para estar suficientemente fina, e a imagem é registrada pelo sinal que é transmitido. Entretanto, as técnicas de microscopia eletrônica permitem medidas dimensionais apenas no plano x-y (medidas 2D) e devem operar sempre em ambiente de vácuo. Microscópios eletrônicos têm sido utilizados largamente na indústria de semicondutores como instrumento para controle dimensional em nanoescala. Nos institutos de metrologia esses equipamentos podem ser uti-



lizados para calibração de artefatos de transferência ou para medidas de tamanho de nanopartículas de referência.

A Tabela 1 resume as principais informações a respeito das técnicas citadas. Além dessas técnicas, muitas outras também são desenvolvidas dentro da área de nanometrologia dimensional, como a interferometria por raios x, microscopia confocal, difratometria e elipsometria, entre outras.

De forma geral, pode-se dizer que os principais avanços nessa área caminham no sentido de se estabelecerem instrumentos com maiores resoluções e maior exatidão em diferentes escalas, geometrias e materiais. No caso do AFM, busca-se um melhor conhecimento da interação entre a sonda/sensor e a amostra em nanoescala. Por fim, é extremamente importante que os resultados desses avanços levem a serviços e soluções de calibração para medições em nanoescala, e que haja a possibilidade de se assegurar a rastreabilidade e a estabilidade de medidas por meio de padrões e procedimentos bem estabelecidos.

Química

A nanometrologia química compreende medidas de composição de espécies químicas, estados químicos ou propriedades estruturais de materiais em nanoescala. As técnicas envolvidas nesse tipo de análise são diversas e apresentam informações complementares entre si com relação à caracterização química dos materiais. Dentre as ferramentas comumente utilizadas podem ser citadas diversas técnicas espectroscópicas, como a espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios x (XPS), a espectroscopia de elétrons Auger (AES), a espectroscopia de massa de íons secundários (SIMS), a espectroscopia de perda de energia de elétrons (EELS) e a espectroscopia de energia dispersiva de raios x (EDS), esta última normalmente acoplada a um microscópio eletrônico¹⁰.

A técnica de XPS é usada para a determinação quantitativa da concentração e do ambiente de espécies químicas presentes na superfície dos materiais. Essa é uma técnica que pode ser usada para a caracterização de nanopartículas. O Comitê Consultivo para a Quantidade de Matéria (CCQM) recentemente desenvolveu um projeto para rastrear medidas de espessura de filmes ultrafinos de óxido de silício sobre silício¹¹.

A espectroscopia Auger, ou AES, é usada para a identificação da composição química de superfície de nanoestruturas até 10 nm. Suas aplicações comuns passam pela determinação da estequiometria em semicondutores (incluindo *quantum dots*) e pela identificação de contaminantes químicos em dispositivos eletrônicos.

A espectroscopia de massa de íons secundários é mais uma técnica para determinação da composição química de superfície de materiais. Nesse tipo de ferramenta, o bombardeio de íons com alta energia causa o arrancamento de material que é capturado e analisado por espectroscopia de massa, fornecendo resultados com alta sensibilidade. Essa técnica é amplamente usada pela indústria de dispositivos eletrônicos e também pela comunidade geológica para identificação elementar.

A técnica de EDS é usada acoplada com a microscopia eletrônica, sendo capaz de identificar e quantificar elementos pela detecção da energia dos raios x emitidos pelos diferentes materiais quando estes são bombardeados pelo feixe de elétrons. Já a espectroscopia de perda de energia de elétrons, ou EELS, está acoplada usualmente à microscopia eletrônica de transmissão e mede a quantidade de energia que os elétrons perdem ao atravessarem a amostra. Essa diferença de energia está relacionada diretamente com as espécies químicas presentes na amostra. Além disso, informações a respeito do ambiente químico - tipo de ligação química presente - também podem ser extraídas.

A Tabela 2 consolida as informações das principais técnicas descritas^{8,10}. Outras técnicas que podem ser citadas são as que envolvem espectroscopias óticas, tais como a espectroscopia de infravermelho (FTIR) e a espectroscopia Raman. A técnica de FTIR identifica tipos de ligações (ou grupos funcionais) em sólidos, líquidos e gases e pode ser utilizada em filmes finos com espessuras da ordem de dezenas de nanômetros. A espectroscopia Raman é uma técnica complementar ao FTIR e muito sensível para a caracterização de nanoestruturas à base de carbono (como nanofitas, nanotubos e grafenos), o que a torna uma ferramenta indispensável para o desenvolvimento da metrologia desse tipo de nanoestruturas.

Os aspectos metrológicos de parte da área de nanometrologia química têm sido desenvolvidos dentro do VAMAS (Ver-

Tabela 1. Resumo das principais técnicas envolvidas na nanometrologia dimensional.

Técnica	Finalidade / Aplicação	Características	Limitações
Microscopia de força atômica (AFM)	Metrologia dimensional, medição de propriedades mecânicas (força, tribologia), manipulação de superfícies	Resolução vertical na escala atômica e lateral na escala nanométrica	Medidas de objetos de pequena escala, interferência da forma da ponteira
Interferometria ótica	Metrologia dimensional, calibração de blocos padrão	Principal ferramenta para medidas de diferença de alturas com ampla faixa de trabalho (1 a 10 ⁻⁹ m)	Problemas de não linearidade nas faixas nanométrica e subnanométrica
Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	Metrologia dimensional, análises químicas, estruturais e de topografia e nanolitografia / nanofabricação quando acoplado ao feixe focalizado de íons	Resolução na escala de nanômetros e imagens com grande profundidade de foco	Medidas no plano x-y (2D), necessidade de ambiente de vácuo
Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	Metrologia dimensional, análises químicas e estruturais	Resolução na escala de sub-ângstrom	Medidas no plano x-y (2D), necessidade de ambiente de vácuo e cuidadoso preparo da amostra

**Tabela 2.** Resumo das principais técnicas envolvidas na nanometrologia química.

Técnica	Finalidade / Aplicação	Características	Limitações
Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios x (XPS)	Análise quantitativa da concentração e ambiente das espécies químicas presentes na superfície	Excelente determinação de ambientes químicos, larga aplicabilidade a diversos tipos de materiais	Resolução lateral geralmente limitada (ordem de dezenas de micron)
Espectroscopia de elétrons Auger (AES)	Análise quantitativa da concentração das espécies químicas presentes na superfície	Excelente resolução lateral (ordem de dezenas de nanômetros)	Carregamento das amostras analisadas e possível dano às mesmas devido ao feixe de elétrons
Espectroscopia de massa de íons secundários (SIMS)	Medidas de impurezas elementares em materiais	Detecção de traços de impurezas elementares (ppm a sub-ppb)	Ausência de informações químicas ou moleculares devido ao processo de bombardeio iônico
Espectroscopia de energia dispersiva de raios x (EDS)	Análise quantitativa da concentração de espécies químicas presentes na superfície	Medidas multielementares rápidas, geralmente acopladas a técnicas de microscopia eletrônica	Resolução limitada entre picos e razão sinal-ruído relativamente baixa
Espectroscopia de perda de energia de elétrons (EELS)	Análise elementar e ambiente das espécies químicas	Excelente resolução lateral (ordem de 1 nm) e determinação do ambiente químico	Normalmente acoplada a um TEM ou STEM, cuidadoso preparo da amostra

sailles Project on Advanced Materials and Standards) e até mesmo do BIPM (Bureau Internacional de Pesos e Medidas), por meio de grupos do Comitê Consultivo para a Quantidade de Matéria (CCQM). No entanto, ainda há uma grande carência no que diz respeito ao desenvolvimento de materiais de referência certificados, capazes de fornecer rastreabilidade às medições realizadas, utilizando-se as técnicas citadas. Além disso, o aprimoramento de métodos para ampliar a resolução lateral das análises químicas, bem como a sua sensibilidade, ainda é um fator importante.

Os diversos processos de fabricação de nanomateriais que têm surgido atualmente requerem o apoio da metrologia no que se refere à caracterização química. Por exemplo, há necessidade de haver um melhor entendimento dos primeiros passos da nucleação durante a fabricação desses nanomateriais, ou de como aperfeiçoar a funcionalização de nanomateriais e o desenvolvimento de nanopartículas para os campos da bioanálise, biologia e medicina.

Biológica

A nanobiometrologia é uma ciência emergente que visa à compreensão de fenômenos, o desenvolvimento de medições e a aquisição de dados que promovem a caracterização biológica (quantitativamente) na escala nanométrica, contribuindo assim para a comparabilidade e reprodutibilidade internacional das medições^{12,13,14,15,16,17}. Mundialmente, a nanobiotecnologia - que inclui o uso da nanotecnologia para entender e desenvolver a ciência biotecnológica, farmacêutica e médica - tem focado o seu desenvolvimento nas áreas da nanomedicina e da medicina personalizada, em dispositivos médicos e implantes e também em nanobiomateriais engenheirados. Em saúde, a nanotecnologia visa contribuir com o diagnóstico, monitoramento, tratamento e cura de doenças. Diversas novas indústrias surgem, e antigas crescem, acompanhando essa grande área de conhecimento e tecnologia, produzindo novos dispositivos, instrumentação, fármacos e serviços. Um exemplo recente do poder da nanobiotecnologia foi o desenvolvimento da termo-

metria em nanoescala em células vivas, obtendo-se o gradiente de temperatura e mapeamento no nível subcelular através da introdução de nanodiamantes e nanopartículas de ouro em fibroblastos embrionários humanos¹⁸. Essa metodologia possibilita assim aplicações únicas em ciências da vida.

A nanometrologia biológica é, portanto, uma ciência transversal aplicada às diversas áreas das ciências da saúde e da vida que sustenta o controle responsável da evolução das nanotecnologias e nanociências, tendo em conta aspectos relativos de ética, saúde pública, segurança ocupacional, mas também proteção ambiental^{12,13,14,15,16}. Essa ciência está ganhando cada vez mais importância na sociedade, uma vez que alguns produtos, tais como sensores de glicose, já estão sendo comercializados, e produtos para terapia do câncer¹⁹ e de múltipla resistência a drogas²⁰ estão em desenvolvimento. Contudo, a metrologia na área da biologia ainda é muito incipiente, requerendo esforços interdisciplinares para o seu desenvolvimento, bem como o de novas ferramentas de metrologia.

Institutos de metrologia de diversos países estão engajados em atividades de metrologia na área da bionanometrologia. Na Europa, o Co-Nanomet publicou um relatório no qual estabelece as prioridades e as estratégias futuras, com foco nas seguintes áreas: (a) caracterização das propriedades químicas, estruturais e mecânicas de bionanoestruturas e bio-superfícies resultantes da bionanoengenharia, (b) quantificação, distribuição, estrutura e atividades de materiais biológicos, e (c) quantificação e distribuição de nanopartículas em sistemas biológicos⁷.

A caracterização de estruturas em nanoescala sem alterar as propriedades iniciais da amostra é de extrema importância para o desenvolvimento da nanotecnologia^{21,22}. Diversas técnicas têm sido desenvolvidas visando elevar a exatidão das análises de estruturas biológicas, tais como ácidos nucleicos, proteínas, células e micro-organismos^{12,15,16,18,19,20,22,23,24,25,26}. Técnicas como a transferência relativa de energia de fluorescência (FRET), ressonância plasmônica, microbalança de quartzo, espectroscopia de infravermelho e Raman, entre ou-



tras, têm sido bastante utilizadas na medida em que permitem análises em ambientes biológicos^{12,16,22,27,28}.

A nanobiometrologia tem sido aplicada em medições exatas das propriedades químicas, estruturais e mecânicas dos biomateriais nanoestruturados, além de ajudar na compreensão da estrutura, quantificação, distribuição e atividade de biomoléculas para uma ampla gama de aplicações industriais incluindo sensores, implantes e medicina regenerativa^{12,15,16,19,20,23,24}. Embora o desenvolvimento das nanociências e nanotecnologias tenha numerosas aplicações benéficas para a nossa sociedade, o possível impacto no ambiente e na saúde humana ainda é pouco conhecido^{29,30,31}. Atualmente é produzida uma grande diversidade de nanopartículas (NPs) que são incorporadas nos mais variados produtos, com aplicações em áreas distintas, tais como o meio ambiente, a eletrônica, informática, a indústria biomédica, farmacêutica e cosmética, etc^{29,30,31}. Como resultado, a maioria dos seres humanos é exposta diariamente a concentrações elevadas de partículas que podem ser nocivas para a saúde humana. Quando as nanopartículas alcançam as células, estas podem ser internalizadas através da membrana celular por processos como a endocitose (ou por outros processos que envolvem lipídeos especializados), gerando espécies reativas de oxigênio que suscitam o estresse oxidativo de algumas organelas celulares e causam uma grave disfunção celular^{12,16,29,30}. Importante destacar que manifestações agudas decorrentes de exposição a nanopartículas não são comuns. Contudo, não é bem conhecido o efeito crônico da exposição às NPs e a eventual sinergia entre a NP e fatores ambientais, como exposição à radiação UV³², fumaça do cigarro, entre outros. Ainda, muito se discute na comunidade

científica se técnicas tradicionais da toxicologia são também válidas para esse novo campo.

Apesar dos indícios sobre potenciais efeitos adversos no organismo, a legislação específica que regulamenta os testes a que devem ser sujeitas essas nanopartículas é inexistente. Urge portanto a necessidade de proceder a investigações sobre os potenciais efeitos nefastos das nanopartículas para o organismo, e é nesse contexto que atualmente a nanobiometrologia tem tido recentemente um papel fundamental. Diferentes técnicas de caracterização avançada têm sido aplicadas de modo a efetuar a caracterização, quantificação e distribuição de nanopartículas em sistemas biológicos (ver Fig. 2A). Contudo, a inexistência de uma única técnica que permita avaliar em tempo real a internalização de nanopartículas e a sua localização é uma limitação na área^{12,16,29,30}.

Diversos eventos ocorrem com as nanopartículas quando essas interagem com o sistema biológico. Frequentemente ocorre aglomeração (ver Fig. 2B) como resultado das características físico-químicas da superfície das NPs e sua grande afinidade por biomoléculas. Esse fenômeno de aglomeração é resultado de diversos eventos de adsorção e dessorção de biomoléculas na superfície das NPs; contudo, a complexidade ainda é mais elevada na medida em que essas ligações não são estáticas no tempo. A natureza dos complexos proteína-NP condiciona também o modo como estas interagem nos sistemas biológicos, sendo muitas das vezes responsáveis por eventos de toxicidade que envolvem danos no lisossoma celular e subsequente apoptose³³.

Essa é uma das áreas em que a nanobiometrologia tem atualmente um papel fundamental. A necessidade de métodos ras-

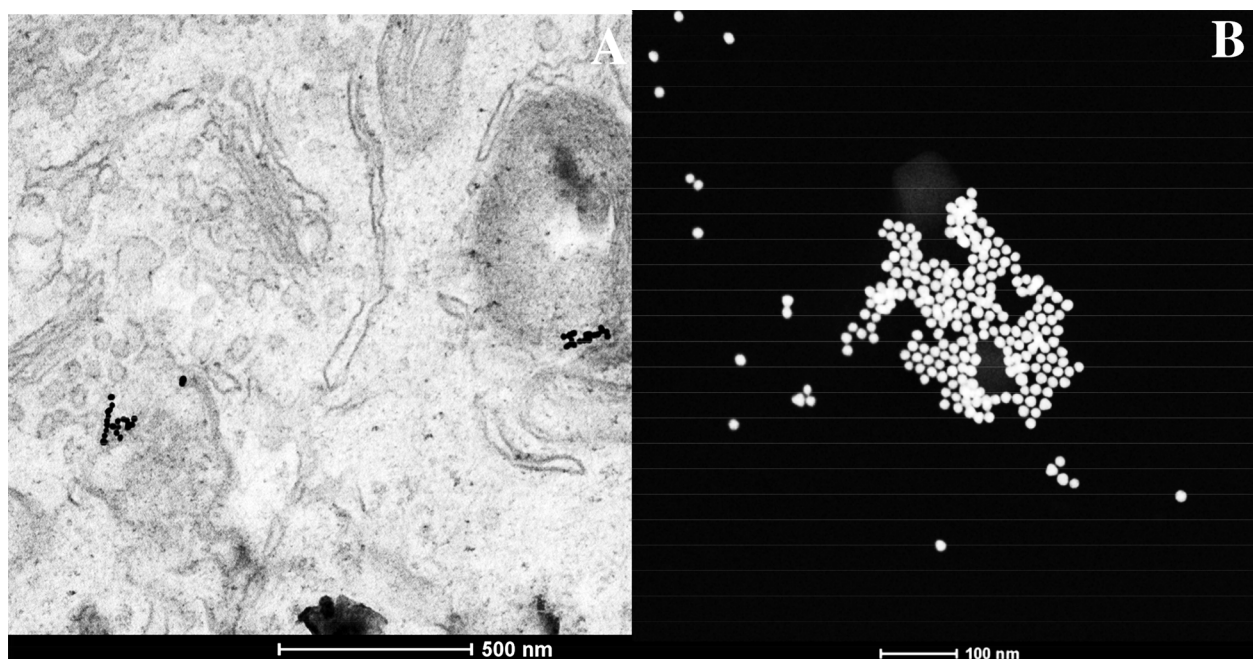


Figura 2: (A) Micrografia demonstrando a internalização celular de nanopartículas de ouro. (B) Agregação espontânea de nanopartículas de ouro.



treáveis e precisos de quantificação, distribuição e avaliação das nanopartículas em sistemas biológicos está em crescimento exponencial, devido ao recente uso de NPs em aplicações que envolvem a nanomedicina, tais como agentes de contraste em equipamentos de imagem por ressonância magnética (MRI) e sistemas de carregamento e liberação de drogas (fármacos e vacinas) para melhorar a sua eficácia terapêutica³³.

Nanometrologia e a regulação sanitária

Os mercados considerados emergentes para o desenvolvimento da nanotecnologia são o farmacêutico, o eletrônico e o de materiais. Devido ao seu rápido crescimento, iniciativas de normalização e de regulamentação das nanotecnologias ganham cada vez mais importância no intuito de assegurar à sociedade que o seu desenvolvimento seja seguro, responsável e sustentável^{4,7}.

A avaliação de risco de nanopartículas para a saúde humana, que engloba seus possíveis efeitos patogênicos e a indução à genotoxicidade, é uma preocupação atual dos EUA, Europa e atualmente da sociedade brasileira (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA). Apesar da grande quantidade de estudos relacionados com nanopartículas, o conhecimento da sua interação com organismos vivos e possíveis efeitos na saúde humana ainda é escasso e a regulamentação é inexistente^{34,35,36,37,38,39,40}. Atualmente ainda não existem metodologias confiáveis e regulamentação que estabeleçam a diferença entre as propriedades na macroescala e na nanoescala.

Quer na Europa, quer nos EUA, uma quantidade considerável de projetos de investigação e desenvolvimento centrados na avaliação dos potenciais riscos e perigos oriundos da expansão e desenvolvimento da nanotecnologia foram financiados pelos governos com o intuito de avaliar os potenciais riscos de nanomateriais, bem como gerar regulamentação e legislação específica aplicada a produtos que contenham em sua composição substâncias com dimensões na nanoescala^{34,35,36,37,38,39,40}.

Uma série de relatórios científicos vem sendo publicada desde 2000 sobre a segurança no desenvolvimento das nanociências e as nanotecnologias; contudo, todos destacam as persistentes incertezas científicas e lacunas no conhecimento sobre impactos ambientais e na saúde humana. Como exemplo pode-se citar o relatório de 2004 sobre as nanociências e as nanotecnologias publicado pela *Royal Society, Royal Academy of Engineers* e pelo NSCT americano (*National Science and Technology Council*), onde foram avaliados os efeitos nocivos dos nanomateriais à saúde e ao ambiente³⁴.

Nos EUA existem diversas entidades federais engajadas em regulamentação da nanotecnologia, nomeadamente o EPA (*United States Environmental Protection Agency*), que foca a sua pesquisa na área dos nanomateriais: (i) identifica as fontes; (ii) destino; (iii) transporte; (iv) exposição; (v) compreensão dos efeitos à saúde humana e ao meio ambiente, de modo a informar os riscos e os métodos de ensaio; (vi) desenvolvimento de abordagens de avaliação de risco; e (vii) prevenção e mitigação dos riscos³⁶. A FDA (*Food and Drug Administration*) é responsável por proteger a saúde pública através da regulação e supervisão da segurança de alimentos, medicamentos,

vacinas, biofármacos, dispositivos médicos e também produtos veterinários⁴¹. A organização NIOSH (*The National Institute for Occupational Safety and Health*) realiza pesquisas e faz recomendações para a prevenção de acidentes e doenças ocupacionais, enquanto o *National Institute of Health* (NIH) está direcionado à área da saúde, desenvolvendo métodos de diagnósticos e produtos aplicados na terapêutica baseados em nanotecnologia. Apesar de contar com um sistema de regulamentação não centralizado, os Estados Unidos procuraram criar uma estratégia coordenada, promovendo a criação da *National Nanotechnology Initiative* (NNI). Lançada em 2000, a NNI visa coordenar as 25 diferentes agências federais engajadas em nanotecnologias³⁵. Esse sistema implementado nos EUA é suficientemente ágil para avaliar os novos riscos emergentes da nanotecnologia. Por exemplo, em 2006 a EPA decidiu regulamentar uma máquina de lavar roupa como um pesticida e exigiu um registro adequado, pois esse equipamento continha nanopartículas de prata com o intuito de atuar como elementos antimicrobianos³⁶.

Contudo, para pré-análise de mercado e autorização, a vigilância pós-mercado, a rotulagem e os relatórios de eventos adversos variam consideravelmente e dependem exclusivamente de características e limitações da autoridade legal que cada agência possui. As agências de regulação também reconheceram as lacunas nos conhecimentos e incertezas científicas quanto aos nanomateriais. A EPA, por exemplo, identificou necessidades de investigação sobre a toxicologia e ecotoxicologia de nanomateriais e recomenda maior colaboração com outras agências e de outras partes interessadas. Para completar possíveis lacunas de conhecimento, a EPA introduziu uma iniciativa voluntária de informação na área de nanotecnologias para as empresas: convidou os produtores de nanomateriais a produzirem um relatório de segurança voluntário com as informações relevantes. Uma revisão desse programa publicado em 2009 sugeriu que as empresas se mostravam relutantes em participar no regime, levando a EPA a concluir que a falta de conhecimento relativo à segurança e saúde ambiental continuam a existir; como consequência, a agência está agora a analisar a possibilidade de desenvolver um sistema de notificação obrigatória³⁶.

O governo europeu enfrenta problemas semelhantes à falta de conhecimentos e incertezas científicas na área de nanotecnologia, tal como ocorre nos EUA. Existem leis e a regulamentação em vigor refere-se ao domínio dos produtos químicos, alimentos, cosméticos, medicamentos, etc. A União Europeia (UE) tem sido bastante proativa no desenvolvimento de uma estratégia e incentivando a nanotecnologia. Com a publicação de seu primeiro documento estratégico em 2004 até hoje, a Comissão Europeia tem sublinhado constantemente a necessidade de “adequada e oportuna regulamentação no domínio da saúde pública, da proteção do consumidor e do meio ambiente de modo a assegurar a confiança dos consumidores, trabalhadores e investidores”^{37,38,39,40}.

Iniciativas no domínio da segurança voluntária por parte de pesquisadores e de empresas têm sido tomadas no domínio



das nanociências e das nanotecnologias de modo a antecipar potenciais impactos ambientais, de saúde e em matéria de segurança. Na União Europeia, os nanomateriais são regulados pelo *Regulation on Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals* (REACH), pois se incluem na definição de substância química. Segundo o REACH, com base no conhecimento atual, os nanomateriais são considerados similares às substâncias químicas (alguns podem ser tóxicos e outros não), estando os seus riscos relacionados com o tipo de nanomaterial e sua aplicação⁴². As suas disposições contêm extensas obrigações para os fabricantes, que são obrigados a produzir e avaliar os dados sobre os produtos químicos e a segurança da sua utilização e a fornecer aos reguladores essa informação através de relatórios. Ao mesmo tempo, os reguladores têm uma gama de ferramentas à sua disposição para solicitar ensaios e informações adicionais, mas também poderão restringir a utilização de substâncias químicas que são consideradas de alta preocupação³⁸. O regulamento *CLP-Regulation* (certificação, rotulagem e embalagem) obriga que substâncias comercializadas, incluindo nanomateriais, sejam notificadas à *European Chemicals Agency* (ECHA) de acordo com classificação referente ao perigo⁴³.

Perante a incerteza sobre riscos e regulamentação dos nanomateriais, a Comissão Europeia apresentou uma revisão sistemática das leis e regulamentações existentes. Publicada em 2008, a revisão conclui que “a legislação abrange em grande medida os riscos em relação aos nanomateriais”; contudo, admitiu a inexistência de conhecimento em algumas áreas, de modo que “a legislação poderá ser alterada em função de novas informações que venham a estar disponíveis”. Impulsionadas por demandas políticas do Parlamento Europeu (PE), as reformas recentes nas leis de cosméticos e alimentar incluíram disposições que vão além das implementadas nos EUA, particularmente no que diz respeito à rotulagem obrigatória e pré-avaliação de requisitos de segurança de mercado^{37,38,39,40}.

Atualmente três comitês científicos independentes fornecem à Comissão Europeia os pareceres científicos, as necessidades no momento da preparação das propostas relacionadas com a segurança dos consumidores, da saúde pública e do ambiente. Os comitês são o SCCP (*Scientific Committee on Consumer Products*), o SCHER (*Scientific Committee on Health and Environmental Risks*) e o Comitê SCENIHR (*Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks*). O cluster de Nanosegurança é também uma iniciativa europeia com o objetivo de maximizar as sinergias existentes entre os Programas “*Sixth e Seventh Framework Programme*” (FP6 e FP7) para todos os aspectos de nanosegurança, incluindo materiais, risco, bancos de dados, modelagem, difusão, normalização e metrologia de nanotecnologias³⁹.

Em 2013 uma nova legislação que define as regras de segurança para produtos cosméticos entrou em vigor na União Europeia. O objetivo da nova lei é de informar os consumidores sobre os constituintes em formulações de produtos de cosmética. Especificamente neste documento, nanomaterial é definido como um material intencionalmente manufaturado insolúvel na escala de 1 a 100 nm. Nesse contexto, diversos tipos

de nanoestruturas (por exemplo lipossomas, nanopartículas lipídicas e nanoemulsões) já empregadas em produtos cosméticos comercializados não se enquadram nessa definição. No caso de produtos cosméticos contendo nanomateriais insolúveis, o fabricante deve notificar a Comissão quanto à presença do nanomaterial no produto antes de comercializá-lo^{35, 39}.

A UE e os EUA tomaram a liderança na coordenação internacional, trabalhando, principalmente, por meio da OCDE (*Organisation for Economic Co-operation and Development*) e a ISO (*International Organization for Standardization*). A OCDE é uma organização intergovernamental tendo como objetivo o estabelecimento de políticas de harmonização, mediante a identificação e discussão de problemas comuns e de interesse internacional. Em 2005 a OCDE promoveu a cooperação internacional para avaliar as potenciais implicações e a segurança dos nanomateriais manufaturados sobre a saúde humana e o meio ambiente. Em 2006 a OCDE decidiu criar um grupo de trabalho com o objetivo de alertar sobre os aspectos relacionados com a segurança dos nanomateriais fabricados a fim de ajudar no desenvolvimento de uma rigorosa avaliação de segurança de nanomateriais^{44,45}. Recentemente a OCDE publicou uma compilação de todas as informações sobre os parâmetros determinantes da avaliação da nanosegurança de nanomateriais fabricados⁴⁵.

As atividades de normalização iniciadas pela ISO e pela *International Electrotechnical Commission* (IEC) constituem as principais ações normativas na área da nanotecnologia. Além da OCDE, a ISO tem assumido internacionalmente a liderança no desenvolvimento harmonizado de normas e terminologia. O comitê técnico sobre as nanotecnologias (TC 229) foi criado em 2005 e publicou relatórios técnicos e normas internacionais relacionadas com a terminologia e nomenclatura, metrologia e instrumentação, incluindo especificações dos materiais de referência; ensaios, modelagem e simulações, ciência básica para saúde e segurança; além de boas práticas de gestão ambiental relacionadas ao uso de nanotecnologias^{37,38,39,40}. A ISO/TR 12885:2008 concentra-se na fabricação e utilização de nanomateriais engenheirados, abordando definições práticas em saúde e segurança ocupacional aplicadas às nanotecnologias⁴⁰.

No Brasil, tal como na Europa e nos EUA, não existem leis e dispositivos com capacidade de prevenir e avaliar o efeito dos avanços da nanotecnologia. As leis que normalmente são utilizadas para autorizar a comercialização de um determinado produto nanotecnológico para a agricultura não diferem das normas para os demais produtos. Em termos de definições, o Grupo de Trabalho em Marco Regulatório propôs a adoção da definição de nanotecnologia da ISO TC 229, assim como a definição de nanomaterial da ISO/TR 12885-2008⁴⁰.

Conforme atribuições estabelecidas para a Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária por meio da Lei nº 9782/1999, é competência da agência normatizar, controlar e fiscalizar produtos, substâncias e serviços de interesse para a saúde, dentre os quais encontram-se os produtos para saúde⁴⁶. Visando à aprovação desses produtos antes da sua colocação no mercado de consumo (processo de registro do produto na Anvisa) e com o intuito da avaliação dos requisitos de segurança



e eficácia desses produtos, conforme requisitos estabelecidos na Resolução Anvisa RDC nº 56/2001 e outras legislações específicas, são solicitados, no momento do pedido do registro do produto junto à Anvisa, os resultados de análises prévias ou os seus certificados de avaliação da conformidade⁴⁷. Contudo, a Anvisa ainda não definiu uma legislação específica para a nanotecnologia, seja para registro de nanomateriais, seja para produtos finais contendo nanomateriais. Não obstante, a Anvisa tem aprovado produtos de base nanotecnológica, através de avaliação caso a caso.

Nos últimos anos, o Brasil tem avançado no desenvolvimento em Ciência, Tecnologia e Inovação, com resultados concretos na produção científica, tecnológica e formação de recursos humanos nas áreas de nanotecnologia e nanociência. A elaboração de normas adequadas é, portanto, crucial para o desenvolvimento seguro e confiável de produtos nanomanufaturados. Tal como aconteceu na Europa e nos EUA, no Brasil esforços deverão ser realizados de modo a elaborar normas técnicas para estabelecer padrões de metrologia ligados à nanotecnologia conjuntamente com a aposta na certificação por instituições de normalização⁴⁸. A nanometrologia tem um papel importante na regulação de produtos derivados de nanotecnologias, uma vez que não há uma técnica para a caracterização da distribuição de tamanho de nanomateriais nem no controle das interferências de preparação das amostras nas metodologias de análise. Existe a necessidade de aprimoramento e desenvolvimento de novas metodologias de medida com elevado grau de exatidão (preferencialmente abaixo dos 10 nm), mas também métodos de calibração e validação de instrumentos (faixa inferior a 100 nm) devem ser utilizados rotineiramente. Novos métodos de medidas, materiais de referência e boas práticas deverão ser também desenvolvidos de modo a solucionar a questão da falta de rastreabilidade do sistema internacional de medidas^{12,13,14,15,16,34}.

Em termos gerais, embora haja um número significativo de artigos científicos analisando os efeitos toxicológicos de nanopartículas, há grande controvérsia quanto aos protocolos adequados para a dispersão e preparo da amostra, bem como para ensaios *in vitro* e *in vivo* que não sejam enviesados em função da reatividade das NPs. Testes toxicológicos padronizados estão disponíveis para se avaliar a resposta biológica de uma substância química; entretanto, a padronização para a avaliação da toxicidade de nanopartículas é inexistente. Até o momento os estudos realizados são adaptações dos procedimentos padrão já existentes, utilizados com outras substâncias.

Considerações Finais

A nanotecnologia é efetivamente uma tecnologia portadora do futuro. Seu impacto na vida atual e futura da população é gigantesca nas mais diversas áreas do conhecimento, com profunda vinculação no setor produtivo. Em todo o mundo, inclusive no Brasil, está em construção a sua estrutura regulatória. Será fundamental o desenvolvimento de protocolos adequados para a preparação e caracterização físico-química e biológica

das NPs, visando estabelecer a segurança e eficácia desses novos produtos.

Agradecimentos

Apoio financeiro: Faperj, CNPq, Capes, Finep, FP7/CE/Nanovalid

Agradecemos à Dra. Giselle Nogueira Fontes pela produção das nanopartículas de ouro. Agradecemos aos pesquisadores da Dimat/Inmetro pela realização das análises de microscopia eletrônica.

Referências

1. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO/IEC 17025: Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro; 2005.
2. International Organization for Standardization. ISO/TS80004-1: Nanotechnologies - Vocabulary - Part 1: Core terms. Geneva; 2010.
3. Vert M, Doi Y, Karl-Heinz H, Hess M, Hodge P, Kubisa P, Rinaudo M, Schué F. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). Pure Appl Chem. 2012;84(2):377-410.
4. U.S. Food and Drug Administration. Nanotechnology [Internet]. Silver Spring: FDA; 2012. [acesso em 04 mar. 2013]. Disponível em: <http://www.fda.gov/ScienceResearch/SpecialTopics/Nanotechnology/default.htm>.
5. European Commission. Commission Recommendation on the definition of nanomaterial [Internet]. Brussels; 2011. [acesso em 23 out. 2013]. Disponível em: http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/pdf/commission_recommendation.pdf.
6. Steinbach OC. Industry Update: The latest developments in therapeutic delivery. Ther Deliv. 2013;4(7):779-84.
7. Euspen. European Nanometrology 2020: Co-Nanomet, Coordination of Nanometrology in Europe [Internet]. 2011. [acesso em 15 abr. 2013]. Disponível em: <http://www.euspen.eu/content/Co-nanomet%20protected%20documents/publications%20area/European%20Nanometrology%202020.pdf>.
8. Bosse H, Brand U, Danzebrink HU, Dziomba T, Flügge J, Frase G, Herrmann K, Koenders L. Nanometrology Foresight Review [Internet]. 2009. [acesso em 15 abr. 2013]. Disponível em: <http://www.co-nanomet.eu/content/Co-nanomet%20protected%20documents/training%20and%20resources/library/Foresight%20Review%20Final.pdf>.
9. Yacoot A, Koenders L. Aspects of scanning force microscope probes and their effects on dimensional measurement. J Phys D Appl Phys. 2008;41(10):103001.
10. Brundle CR, Evans Junior CA, Wilson S, Fitzpatrick LE (editores). Encyclopedia of materials characterization: surfaces, interfaces, thin films. Boston: Butterworth-Heinemann; Greenwixh; Manning; 1992.



11. Seah MP. CCQM-K32 key comparison and P84 pilot study: Amount of silicon oxide as a thickness of SiO₂ on Si. NPL report AS. 2008;27:1-38.
12. Graham D. Nanometrologia - is it the next big thing in measurement? *Analyst*. 2007;132(2):95-6.
13. Neto CI. Biometrologia. In: Congresso da Qualidade em Metrologia Rede Metrológica do Estado de São Paulo; 09-12 jun. 2008; São Paulo. São Paulo: ENQUALAB; 2008.
14. Imai H. Expanding needs for metrological traceability and measurement uncertainty. *Measurement*. 2013;46(8):2942-5.
15. Ferreira MC. The role of metrology in the field of medical devices. *Int J Metrol Qual Eng*. 2011;2(2):135-40.
16. Jamakhani MA, Jadhav MR, Kamble GS, Gambhire VR. Nanometrologia in biological and medical sciences. *Int J Adv Biot Res*. 2011;2(1):213-23.
17. Leach RK, Boyd R, Burke T, Danzebrink HU, Dirscherl K, Dziomba T, Gee M, Koenders L, Morazzani V, Pidduck A, Roy D, Unger WE, Yacoot A. The European nanometrologia landscape. *Nanotechnology*. 2011;22(6):062001.
18. Kucsko G, Maurer PC, Yao NY, Kubo M, Noh HJ, Lo PK, Park H, Lukin MD. Nanometre-scale thermometry in a living cell. *Nature*. 2013;500(7460):54-8.
19. Singh S. Nanomaterials as Non-viral siRNA Delivery Agents for Cancer Therapy. *Bioimpacts*. 2013;3(2):53-65.
20. Ma P, Mumper RJ. Anthracycline Nano-Delivery Systems to Overcome Multiple Drug Resistance: A Comprehensive Review. *Nano Today*. 2013;8(3):313-31.
21. Whitehouse DJ. Handbook of Surface and Nanometrologia. 2. ed. Boca Raton: CRC Press; 2010. 957p.
22. Fregnaux M, Gaumet JJ, Dalmasso S, Laurenti JP, Schneider R. Mass spectrometry techniques in the context of nanometrologia. *Microelectron Eng*. 2013;108:187-91.
23. Jalili N, Laxminarayana K. A review of atomic force microscopy imaging systems: application to molecular metrologia and biological sciences. *Mechatronics*. 2004;14(8):907-45.
24. Zhang H, Shu D, Huang F, Guo P. Instrumentation and metrologia for single RNA counting in biological complexes or nanoparticles by a single-molecule dual-view system. *RNA*. 2007;13(10):1793-802.
25. Gavara N, Chadwick RS. Determination of the elastic moduli of thin samples and adherent cells using conical atomic force microscope tips. *Nat Nanotechnol*. 2012;7(11):733-6.
26. Saptarshi SR, Duschl A, Lopata AL. Interaction of nanoparticles with proteins: relation to bio-reactivity of the nanoparticle. *J Nanobiotechnol*. 2013;11:26.
27. Ramsden JJ. Experimental methods for investigating protein adsorption kinetics at surfaces. *Q Rev Biophys*. 1994;27(1):41-105.
28. Jorio A. Raman Spectroscopy in Graphene-Based Systems: Prototypes for Nanoscience and Nanometrologia. *ISRN Nanotechnology*. 2012; Article ID 234216. 16 p.
29. Paschoalino MP, Marccone GPS, Jardim WF. Os nanomateriais e a questão ambiental. *Quim Nova*. 2010;33:421-30.
30. Figueiredo M. Medição/deteção de nanopartículas suspensas no ar ambiente. *Enciclopédia Biosfera*. 2012;8(15):1845-65.
31. Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*. 2007;2(4):MR17-71.
32. Bar-Ilan O, Louis KM, Yang SP, Pedersen JA, Hamers RJ, Peterson RE, Heideman W. Titanium dioxide nanoparticles produce phototoxicity in the developing zebrafish. *Nanotoxicology*. 2012;6(6):670-9.
33. Wang F, Yu L, Monopoli MP, Sandin P, Mahon E, Salvati A, Dawson KA. The biomolecular corona is retained during nanoparticle uptake and protects the cells from the damage induced by cationic nanoparticles until degraded in the lysosomes. *Nanomedicine*. 2013;pii:S1549-9634(13)00182-2. [Epub ahead of print].
34. Bowman DM, Hodge GA. A Small Matter of Regulation: an international review of nanotechnology regulation. *Colum Sci Tech L Rev*. 2007;8(1):1-36.
35. Sargent JF. Nanotechnology: a policy primer. Washington, DC: Congressional Research Service; 2010.
36. Environmental Protection Agency. Nanoscale Materials Stewardship Program Interim Report [Internet]. Washington: EPA; 2009. [acesso em 30 jun. 2013]. Disponível em: <http://www.epa.gov/oppt/nano/nmsp-interim-report-final.pdf>.
37. European Commission. Towards a European Strategy for Nanotechnology: communication from the Commission COM (2004) 338 [Internet]. 2004. [acesso em 06 set. 2013]. Disponível em: ftp://ftp.cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/communication_presentation.pdf
38. European Commission. Commission Recommendation of 07/02/2008 on a Code of Conduct for Responsible Nanosciences and Nanotechnologies Research [Internet]. Brussels: EU; 2008. [acesso em 06 set. 2013]. Disponível em: http://ec.europa.eu/nanotechnology/pdf/nanocode-rec_pe0894c_en.pdf
39. Savolainen K, Backman U, Brouwer D, Fadeel B, Fernandes T, Kuhlbusch T, Landsiedel R, Lynch I, Pylkkänen L. Nanosafety in Europe 2015-2025: Towards Safe and Sustainable Nanomaterials and Nanotechnology Innovations [internet]. Helsinki: Finnish Institute of Occupational Health; 2013. [acesso em 10 jul. 2013]. Disponível em: http://www.ttl.fi/en/publications/Electronic_publications/Nanosafety_in_europe_2015-2025/Documents/nanosafety_2015-2025.pdf.
40. International Organization for Standardization. ISO/TR 12885: nanotechnologies - health and safety practices in occupational settings relevant to nanotechnologies. Geneva; 2008. 79p.
41. U. S. Food and Drug Administration. Draft Guidance for Industry, Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology [Internet]. 2011. [acesso em 07 nov. 2013]. Disponível em: <http://www.fda.gov/regulatoryinformation/guidances/ucm257698.htm>.
42. European Commission. REACH and nanomaterials [Internet]. 2011. [acesso em 09 jun. 2012]. Disponível em: http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/reach/nanomaterials/index_en.htm.



43. European Chemicals Agency. CLP [Internet]. 2012. [acesso em 15 ago. 2013]. Disponível em: <http://echa.europa.eu/regulations/clp>.
44. Organisation for Economic Co-Operation And Development. EHS research strategies on manufactured nanomaterials: compilation of outputs [Internet]. Paris: OECD, 2009. (OECD Environment, Health and Safety Publications, n. 9) [acesso em 26 maio 2013]. Disponível em: [http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2009\)10&doclanguage=en](http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2009)10&doclanguage=en).
45. Organisation for Economic Co-Operation And Development. Important issues on risk assessment of manufactured nanomaterials [Internet]. Paris: OECD, 2012. (OECD Environment, Health and Safety Publications, n. 33) [acesso em 10 abr. 2013]. Disponível em: [http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2012\)8&doclanguage=en](http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2012)8&doclanguage=en).
46. Brasil, Presidência da República, Casa Civil. Lei n. 9782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária e dá outras providências [Internet]. Brasília: Planalto; 2009 [acesso em 28 jan. 2013]. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9782compilado.htm.
47. RDC n.º 56, de 06 de abril de 2001. RDC: Resoluções da Diretoria Colegiada. [acesso em 01 ago. 2013]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Pos++Comercializacao++Pos++Uso/Tecnovigilancia/Assunto+de+Interesse/Legislacoes/Leis>.

Data de recebimento: 15/08/2013

Data de aceite: 19/11/2013