



Jornada  
Científica

do Instituto Nacional  
de Controle de  
Qualidade em Saúde

## **Fundação Oswaldo Cruz**

PRESIDENTE

Paulo Ernani Gadelha Vieira

## **Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**

DIRETOR

Eduardo Chaves Leal

VICE-DIRETOR DE GESTÃO E DESENVOLVIMENTO INSTITUCIONAL

Italo Cesar Kircove

VICE-DIRETOR DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA

Sérgio Luiz da Silva

VICE-DIRETORA DE PESQUISA, ENSINO E PROJETOS ESTRATÉGICOS

Isabella Fernandes Delgado

VICE-DIRETORA DE GESTÃO DA QUALIDADE

Vera Maria Machado

COORDENAÇÃO DE PESQUISA E ENSINO

Alicia Viviana Pinto

COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Katia Christina Leandro

BIBLIOTECA

Alexandre Medeiros Correia de Sousa

COORDENAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

Andréa Raed Gandra Pinto

## **III Jornada Científica do INCQS**

COMISSÃO ORGANIZADORA

Alicia Viviana Pinto

Andréa Raed Gandra Pinto

Giselle da Silva Custódio

Maria Goretti Sartori Tavares

Jessica Lagos de Sá

Joseania Maria Arruda de Melo

Katia Christina Leandro

Samela Ribeiro Barbosa

Silvana do Couto Jacob

COMISSÃO AVALIADORA

Albertina Antunes Werneck

Alicia Viviana Pinto

Alvaro Augusto da Costa Leitão

Ana Cristina Martins de Almeida Nogueira

Ana Luiza de Mattos Guaraldi

Armi Wanderley da Nóbrega

Kátia Christina Leandro

Lúcia Maria Corrêa Werneck

Luciano Procópio da Silva

Marcelo de Pádula

Paula Mello De Luca

Rodrigo Neto Costa

Sérgio Luiz da Silva

Silvana do Couto Jacob

Suely Aparecida Pimenta Fracalanza

Thiago Santana Novotny



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



# III Jornada Científica

do Instituto Nacional  
de Controle de  
Qualidade em Saúde

16 a 18 de setembro de 2014  
Rio de Janeiro

## **Equipe Editorial**

ORGANIZAÇÃO, EDIÇÃO E REVISÃO

Katia Christina Leandro

Alicia Viviana Pinto

Alexandre Medeiros Correia de Sousa

CAPA, PROJETO GRÁFICO E EDITORAÇÃO

Agência de Comunicação Chill Out

REVISÃO DOS ÍNDICES

Janaína Leal

Catálogo na fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Resumos da III Jornada Científica do Instituto Nacional de Controle de  
Qualidade em Saúde : 16 a 19 setembro 2014. Rio de Janeiro:  
INCQS, 2005.

68 p.: il. Inclui índice

ISBN 978-85-85043-07-0

1. Projetos de Pesquisa. 2. Academias e Institutos. 3. Congressos.  
I. Título.

**CDD 378.072**

# Sumário

**6** |

Apresentação

**7** |

Programa de Estágio  
Curricular (PEC)

**25** |

Programa de Vocação  
Científica (PROVOC)

**27** |

Programa Institucional  
de Bolsas de Iniciação  
Científica (PIBIC)

**33** |

Programa Institucional  
de Bolsa de Iniciação em  
Desenvolvimento Tecnológico  
e Inovação (PIBITI)

**44** |

Programa de Inovação  
Tecnológica (INOVATEC)

**48** |

Programa de Residência  
Multiprofissional em  
Vigilância Sanitária

**60** |

CNPq

**62** |

Índice por  
Aluno / Bolsista

**64** |

Índice por Orientador  
Co-Orientador  
Tutor / Preceptor

**66** |

Índice por Palavra-Chave

## APRESENTAÇÃO

Desde a sua criação, o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) esteve relacionado com atividades que geravam pesquisas. Com a criação do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária e seus respectivos cursos, as atividades em pesquisa foram tomando impulso e se tornando cada vez mais significativas. Assim, os projetos de pesquisa do INCQS adquiriram força própria e se consolidaram alinhados às atividades de ensino tanto *stricto* quanto *lato sensu*.

Hoje em dia as pesquisas geradas no INCQS também se relacionam com os Programas Institucionais de Bolsas Iniciação Científica, de Iniciação Tecnológica e Inovação, Programa de Vocação Científica, Programa de Estágio Curricular e de outros como os fomentados pelas bolsas CNPq e as do Programa de Inovação Tecnológica. A Jornada Científica do INCQS é o evento anual que tem como objetivo a divulgação destas atividades, tão importantes para o dia-a-dia do Instituto.

### **Coordenação de Pesquisa e Ensino**

*Instituto Nacional de Controle  
de Qualidade em Saúde*  
Fundação Oswaldo Cruz



**Programa de  
Estágio Curricular  
(PEC)**

## IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CORANTES ARTIFICIAIS EM DOCES EM PASTA

**Aluno:** Ana Carolina Rosa da Silva

**Orientador:** Leonardo Coutada

**Laboratório:** Núcleo de Alimentos, Microscopia e Métodos Rápidos

**Departamento:** Química

### RESUMO

Os corantes são aditivos alimentares, utilizados para realçar, recuperar, camuflar ou mesmo para tornar produtos mais atraentes para o consumidor. Atualmente são motivo de grande polêmica, a respeito de sua segurança para os consumidores. Grande parte dos produtos industrializados não tem cor original, ou a mesma é perdida total ou parcialmente nos processos de fabricação. Com o uso dos corantes em larga escala, é necessário o emprego de métodos rápidos e seguros para detecção, identificação e quantificação dos mesmos nos alimentos. Há estudos que determinam a presença dos corantes em alimentos nos quais não são permitidos, sem a quantificação dos mesmos. Como alguns alimentos são isentos de registro, é importante avaliar a segurança dos mesmos, identificando e quantificando a utilização destes aditivos. O objetivo deste trabalho foi identificar e quantificar corantes artificiais em amostras de doce de batata-doce vermelha. A extração do corante orgânico, foi feita em um béquer, colocando a amostra, água e cerca de 20 cm de um fio de lã natural branca tratada. Depois acrescentou-se algumas gotas de HCl 32% e deixou-se em banho maria até que ocorresse total impregnação do corante na lã, lavando a mesma com água destilada. Em seguida, em um béquer adicionou-se cerca de 0,5mL de NH<sub>4</sub>OH 28%. Depois, colocou-se etanol e em banho-maria até que a solução estivesse da cor da lã. Após isto, retirou-se a lã e esperou-se que o volume do líquido evaporasse até a metade. Para a identificação dos corantes, foi utilizada cromatografia em papel com três sistemas de eluentes diferentes. Os padrões utilizados para comparação foram E-110, E-124, E-123, E-129, E-127 e E-102. Para a quantificação do corante na amostra, entre 5g e 10g do doce foi pesado, e com uma solução de NH<sub>4</sub>OH 5% em etanol foi feita a extração, até que a amostra ficasse incolor. O líquido resultante foi filtrado e colocado em um balão volumétrico, completando o volume com a mesma solução. A amostra foi levada ao espectrofotômetro, utilizando de 550nm a 450 nm como faixa de comprimento de onda, e como branco a solução de NH<sub>4</sub>OH 5% em etanol. Pela cromatografia em papel, pode-se perceber a presença do corante amarelo-crepúsculo na amostra. A análise espectrofotométrica ratificou a presença do corante. Deste modo, encontrou-se a concentração estimada, que foi 0,018%. Porém, neste doce não é permitido a presença deste aditivo. Os resultados apontam que há a necessidade de intensificação de ações no controle da qualidade de corantes em alimentos, bem como maior fiscalização das empresas alimentícias.

**Palavras-Chave:** Corantes Artificiais; Cromatografia; Espectrometria UV/VIS

**e-mail:** acarolinarosa.16@gmail.com

# DISTRIBUIÇÃO E VARIABILIDADE GENÉTICA DE TRÊS COMPONENTES VACINAIS EM UMA COLEÇÃO DE LINHAGEM EPIDEMIOLOGICAMENTE RELEVANTES DE *NEISSERIA MENINGITIDIS* SOROGRUPO B E C ISOLADAS NA REGIÃO NE DE 2010 A 2013

**Aluno:** Andressa Diniz Vargas da Silva

**Orientador:** Ivano de Filippis

**Laboratório:** Micro-organismos de Referência. Setor de Bactérias e Arqueas

**Departamento:** Microbiologia

## RESUMO

A doença meningocócica (DM) é causada pela *Neisseria meningitidis* diplococo Gram-negativo que coloniza o trato respiratório superior do homem, seu único hospedeiro, podendo apresentar duas formas clínicas, a meningococemia e a meningite. A cápsula polissacarídica do meningococo permite a classificação do microrganismo em 13 sorogrupos, sendo 5 destes (A, B, C, Y e W135) causadores de mais de 90% dos casos de DM. Desta forma, nos últimos anos, estudos voltados ao desenvolvimento de uma vacina não polissacarídica capaz de cobrir estes 5 sorogrupos estão sendo desenvolvidos. No entanto a extensa variação antigênica que as proteínas de membrana externa do meningococo apresentam vêm dificultando seu desenvolvimento. A grande capacidade de adaptação do meningococo faz com que proteínas mais expostas, apresentem maior diversidade genética. Por outro lado, proteínas mais conservadas são geralmente pouco expostas e não interagem eficazmente com o sistema imune. Sendo assim, a solução seria conjugar numa mesma vacina, variantes antigênicas encontradas nos antígenos nadA, fHbp e NHBA. O objetivo principal deste estudo é analisar a variabilidade desses três antígenos que codificam a síntese de proteínas da membrana externa do meningococo. O estudo está sendo realizado no Laboratório de Micro-organismos de Referência do INCQS (LMR) que possui uma coleção de isolados de *N. meningitidis* obtidos de diferentes estados brasileiros, onde a determinação dos STs e os complexos clonais dos meningococo é realizada através do MLST. Foram selecionados 48 isolados do sorogrupo B e C com predominância dos genótipos C:P1.22,14,36-2 e B:P1.7-1,15,36 do período de 2010 a 2013. Destas, 67% apresentaram o antígeno fHbp, sendo 40% da variante 1 com prevalência de 84% do sorogrupo B e 47% da variante 2 com prevalência de 100% do sorogrupo C. Dos isolados que apresentaram o antígeno NadA (21%) 90% foram da variante 111 com prevalência de 88% do sorogrupo B e 10% da variante 47, com o sorogrupo B prevalente com 100%. Enquanto 60,5% apresentaram NHBA com 12 variantes diferentes. Os resultados obtidos mostram grande variabilidade da NHBA com variantes sorogrupo-específicas. A NadA apresentou baixa variabilidade e baixa ocorrência entre as cepas estudadas. A fHbp foi a proteína que apresentou menor diversidade genética e poderia ser um alvo importante em uma nova formulação vacinal.

**Palavras-Chave:** *Neisseria Meningitidis*; Doença Meningocócica; Vacina.

**e-mail:** dessa-diniz@hotmail.com

# METODOLOGIA PARA IDENTIFICAÇÃO DE HEPARINA E VERIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE CONDROETINA SUPERSULFATADA E DERMATAN SULFATADO

**Aluno:** Andreza Santos da Costa

**Orientador:** Claudia Maria da Conceição

**Laboratório:** Biológicos e Artigos e Insumos de Saúde. Setor de Imunobiológicos

**Departamento:** Química

## RESUMO

A heparina é um polissacarídeo oriundo da mucosa intestinal de suínos ou do tecido pulmonar bovino, porém não são fármacos equivalentes. Por se tratar de um produto de origem biológica, sua estrutura é bastante complexa e seu processo de isolamento e extração acarreta uma degradação parcial das cadeias glicosaminoglicanos (GAG) que a compõem, produzindo um fármaco composto por fragmentos de massas moleculares, variando de 3 a 30 mil Da. Após os processos de purificação, este medicamento recebe o nome de heparina convencional, cuja função é atuar na fase final da cascata de coagulação, por meio de dois mecanismos anticoagulantes diferentes: a inibição do fator Xa, ao ativar antitrombina e co-fator II da heparina; e a inibição direta da trombina, ambos impedem a conversão do fibrinogênio em fibrina. Outro fármaco comercialmente disponível é a heparina de baixo peso molecular (HBPM), produto da despolimerização química ou enzimática da heparina convencional, porém ainda existem controvérsias quanto aos seus reais efeitos biológicos, necessitando serem testadas individualmente para cada indicação clínica, assim como, a duração ideal do tratamento é desconhecida. Nos anos de 2007 e 2008, lotes suspeitos de heparina preocuparam as autoridades, com casos de óbito. Investigações apontaram que o produto em questão exibia contaminação com condroitina supersulfatada, que possui estrutura e atividade semelhantes à heparina, sendo de difícil detecção pelos métodos padrões farmacopeicos em vigor no período da crise. Além disso, outro GAG frequentemente encontrado na forma de impureza é o dermatan sulfatado. O grau de sulfatação presente em uma amostra de GAG, além de ser um fator crítico para seu bom funcionamento, não está somente relacionado à sua função biológica, mas também fornece informações sobre a qualidade da amostra e da presença de impurezas ou contaminantes. Um estudo dos grupos sulfos de GAG é necessário para o controle de qualidade e sendo assim, o objetivo deste trabalho é aferir a pureza e a integridade estrutural de heparinas comercializadas no Brasil, por técnicas cromatográficas. Diversos estudos empregaram métodos analíticos como a eletroforese capilar (CE), a qual não foi eficiente para quantificar as espécies encontradas e obteve uma resolução limitada, e a ressonância magnética nuclear (RMN), que mostra-se como uma instrumentação dispendiosa. Portanto, a literatura aponta a eficiência de ensaios utilizando a cromatografia de alta eficiência com troca iônica (CLAE), os quais são rápidos e sensíveis para a separação de heparina das demais GAGs. A interação ocorre com base no grau de sulfatação e possui sensibilidade inclusive para a detecção de pequenas doses de condroitina supersulfatada. Os resultados preliminares, com base na metodologia da Farmacopeia Americana (USP) demonstraram boa repetibilidade, com pequena oscilação no tempo de retenção, e boa resolução.

**Palavras-Chave:** Heparina; CLAE; Controle de Qualidade

**e-mail:** andreza\_costa07@ig.com.br

# DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE IDENTIFICAÇÃO DO GLICOCONJUGADO CRM-MenC POR ELISA EM VACINAS ANTIMENINGOCÓCICAS

**Aluno:** Camilla Oliveira de Souza

**Orientador:** Claudia Maria da Conceição

**Laboratório:** Biológicos e Artigos e Insumos em Saúde. Setor de Imunobiológicos

**Departamento:** Química

## RESUMO

A doença meningocócica é o termo utilizado para descrever síndromes clínicas associadas à infecção por *Neisseria meningitidis*, sendo uma das doenças infecciosas mais temidas devido à sua rápida progressão e alta letalidade. A infecção ocorre por meio de contato com secreções respiratórias ou por inalação de gotículas infecciosas e os sintomas mais comuns são rigidez na nuca, febre alta, sensibilidade à luz e dores de cabeça. A *N. meningitidis* é uma bactéria gram negativa e sua classificação em diferentes sorogrupos é baseada na composição do polissacarídeo capsular, sendo os principais A, B, C, Y e W-135. No Brasil, epidemias de doença meningocócica são relatadas desde 2005, apresentando letalidade em torno de 20% e apresentando maior incidência entre crianças menores de dois anos de idade e quase 40% dos casos ocorrem em crianças menores de 5 anos. Em 2010, o Ministério da Saúde introduziu a vacina antimeningocócica C no Programa Nacional de Imunizações (PNI), visto que a vacinação é a forma mais eficaz de combate à doença. Sendo assim, o controle de qualidade destes produtos é de suma importância e visa garantir que o mesmo não ofereça riscos à saúde da população. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo a implementação de uma nova metodologia para o controle de qualidade da vacina antimeningocócica C. A metodologia empregada foi o Ensaio com Imunoabsorvente ligado a Enzima (ELISA), o qual identifica o glicoconjugado CRM-MenC e foi baseado no dossiê do produtor Novartis. Este ensaio baseia-se na ligação covalente de uma enzima a um anticorpo específico, que reconhece o antígeno alvo. Caso este antígeno esteja presente, o complexo anticorpo-enzima se liga a ele e o componente enzimático do complexo catalisa a reação, gerando o produto corado, sendo a intensidade da cor gerada, proporcional à concentração do antígeno. No ELISA realizado neste trabalho, foi feito o recobrimento da placa com o anticorpo de captura Anti-coelho-MenC e em seguida, foi adicionada a amostra contendo o glicoconjugado CRM-MenC e a intensidade da coloração obtida foi medida em leitor de ELISA, no comprimento de onda 450x620 nm. Foram analisadas 48 amostras, no período entre agosto de 2013 e agosto de 2014 e em todas as amostras, foram obtidos resultados positivos, o que indica a presença do glicoconjugado CRM-MenC e reflete a consistência destas amostras. Além disso, foi elaborado um Procedimento Operacional Padrão, o qual é executado na rotina de análises do Laboratório de Biológicos, Artigos e Insumos em Saúde, no Instituto Nacional de Controle de qualidade em Saúde, demonstrando assim, a eficácia desta metodologia para o controle de qualidade de vacinas antimeningocócicas e complementando outras análises que atualmente são realizadas.

**Palavras-Chave:** *Neisseria meningitidis*; Vacina; Controle de Qualidade

**e-mail:** claudia.conceição@incqs.fiocruz.br

## DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO DE METODOLOGIA PARA ANÁLISE DE VACINA DE POLIOMIELITE - VIP

**Aluno:** Clarissa Fontes Lopes

**Orientador:** Claudia Maria da Conceição

**Laboratório:** Biológicos e Artigos e Insumos de Saúde. Setor de Imunobiológicos

**Departamento:** Química

### RESUMO

A poliomielite ou paralisia infantil é uma doença viral, causada por poliovírus e se subdivide em três sorotipos (1,2 e 3). Caracteriza-se por ser uma doença altamente contagiosa, afetando principalmente crianças menores de cinco anos de idade. A transmissão ocorre através de alimentos e água contaminados, sendo favorecida pela falta de higiene e saneamento básico e em geral, as pessoas infectadas não apresentam sintomatologia. No indivíduo, a multiplicação do vírus ocorre no intestino e ao alcançar a corrente sanguínea, pode invadir o sistema nervoso. Nesses casos, ocorre a destruição dos neurônios motores, provocando uma paralisia flácida, geralmente dos membros inferiores. Devido ao fato de não existir tratamento para a poliomielite, apenas a prevenção, a vacinação torna-se a forma mais eficaz de combate e erradicação da doença. Com isso, o Brasil em 1961, de forma a atuar no combate à poliomielite, iniciou a imunização de forma não sistemática, e em 1971, criou o Plano Nacional de Controle de Poliomielite. No país a vacina que vem sendo utilizada desde a década de 60 é a vacina oral – VOP, com o vírus atenuado, contendo os três sorotipos. Estudos apontam que a imunização gera uma memória imunológica, prolongando sua duração. Além disso, o contato com indivíduos vacinados é capaz de induzir imunidade àqueles que não receberam a vacina. Apesar das inúmeras vantagens da VOP, alguns eventos indesejáveis podem ocorrer pelo fato da vacina conter o vírus atenuado. Dessa forma, foi implantada desde 2012, a vacina inativada da poliomielite – VIP. Diante deste contexto, a vigilância sanitária de vacinas apresenta uma grande importância no cenário nacional e internacional. No Brasil, todas as vacinas utilizadas pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI), são analisadas pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS). Um dos objetivos principais do PNI é oferecer todas as vacinas, definidas como prioridade do SUS, com qualidade a todas as crianças que nascem anualmente em nosso país, tentando alcançar coberturas vacinais de 100% de forma homogênea, desta forma o objetivo do trabalho é desenvolver e implementar a metodologia de dosagem de proteínas em vacinas VIP. A metodologia empregada se baseia na reação colorimétrica das proteínas, em meio alcalino, com o reagente de Folin e obtenção de um complexo com absorção máxima em 760 nm. Os resultados obtidos demonstraram que o método em desenvolvimento é robusto e eficaz, podendo ser implementado no controle lote a lote de vacinas VIP no INCQS. Os estudos de validação estão em fase de conclusão e o Procedimento Operacional Padrão em fase de elaboração.

**Palavras-Chave:** Poliomielite; Espectrofotometria; Controle de Qualidade

**e-mail:** clarissa.fontes@hotmail.com

# AVALIAÇÃO DA LETALIDADE DE DIFERENTES DOSES DE DESAFIO DE VENENO BOTRÓPICO PARA O TESTE DE POTENCIA DO SORO ANTIBOTRÓPICO

**Aluno:** Fabio Porto Reis Lucas

**Orientador:** Maria Aparecida Affonso Boller

**Laboratório:** Vacinas Bacterianas e Soros Hiperimunes. Setor de Soros Antipeçonhentos

**Departamento:** Imunologia

## RESUMO

Acidentes por animais peçonhentos, em especial os causados por serpentes, constituem um problema de grande importância na saúde pública, dada a larga distribuição desses animais em vários continentes. Envenenamentos por animais peçonhentos foram a segunda maior causa de intoxicações no Brasil em humanos no ano de 2010, segundo o Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas. O acidente Botrópico corresponde ao acidente ofídico de maior importância epidemiológica no país, pois é responsável por mais de 70% dos envenenamentos. O tratamento específico é a Soroterapia, um passo fundamental na terapêutica adequada dos pacientes picados por serpentes. Os soros antibotrópicos para uso humano utilizados no Brasil são produzidos pelo Instituto Butantan, Instituto Vital Brazil, Fundação Ezequiel Dias e Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos. A determinação da potência do Soro Antibotrópico é a capacidade neutralizante do soro contra o efeito letal do Veneno Botrópico de Referência. A potência do Veneno Botrópico de Referência é expressa em DL50, ou seja, a quantidade de veneno, em µg por dose (0,5 mL) capaz de matar até 50% dos animais inoculados. A Farmacopeia Brasileira, 2010 preconiza a utilização de 5 DL50 como dose desafio para a determinação da potência do Soro Antibotrópico. A partir de 1987 o INCQS – Laboratório Oficial de Controle e os laboratórios brasileiros produtores de Soro Antibotrópico, passaram a utilizar o Veneno Botrópico de Referência Nacional na determinação da potência do Soro Antibotrópico. Desde então, foram produzidos pelo Instituto Butantan cinco lotes de Veneno Botrópico de Referência. No ano de 2002 foi fornecido o Lote BRA/BOT/005, atualmente em uso. Foi realizado um estudo colaborativo entre o INCQS e os laboratórios produtores que determinou a potência deste lote em 40,29 µg/0,5 mL. No presente estudo foi avaliada a letalidade em camundongos de diferentes concentrações de Veneno Botrópico de Referência (1 DL50 a 7DL50), com o intuito de obter dados para uma possível alteração da dose desafio que preconiza a Farmacopeia Brasileira. Foram feitos quatro ensaios com as diferentes concentrações de doses letais em momentos distintos. Para cada ensaio foram utilizados dez animais por dose e todos os ensaios foram realizados em camundongos suíço-álbinos pesando de 18 a 22 gramas. A média dos resultados da letalidade das diferentes concentrações de doses letais do veneno botrópico expressos em percentagem foram as seguintes: 1 DL50 = 70%; 2 DL50 = 95%; 3 DL50 = 100%; 4 DL50 = 90%; 5 DL50 = 92,5%; 6 DL50 = 95%; 7 DL50 = 95%. Notamos que na concentração de 3 DL50 obtivemos 100% de letalidade nos quatro ensaios realizados. Esses resultados nos levam a acreditar que seja possível reduzir a quantidade de veneno utilizada como dose desafio nos ensaios de potência do Soro Antibotrópico – de 5 DL50 para 3 DL50. Como perspectiva, haverá a realização de repetições desse ensaio com a participação do INCQS e dos laboratórios produtores para garantirmos um maior número de resultados confiáveis.

**Palavra-Chave:** Veneno Botrópico; Dose Desafio; Soro Antibotrópico

**e-mail:** fabiporto.vet@gmail.com

## **AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA E DA EXPRESSÃO DA ADESINA NADA DE ISOLADOS DE *NEISSERIA MENINGITIDIS* NO BRASIL. IMPLICAÇÕES NA PRODUÇÃO DE VACINAS CONTRA O SOROGRUPO B.**

**Aluno:** Gabriela Caramano de Oliveira

**Orientador:** Ivano de Filippis

**Laboratório:** Micro-organismos de Referência. Setor de Bactérias e Arqueas

**Departamento:** Microbiologia

### **RESUMO**

A *Neisseria meningitidis*, ou meningococo, é uma bactéria Gram-negativa, com em forma de diplococos, causadora da Doença Meningocócica e apresenta duas formas clínicas: a meningite e a meningococemia, causando febre alta, fortes dores de cabeça, vômitos, rigidez no pescoço, manchas na pele, coma, e podendo levar rapidamente ao óbito. O meningococo coloniza o trato respiratório superior do homem, seu único hospedeiro, sendo transmitido através de secreção respiratória. O líquido cefalorraquidiano (LCR) e o sangue são preferencialmente utilizados para o diagnóstico e o tratamento é realizado através da administração de antibióticos e como método profilático, a vacinação é o método de escolha. A vacina Meningocócica C Conjugada já faz parte do calendário de vacinação, porém não é eficaz para os casos causados por linhagens do sorogrupo B pois a estrutura por causa de estrutura do polissacarídeo que é semelhante à estruturas da superfície de células nervosas humanas. A *N. meningitidis* é classificada em 13 sorogrupos de acordo com a composição química dos polissacarídeos capsulares, sendo os mais frequentes A, B, C, Y e W-135. No Brasil desde 2011, vem ocorrendo o aumento da incidência do sorogrupo B e com isso foi desenvolvida uma estratégia alternativa chamada Vacinologia Reversa, que utiliza a bioinformática para detectar proteínas-alvo a serem utilizadas em vacinas com maior eficácia. A Adesina NadA é uma proteína de membrana externa, conservada, capaz de induzir a produção de anticorpos bactericidas. Encontra-se ancorada na membrana externa do meningococo com estrutura espiralada que se projeta para fora da célula bacteriana e está presente em todos os sorogrupos. O gene *nadA* que codifica a síntese desta proteína vem sendo alvo de estudos, considerando que a presença do gene em uma cepa não é garantia da expressão da proteína. Este trabalho tem como objetivo estudar a diversidade genética do gene *nadA* e sua expressão entre isolados de meningococos dos sorogrupos B e C de diferentes complexos clonais. A utilização do RT-PCR tendo como alvo o mRNA dos isolados, revela se a linhagem expressa o gene *nadA*, sendo posteriormente detectado por PCR convencional a partir do cDNA produzido pela RT-PCR. Das 127 cepas analisadas até o momento, o gene *nadA* foi amplificado em 23 amostras. Entre as cepas do sorogrupo B, 54% apresentam o gene *nadA*, sendo esse o grupo com maior incidência. A divisão do gene *nadA* pelos anos analisados apresentou mesma frequência nos anos de 2010 (19%) e 2013 (19%), menor em 2011 (15%) e no ano de 2012 a ocorrência foi maior (21%).

**Palavras-Chave:** *Neisseria Meningitidis*; Adesina NadA; Expressão Gênica

**E-mail:** gabriela.caramano@hotmail.com

## **BOLSAS DE SANGUE: UM PROJETO DE IMPACTO REGULATÓRIO COM ENFOQUE NO CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DO PRODUTO**

**Aluno:** Gleyce Carolina Santos Cruz

**Orientador:** Michele Feitoza Silva

**Co-orientador:** Anna Maria Barreto Silva Fust e Renata de Freitas Dalavia Vale

**Laboratório:** Biológicos e Artigos e Insumos de Saúde. Setor de Artigos e Insumos de Saúde

**Departamento:** Química

### **RESUMO**

As bolsas de sangue são produtos de alta complexidade, classificados como produtos de Risco III e se destinam a coletar, identificar, armazenar, fracionar e transferir o sangue de forma eficiente e segura. O regulamento técnico vigente até junho de 2014, publicado em 1998, direcionava regras de controle da qualidade específico para as bolsas de sangue. A Portaria nº 950/MS/SVS, de 26 de Novembro de 1998, fixava condições exigíveis para bolsas plásticas de sangue com ou sem soluções anticoagulantes e/ou preservadoras. As soluções podem ser do tipo CPD, CPDA, ACD ou SAG-M. Existem também as bolsas sem solução, que são utilizadas para fracionamento/armazenamento das frações do sangue. A referência nacional para análises deste produto é o INCQS, uma unidade técnico-científica da FIOCRUZ, inserido no SNVS e responsável pelas análises prévias ao registro e controle destes produtos. Em relação ao controle físico-químico, o INCQS realizou um estudo de aproximadamente 8 anos, onde as metodologias da Portaria 950/1998 foram revisadas, otimizadas, e apresentadas em reuniões técnicas e regulatórias. Este trabalho propiciou a publicação da Resolução RDC Nº 35, de 12 de Junho de 2014 da ANVISA. O objetivo deste estudo foi avaliar as alterações apresentadas na legislação vigente em relação ao regulamento técnico de 1998 evidenciando o avanço técnico proposto pelo INCQS. Além disso, buscou-se também observar quais ensaios não são passíveis de serem realizados hoje em caráter de análise fiscal. Realizou-se uma revisão bibliográfica das metodologias preconizadas para o controle de qualidade físico-químico das bolsas de sangue e comparou-se as metodologias recomendadas pelo regulamento técnico vigente, realizado no INCQS, preconizado pela Portaria 950/1998 e pelos compêndios oficiais – Farmacopéia Européia, Farmacopéia Americana, Farmacopéia Brasileira e Farmacopéia Japonesa, conforme o tipo de bolsa. Posteriormente, foram descritas as metodologias e técnicas recomendadas pela legislação vigente, (Resolução RDC Nº 35/2014), fazendo um contraste com os equipamentos existentes no INCQS e, portanto, passíveis de execução. O estudo evidencia a importância do INCQS na publicação da nova Resolução sobre bolsas de sangue e serve de base para as propostas de projetos vinculados ao NT-AIS/INCQS e, conseqüente, implementação de novas metodologias e aquisição de novos equipamentos necessários. A inserção do INCQS no âmbito regulatório reitera a importância de um SNVS coeso e integrado sempre visando produtos seguros e eficazes.

**Palavras-chave:** Bolsas de Sangue; Controle de Qualidade; Legislação Sanitária

**e-mail:** carolinasantosrj25@gmail.com

## O TESTE DE PIROGÊNIO NO CONTROLE DA QUALIDADE DE PRODUTOS INJETÁVEIS

**Aluno:** Hilton Felix da Silva

**Orientador:** Octavio Augusto França Presgrave

**Laboratório:** Toxicologia. Setor de Pirogênio, LAL e Irritação

**Departamento:** Farmacologia e Toxicologia.

### RESUMO

Todos os produtos injetáveis de uso humano que se encontram no mercado devem ser livres de pirogênio. O teste de pirogênio em coelhos é um ensaio de segurança toxicológico essencial no controle da qualidade de medicamentos biológicos, hemoderivados e dispositivos médicos. Embora existam métodos alternativos preconizados nas Farmacopeias, como o teste de Endotoxina Bacteriana e o Teste de Ativação de Monócitos, nenhum deles é considerado como substituto do teste em coelhos. Portanto, o teste in vivo continua a ser o método de escolha, principalmente para produtos biológicos. Além das análises dos produtos também são realizadas curvas dose-resposta periódicas para testar a sensibilidade dos animais e garantir a detecção de possíveis contaminantes na dose limite de febre (1 ng/mL). O objetivo foi capacitar o bolsista, na área específica do teste de pirogênio através da realização de uma curva dose-resposta. O teste de pirogênio foi realizado seguindo a monografia da Farmacopéia Brasileira com coelhos da raça Nova Zelândia fornecidos pelo Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL) da FIOCRUZ. O teste fundamenta-se na medida do aumento de temperatura corporal, após injeção intravenosa da solução em análise, onde foi medida a temperatura retal dos animais a intervalos de 30 minutos, por um período de 3 horas (Software PyroMon versão 2.95). Foi utilizado como estímulo pirogênico LPS de E.coli (sorotipo O55:B5) nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 ng/mL. Os resultados mostraram que não houve elevação de temperatura do grupo controle nem nos animais que receberam a dose não pirogênica de 0,5 ng/mL/kg. A resposta de febre foi observada a partir da concentração limite de 1 ng/mL/kg (VIT= média  $\pm$  erro padrão), demonstrando a sensibilidade esperada. Como perspectivas o bolsista deverá realizar curvas dose-resposta com outros pirógenos não endotoxina, como por exemplo o Zymosan, visando futuras comparações com resultados obtidos nos métodos in vitro também estudados no Setor de Pirogênio.

**Palavras-Chave:** Teste de Pirogênio; Curva Dose-Resposta; Controle de Qualidade

**e-mail :** hiltonnfs@yahoo.com.br

## ESTABELECIMENTO DE VACINA TRÍPLICE VIRAL COMO REFERÊNCIA DE TRABALHO

**Aluno:** Júlia Trece Marques

**Orientador:** Jarbas Emílio dos Santos

**Laboratório:** Vacinas Virais e Cultura de Células. Setor de Vacinas Virais

**Departamento:** Imunologia

### RESUMO

Desde a primeira vacina criada em 1796, por Edward Jenner. Seguida da vacina contra raiva, descoberta por Louis Pasteur em 1885. A vacinação tem sido a maneira mais eficaz de prevenção contra uma doença. O Brasil tem evoluído nessa área, especialmente com a criação do Programa Nacional de Imunizações (PNI) do Ministério da Saúde, em 1973, que vem garantindo o acesso gratuito da população aos vários tipos de vacinas. Dentre as vacinas oferecidas à população, está a vacina tríplice viral, contra sarampo, caxumba e rubéola. Os ingredientes ativos desta vacina são os vírus vivos atenuados do sarampo (cepa Schwarz) e da caxumba (cepa RIT 4385 derivada da cepa Jeryl-Lynn) produzidos em ovos embrionados de galinha e da rubéola (cepa Wistar RA27/3) produzido em célula diploide (MRC-5). Para garantir a qualidade destas vacinas, antes que elas sejam ofertadas a população, é necessária a realização de testes para um rigoroso controle de qualidade, o qual o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) é responsável. Dentre os testes preconizados pela Farmacopeia Brasileira (FB), está o teste de potência, que é um teste de suma importância, uma vez que está relacionado com a eficácia da vacina. Em cada teste deve ser incluída uma vacina de referência, a qual deve ter suas características conhecidas e seu título e limites de confiança estabelecidos. A referência de trabalho deve ser rastreável a uma referência internacional, e se destinam ao uso em ensaios rotineiros a fim de validação destes. Diante disso o objetivo do nosso trabalho foi estabelecer uma nova vacina tríplice viral como referência de trabalho. O lote da vacina candidata foi submetido a ensaios para a sua caracterização. Os ensaios de potência foram executados através da metodologia CCID50, conforme preconizado na FB. Foram realizados 4 ensaios independentes, em cada ensaio foram usados 5 frascos da vacina candidata, frente a uma amostra da referência de trabalho atual. Os resultados obtidos foram plotados no software SPC Explorer onde foi calculada a média e os limites de confiança. Todos os ensaios foram considerados válidos e satisfatórios. A média para o componente sarampo foi 3,80 e os limites 3,50 a 4,09, para caxumba a média foi 4,88 e os limites 4,51 a 5,24 e para rubéola a média foi 3,71 e os limites 3,53 a 3,89. O lote candidato pode ser utilizado como referência de trabalho nos testes de potência para os componentes sarampo, caxumba e rubéola, até expirar o prazo de validade e/ou terminar o estoque de frascos de referência de trabalho em uso.

**Palavras-Chave:** Referência de Trabalho; Vacinas; Tríplice Viral

**e-mail:** juhtrece@gmail.com

## COMPARAÇÃO DE DIFERENTES PONTOS DE CORTE PARA O MÉTODO ALTERNATIVO TOBI FRENTE O TESTE DE SORONEUTRALIZAÇÃO EM CAMUNDONGOS PARA DETERMINAÇÃO DA POTÊNCIA DE SOROS ANTITETÂNICOS

**Aluno:** Kelly Oliveira Santos

**Orientador:** Andréa Pereira Larangeira

**Laboratório:** Vacinas Bacterianas e Soros Hiperimunes. Setor de Vacinas Bacterianas

**Departamento:** Imunologia

### RESUMO

O Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) realiza o controle da qualidade dos imunobiológicos distribuídos pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI). Para assegurar a potência dos soros hiperimunes antitetânicos (SAT) é realizado o teste de soroneutralização (SN), através da inoculação da mistura de SAT e toxina tetânica em camundongos, conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira (FB). Para a realização desse teste, utiliza-se no instituto mais de 1.500 animais por ano. Baseado no princípio dos 3 R's (reduction, replacement, refinement), o teste de Inibição da Ligação da Toxina (ToBI) tem se mostrado uma alternativa para a substituição da metodologia tradicional in vivo. No entanto, a fim de ser validado, o ToBI deve apresentar uma boa correlação com o ensaio in vivo. Nesse estudo, tivemos como objetivo estabelecer e comparar diferentes pontos de corte no ToBI, baseados: a) no valor preconizado pela FB para o método tradicional; b) na correlação entre os resultados dos testes ToBI e SN; c) e na razão entre os resultados declarados pelos produtores oficiais e os valores obtidos no ToBI. Para isto, foram utilizadas 57 amostras de SAT com diferentes potências, cadastradas no INCQS entre os anos de 2010 e 2013, oriundas, respectivamente, de três produtores nacionais. Cada lote foi testado separadamente e a média de, no mínimo, três resultados válidos no ToBI ( $CV < 20\%$ ) foi comparada com o resultado in vivo. Foram confeccionadas tabelas de contingência para avaliar a aplicabilidade dos diferentes pontos de corte no ToBI. Nossos resultados mostraram que, com base na correlação entre os métodos estudados ( $r=0,96$ ), o ponto de corte obtido da Equação de Regressão Linear Simples forneceu os índices mais representativos para o teste in vitro (especificidade=100%; sensibilidade=96,3%). Estes resultados indicam que a escolha de um ponto de corte adequado garante que o ToBI seja uma alternativa promissora para o controle da potência do SAT e corroboram para a continuidade desse estudo. Dessa maneira, a utilização do método alternativo proporcionaria uma economia na demanda de animais e melhor garantia da qualidade na liberação de resultados de potência do soro.

**Palavras-Chave:** Métodos Alternativos; Soro Antitetânico; Pontos de Corte

**e-mail:** andrea.larangeira@incqs.fiocruz.br

# AVALIAÇÃO REGULATÓRIA DE AGULHAS HIPODÉRMICAS NO BRASIL E SUA INSERÇÃO NO ÂMBITO DA TECNOVIGILÂNCIA

**Aluno:** Lívia Bretas Bittencourt

**Orientador:** Michele Feitoza Silva

**Co-orientador:** Anna Maria Barreto Silva Fust e Renata de Freitas Dalavia Vale

**Laboratório:** Biológicos, Artigos e Insumos de Saúde. Setor de Artigos e Insumos de Saúde

**Departamento:** Química

## RESUMO

As agulhas hipodérmicas são compostas por cânula de aço inox, com um bisel em uma das extremidades, firmemente ligada a um canhão, geralmente de plástico, que consiste em uma conexão que permite acoplar a agulha às seringas hipodérmicas. São artigos médico hospitalares classificados como produtos de classe II, que oferecem médio risco à saúde de seus usuários e estão entre os 5 produtos com maior prevalência em notificações no NOTVISA. O grande número de notificações de queixas técnicas, a realização do programa de análise de produtos do INMETRO (2009) e outros estudos científicos contribuíram para a publicação da Resolução RDC nº 5, de 4 de fevereiro de 2011 (ANVISA) que estabelece os requisitos mínimos de identidade e qualidade para agulhas hipodérmicas e agulhas gengivais e da Portaria n.º 501, de 29 de dezembro de 2011 (INMETRO), que visa estabelecer regras equânimes e de conhecimento público para os segmentos de fabricação, importação e comercialização destes produtos. As duas legislações consagraram a certificação metrológica compulsória deste produto que antes era submetido a ANVISA para registro através de uma tramitação documental baseada em uma legislação ampla e inespecífica. O trabalho tem por objetivo demonstrar o avanço regulatório da última década comparado aos anos anteriores, para um produto que possui citações de uso remoto (século XVII), além de subsidiar um estudo inicial para um projeto de mestrado sobre a qualidade do aço inox utilizado na fabricação das cânulas destas agulhas e um projeto de qualificação que irá propor um Programa para o controle da qualidade de agulhas hipodérmicas no Brasil. As legislações utilizadas foram acessadas em sites oficiais ([www.camara.leg.br](http://www.camara.leg.br) e [www.saude.gov.br/saudelegis](http://www.saude.gov.br/saudelegis)) e proporcionaram esquematizar um painel cronológico regulatório das agulhas hipodérmicas no contexto dos produtos para saúde. A avaliação demonstrou que a inespecificidade regulatória contribui para a ausência de quesitos rígidos no controle da qualidade de produtos de âmbito sanitário e, também demonstra a importância da última década para os produtos para saúde. Especificamente para os artigos médicos temos que, particularidades do projeto precisam estar contemplados no regulamento técnico idealmente, contribuindo para a tecnovigilância e racionalidade das ações sanitárias. O estudo e os desdobramentos propostos reiteram a importância do laboratório oficial dentro do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS).

**Palavras-Chave:** Agulhas Hipodérmicas; Tecnovigilância; Legislação Sanitária

**e-mail:** [bretaslivia@gmail.com](mailto:bretaslivia@gmail.com) / [livia.bittencourt@incqs.fiocruz.br](mailto:livia.bittencourt@incqs.fiocruz.br)

## CARACTERIZAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE AMOSTRAS BACTERIANAS AMBIENTAIS E COMUNITÁRIAS AOS ANTIBIÓTICOS

**Aluno:** Luiza Vasconcellos

**Orientador:** Célia Maria Carvalho Araújo Pereira Romão

**Laboratório:** Microbiologia de Alimentos e Saneantes. Setor de Saneantes

**Departamento:** Microbiologia

### RESUMO

Um dos maiores problemas de saúde pública, atualmente, tem sido o aumento da resistência aos antimicrobianos, entre os microrganismos que causam infecções hospitalares e comunitárias. Porém, a maioria das pesquisas tem como foco o estudo de resistência em hospitais e são poucos os estudos sobre amostras provenientes da comunidade e de efluentes domésticos. O objetivo deste projeto é avaliar o perfil de susceptibilidade aos antibióticos de *Escherichia coli* e *Klebsiella sp* comunitárias e ambientais provenientes do Rio de Janeiro, a fim de verificar se existem cepas microbianas resistentes sendo disseminadas através do meio ambiente e presentes em indivíduos saudáveis. A obtenção de cepas comunitárias de *E. coli* e *Klebsiella sp* será feita a partir de fezes de indivíduos adultos, saudáveis. Os voluntários fornecerão o material em swabs em meio de Stuart, codificados de forma a não permitir a identificação do indivíduo. Serão obtidos ainda os dados quanto ao sexo e idade. Os swabs serão semeados nos meios de cultura eosina azul de metileno (EMB) e ágar MacConkey, com incubação a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 h. Cepas de *E. coli* e *Klebsiella sp* do meio ambiente estão sendo obtidas a partir de amostras de efluentes doméstico e estações de tratamento de esgoto. Alíquotas dessas amostras são semeadas em caldo infusão cérebro coração (BHI), em meios de cultura com neutralizantes (caldo Lethen/Meio Dey/Engley), e nos meios de cultura EMB e ágar MacConkey, com incubação a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 a 48 h. As colônias sugestivas de *Klebsiella sp* e *E. coli* isoladas estão sendo semeadas em ágar caseína soja (TSA), identificadas bioquimicamente pelo método convencional e crio-preservedas a  $-70^\circ\text{C}$ , em caldo caseína soja com 15% de glicerol. O teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSAn) está sendo realizado pelo Método de difusão acrescidos de discos com antibióticos, segundo Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), com 20 antibióticos de diferentes classes. Já foram coletadas, até o momento, 7 amostras de efluentes e identificadas como: *E. coli* (7), *Klebsiella pneumoniae* (4) e *Klebsiella oxytoca* (1). Detectou-se cepas resistentes a trimetoprim/sulfametoxazol, norfloxacin, ciprofloxacina, ampicilina, tetraciclina, cefuroxima, cefazolina, cefalotina. Os dados obtidos poderão colaborar para ações de vigilância em saúde no âmbito sanitário e ambiental.

**Palavras-chaves:** *Escherichia coli*; *Klebsiella sp.*; Resistência a Antibióticos

**email:** luiza.vasconcellos@incqs.fiocruz.br

## TESTE DE ATIVAÇÃO DE MONÓCITOS (MAT): IDENTIFICAÇÃO DE MONOGRAFIAS RECOMENDADAS PARA O TESTE DE PIROGÊNIO EM COELHOS E O ENSAIO DE ENDOTOXINA BACTERIANA COMO UM PANORAMA INICIAL PARA DEMONSTRAR A APLICABILIDADE DO MAT

**Aluno:** Mayara Jhesikaline da Cruz Barreto

**Orientador:** João Carlos Borges Rolim de Freitas

**Laboratório:** Toxicologia. Setor de Pirogênio, LAL e Irritação

**Departamento:** Farmacologia e Toxicologia

### RESUMO

A contaminação pirogênica de produtos injetáveis pode ser considerada um problema de saúde pública podendo causar febre, alterações vasculares, choque pirogênico e morte. Em 2010, o MAT foi preconizado pela Farmacopeia Europeia para avaliar este tipo de contaminação. Este teste é baseado no mesmo princípio do ensaio em coelhos (RPT- rabbit pyrogen test), ou seja, no mecanismo da febre, só que quantificando mediadores inflamatórios. Apesar de promissor este teste não foi considerado um substituto do RPT por algumas ressalvas feitas pelo ICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods). Um dos principais problemas reside na falta de dados que sustentem a capacidade do MAT para detectar pirogênios em um número suficiente de produtos farmacêuticos, biológicos e dispositivos médicos que não foram considerados no processo de validação. O objetivo deste estudo foi identificar todos os produtos avaliados pelos métodos oficiais (RPT e LAL-Lisado de Amébócitos do Limulus) nas farmacopeias como um panorama inicial dos produtos que devem ser aplicáveis no MAT. Foi realizado um levantamento dos dados nas Farmacopéias Americana (USP), Européia (eur.Ph.) e Brasileira (Braz.Ph.) que incluíram todas as monografias preconizadas para o RPT e/ou LAL incluindo produtos farmacêuticos, biológicos e dispositivos médicos. Foram encontrados para o RPT: 20 Monografias na USP, 37 na eur.Ph. e 32 na Braz.Ph. No caso do LAL foram encontradas 619 Monografias na USP, 157 na eur.Ph. e 48 no Braz.Ph. Somente três produtos foram em comum nas três farmacopeias. Tanto o RPT quanto o LAL foram recomendados por 6 Monografias na Braz.Ph. e 15 na eur.Ph. sendo permitido escolher qual o teste deve ser aplicado dependendo da legislação de cada País. Na Braz.Ph, a maioria dos produtos recomendados são biológicos, de modo que, estes produtos devem ser os primeiros a serem testados para a aplicabilidade MAT desde que são testados principalmente por RPT.

**Palavras-Chave:** MAT; Farmacopéias; Pirogênio

**e-mail:** joão.freitas@incqs.fiocruz.br

## CONSTRUÇÃO DE BANCO DE DADOS COM INFORMAÇÕES SOBRE LABORATÓRIOS QUE DETECTAM / QUANTIFICAM RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA, ALIMENTOS E METABÓLITOS EM MATRIZES BIOLÓGICAS

**Aluno:** Tatiany Teles Ferreira

**Orientador:** Sergio Luiz da Silva

**Co-orientador:** Karen Friedrich

**Laboratório:** Toxicologia. Setor de Ensaios Toxicológicos

**Departamento:** Farmacologia e Toxicologia

### RESUMO

Em 2008, o Brasil tornou-se o maior consumidor mundial de agrotóxicos, favorecendo a contaminação do ambiente e pessoas e resultando em severos impactos sobre a saúde pública, a segurança e soberania alimentar e a nutrição da população. Esta preocupação é corroborada por estudos científicos que associam a exposição crônica a agrotóxicos a efeitos importantes como cânceres, malformação congênita, distúrbios endócrinos, neurológicos e mentais. Nesse contexto, exerce papel fundamental o resultado da avaliação laboratorial, pois representa o amparo técnico-científico legal necessário para que as ações adotadas sejam efetivas. Além disso, informações sobre os níveis de resíduos presentes na água, alimentos vegetais e industrializados, carnes e leite subsidiam a avaliação do risco para a saúde humana realizado no momento do registro pela autoridade regulatória. O presente estudo tem como objetivo construir um banco de dados a ser alimentado com informações sobre laboratórios nacionais que possuem metodologia acreditada, i.e., que sejam capazes de liberar resultados confiáveis sobre a detecção/ quantificação de resíduos de agrotóxicos e seus metabólitos em diversas matrizes alimentares, ambientais e biológicas. Foram pesquisadas páginas de organizações que congregam laboratórios de ensaios que trabalham com questões relacionadas a agrotóxicos (e.g., MAPA, REBLAS e INMETRO), utilizando palavras-chave como agrotóxicos, pesticida e defensivos agrícolas. A partir destas páginas serão inseridas as informações dos laboratórios identificados e que possuem capacidade analítica instalada. As informações obtidas servirão para alimentar o banco com dados sobre a posição geográfica do laboratório, o produto/matriz analisado, o ingrediente ativo (IA), com seu respectivo grupo químico (GQ), os grupos de ensaios ou de métodos analíticos utilizados e os limites de detecção e quantificação. A correlação entre IA e GQ será realizada através da pesquisa em páginas oficiais nacionais (ANVISA, Agrofit / MAPA) ou internacionais (EPA, PubChem / NCBI). Este estudo pretende fornecer informações sobre os laboratórios nacionais que possuem capacidade analítica instalada para a questão de agrotóxicos e que possam ser utilizadas por gestores que atuem em Saúde Pública, no que se refere a otimização dos recursos, culminando em resposta mais eficiente e ágil.

**Palavras-Chave:** Agrotóxicos; Laboratório; Saúde Pública

**e-mail:** tatiferreira-27@hotmail.com

# APLICAÇÃO DE BIOMARCADORES DE POLUIÇÃO FECAL HOSPEDEIRO-ESPECÍFICOS EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS

**Aluno:** Thaís dos Santos

**Orientador:** Maysa Beatriz Mandetta Clementino

**Co-orientador:** Kayo Cesar Bianco Fernandes

**Laboratório:** Micro-organismos de Referência. Setor de Bactérias e Arqueas

**Departamento:** Microbiologia

## RESUMO

A contaminação de corpos hídricos por material fecal é uma das principais causas de doenças entéricas no mundo. Atualmente os coliformes totais e termotolerantes são utilizados para monitoramento da qualidade da água, porém estes indicadores não permitem a identificação do organismo-fonte da contaminação, o que vem levantando questionamentos sobre sua eficiência. O rio Guandu, no Estado do Rio de Janeiro é considerado o principal curso d'água da bacia hidrográfica Guandu, que responde pelo abastecimento de água na região metropolitana do Rio de Janeiro. No entanto, suas águas vêm sendo poluídas por resíduos industriais, esgoto doméstico, entre outros. Organismos da ordem Bacteroidales vêm sendo apontados como bioindicadores alternativos ao grupo coliforme, uma vez que possuem a capacidade de indicar a fonte da contaminação fecal. O objetivo principal deste estudo foi à aplicação de biomarcadores hospedeiro-específico na detecção de contaminação fecal de ruminantes domésticos, suínos, equinos e humanos para a avaliação da qualidade de 10 pontos da bacia hidrográfica do rio Guandu, bem como da água tratada na Estação de Tratamento de Águas Guandu (ETAG). Até o momento, foram coletados 5 litros de águas de três pontos do rio Guandu e em seguida foram verificados os parâmetros físico-químicos e microbiológicos. A seguir, as amostras foram concentradas por filtração, o DNA total foi extraído, purificado e dosado para realização da PCR. Os níveis de oxigênio dissolvido variaram em torno de 2,99 mg/L, abaixo do limite preconizado pela legislação, indicando presença de decomposição de matéria orgânica. Os coliformes totais e *E. coli* apresentaram-se acima do permitido (24196 NMP/100mL). As reações de PCR do gene *rrs* 16S rRNA com iniciadores hospedeiro-específicos da ordem Bacteroidales demonstraram especificidade frente ao material fecal de ruminantes (690 pb); humanos (291 pb); equinos (242 pb) e suínos (694 pb). Foi detectado contaminação fecal de todos os hospedeiros-alvo nas 3 amostras coletadas. Após o sequenciamento, os fragmentos amplificados foram analisados em banco de dados (GenBank) e apresentaram identidades entre 96-99%, com sequências de Bacteroidales. Nossos resultados demonstraram presença de material fecal de ruminantes, humanos, equinos e suínos, detectados nas águas do rio Guandu. Estes resultados alertam para a necessidade de maior conscientização dos governantes e da sociedade em relação ao descarte de resíduos domésticos e/ou industriais nas águas voltadas ao abastecimento da população do Rio de Janeiro.

**Palavras Chave:** 16S rRNA; Água; Bacteroidales

**e-mail:** [Thais.santos@incqs.fiocruz.br](mailto:Thais.santos@incqs.fiocruz.br)

# ESTUDO DE CEPAS DE HAEMOPHILUS INFLUENZAE CIRCULANTES NA POPULAÇÃO ADULTA DO RIO DE JANEIRO NO PERÍODO DE 2002 -2012: ANÁLISE FENOTÍPICA, MOLECULAR E DA SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

**Aluno:** Vinícius Monteiro de Souza

**Orientador:** Antônio Eugênio Castro Cardoso de Almeida

**Co-orientador:** Nathalia Gonçalves Santos Caldeira

**Laboratório:** Microbiologia de Produtos Estéreis e Não Estéreis. Setor de Vacinas

**Departamento:** Microbiologia

## RESUMO

Os microrganismos da espécie *Haemophilus influenzae* podem causar no homem diversas infecções, invasivas ou não. O *H. influenzae* do tipo b (Hib), antes da introdução da vacina conjugada contra Hib era o principal responsável por infecções como epiglotite, artrite séptica, bacteremia, pneumonia, septicemia e meningite, principalmente em crianças. As outras espécies tipáveis (a,c,d,e,f) e não tipáveis estavam associadas a infecções do trato respiratório adquiridas na comunidade. Após a introdução dessa vacina, houve redução expressiva das doenças causadas pelo Hib em diversas partes do mundo, inclusive no Brasil. Atualmente, outros tipos da espécie *H. influenzae* (Hi) que não o Hib estão sendo isoladas não somente em crianças, causando infecções graves. O presente trabalho tem como objetivos: caracterizar os sorotipos e biotipos de isolados clínicos de *Haemophilus influenzae* por metodologias sorológicas, bioquímicas e moleculares; verificar a existência de outras espécies do gênero *Haemophilus* em infecções humanas; avaliar a sensibilidade aos antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções por *Haemophilus influenzae*; detectar cepas produtoras de  $\beta$ -lactamase (bla+) e blnar caracterizando-as com métodos moleculares, bem como os tipos de genes bla tem e bla rob que estão mediando a resistência.. Para isso, foram utilizadas 20 cepas isoladas no período de 2002 à 2012, na cidade do Rio de Janeiro, de pacientes adultos com idade entre (35 a 79 anos) as quais fazem parte da coleção de pesquisa do INCQS. Destas somente uma foi isolada de doença invasiva (hemocultura). As demais obtidas de escarro (n=2), secreção ocular (n=2), lavado brônquico (n=2) e secreção traqueal (n=13). Houve um predomínio do biotipo III com a obtenção de 10 cepas. Os demais biotipo encontrados foram: Biotipo I (n=1), II (n=7), IV (n=1), V (n=1). As cepas NT (n=17) representam maioria do sorotipo. Estando presente também B (n=2) e E (n=1). Dos 20 isolados 19 foram sensíveis aos antimicrobianos indicados. Apenas uma cepa apresentou resistência a amoxicilina. Concluímos que é necessário acompanhamento das cepas de Hi circulantes, visando compreender as possíveis alterações dos sorotipos prevalente, que orientará ações epidemiológicas.

**Palavras –Chaves:** *Haemophilus Influenzae*; Antimicrobianos; Vacinas

**e-mail:** [vinicius.souza@incqs.fiocruz.br](mailto:vinicius.souza@incqs.fiocruz.br)



# **Programa de Vocação Científica (PROVOC)**



## PERFIL HEMATOLÓGICO DO SANGUE TOTAL HUMANO UTILIZADO NO TESTE DE ATIVAÇÃO DE MONÓCITOS (MAT) DURANTE O PROCESSO DE CRIOPRESERVAÇÃO

**Aluno:** Rafaela Almeida Farias

**Orientador:** Cristiane Caldeira

**Co-orientador:** Octavio Augusto França Presgrave

**Laboratório:** Toxicologia. Setor de Pirogênio, LAL e Irritação

**Departamento:** Farmacologia e Toxicologia

### RESUMO

A contaminação pirogênica de produtos injetáveis pode ser considerada um problema de saúde pública podendo causar febre, alterações vasculares, choque pirogênico e morte. Em 2010, o MAT foi introduzido na Farmacopeia Europeia para avaliar este tipo de contaminação. Este teste é baseado no mesmo princípio do ensaio in vivo realizado em coelhos, ou seja, no mecanismo da febre, só que quantificando mediadores inflamatórios (IL-1b, IL-6, TNF- $\alpha$ ) liberados dos leucócitos do sangue total humano quando em contato com o estímulo pirogênico. O MAT, apesar de promissor como substituto do teste em animais, possui a limitação de necessitar do sangue de doadores a cada ensaio o que pode ser contornado através da criopreservação do sangue, processo pelo qual se preserva os linfócitos e monócitos por até 4 meses à  $-80^{\circ}\text{C}$ . A Farmacopeia Europeia determina que seja utilizado no MAT um pool de sangue de 4 a 10 doadores para minimizar as variações interindividuais, entretanto, não há estudos que demonstrem o perfil dos leucócitos dos doadores individualmente durante este período. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil hematológico do sangue criopreservado utilizado no MAT durante o período de congelamento (120 dias). O sangue de 4 doadores sadios foi coletado por punção venosa em tubos heparinizados. Uma parte deste sangue foi utilizado fresco (dentro de 4 horas) e a outra parte congelada seguindo o protocolo de criopreservação (CEP/FIOCRUZ nº 368/07). Foi utilizado um contador de células (Hemacounter 60<sup>®</sup>) onde foram avaliados principalmente os leucócitos totais, linfócitos (totais e percentuais) e granulócitos no sangue fresco e 7, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120 dias após criopreservado. Os resultados demonstraram que, apesar da redução do número de leucócitos totais durante o tempo de congelamento, o percentual de linfócitos permaneceu estável em relação ao sangue fresco. Este fato demonstra que o processo de criopreservação foi eficiente já que os linfócitos e monócitos, que são as principais células produtoras de citocinas, foram preservados. Na próxima etapa será incluída a avaliação do pool de sangue além da realização do MAT junto com o perfil hematológico para avaliar a resposta da liberação de IL-1b de cada doador e do pool durante o processo de congelamento em relação a esta possível redução do número de leucócitos.

**Palavras-Chaves:** Sangue Total Humano; Perfil Hematológico; Criopreservação

**e-mail:** rafaelaalmeidafarias@gmail.com



# **Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC)**



# **AValiação DO RISCO PROVENIENTE DO USO DE AGROTÓXICOS ORGANOMETÁLICOS EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS DE ORIGEM VEGETAL**

**Aluno:** Jéssica Malheiros

**Orientador:** Silvana do Couto Jacob

**Co-orientador:** Jaylei Monteiro Gonçalves

**Laboratório:** Alimentos. Setor de Elementos Inorgânicos

**Departamento:** Química

## **RESUMO**

Visando proteger a saúde da população em relação aos possíveis riscos provenientes da quantidade de cobre presente nos alimentos, a Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) junto com o grupo de expertos da área de contaminantes em alimentos disponibilizou a consulta pública (CP) nº 55, de 18 de novembro de 2011. Este Regulamento possui o objetivo de estabelecer os limites máximos para o teor de cobre (Cu) admissíveis em diversas categorias de alimentos e bebidas. Amostras de abobrinha, pepino, tomate cereja, morango, goiaba, uva, mamão e maçã foram selecionados para dar continuidade ao estudo por serem produtos de grande consumo no Rio de Janeiro de acordo com dados do IBGE (2009). As amostras dos produtos alimentícios foram adquiridos em estabelecimentos comerciais de grande porte da cidade de diferentes regiões no período de agosto de 2013 a agosto de 2014. As análises foram feitas seguindo o procedimento operacional do INCQS baseado na metodologia da AOAC, 2005, 18ª edição (Capítulo 33), e as concentrações de Cu determinadas por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama ou espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. Um total de 162 amostras foram analisadas, sendo 70 amostras de morango, 20 de abobrinha, 14 de uva, 15 de goiaba, 18 de tomate cereja, 8 de pepino, 7 de mamão e 10 de maçã. Os resultados para os teores de cobre foram respectivamente:  $(1,3 \pm 0,2)$ ;  $(0,97 \pm 0,34)$ ;  $(2,1 \pm 0,2)$ ;  $(1,7 \pm 0,3)$ ;  $(0,75 \pm 0,11)$ ;  $(0,91 \pm 0,11)$ ;  $(0,24 \pm 0,11)$  e  $(0,73 \pm 0,09)$  mg/Kg. Os resultados até o momento mostraram que o mamão é a cultura com menor teor de cobre  $(0,24 \pm 0,11)$  mg kg<sup>-1</sup>, enquanto a uva apresentou o maior:  $(2,1 \pm 0,2)$  mg kg<sup>-1</sup>. Esses resultados indicam teores, bem abaixo, do valor máximo de 10 mg kg<sup>-1</sup> sugerido pela Consulta Pública 55. Estes resultados sugerem que o valor máximo permitido de cobre em produtos hortifrutigranjeiros estabelecido na CP 55 está superestimado em relação aos obtidos nas amostras reais analisadas.

**Palavras-chave:** Espectrometria de Absorção Atômica com Chama; Cobre; Agrotóxicos

**e-mail:** jessica\_051992@hotmail.com

# PESQUISA DE CRONOBACTER SPP. EM FÓRMULAS INFANTIS E FÓRMULAS INFANTIS DE SEGUIMENTO E IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES POR REAÇÃO DA POLIMERASE EM CADEIA

**Aluno:** Natália Scudeller Umeda

**Orientador:** Ivano de Filippis

**Co-orientador:** Marcelo Luiz Lima Brandão

**Laboratório:** Microbiologia de Alimentos e Saneantes. Setor de Alimentos

**Departamento:** Microbiologia

## RESUMO

O leite humano é a melhor forma de nutrição para neonatos. Contudo, existem casos em que ele pode ser insuficiente ou não estar disponível e uma das opções para dieta é o uso de fórmulas infantis desidratadas (FID). *Cronobacter* spp. emergiu como perigo microbiológico em FID, causando infecções particularmente em neonatos de baixo peso ou imunodeficientes. Em 2008, o Codex Alimentarius publicou uma revisão do Código de Prática de Higiene para fórmulas em pó para lactantes de primeira infância, que cria um critério para *Cronobacter* spp. no controle da qualidade de FID. Em 2011, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária publicou as RDC n.º 43, 44 e 45, que estabelecem o regulamento técnico para FID, onde foi adotado que os fabricantes devem cumprir o disposto no Código de Práticas e suas atualizações. A maioria dos trabalhos que pesquisaram *Cronobacter* spp. em FID utilizaram a norma ISO/TS 22964, atualmente ainda em vigor. Contudo, relatos de resultados errôneos demonstraram que esta metodologia não é confiável e precisa ser melhorada. Recentemente, o Food and Drug Administration (FDA) publicou uma revisão da metodologia para detecção/isolamento de *Cronobacter* spp. em FID. Essa nova metodologia apresentou sensibilidade e especificidade satisfatória para identificação de *Cronobacter* spp. nestes produtos. Tendo em vista a escassez de dados relativos à prevalência de *Cronobacter* spp. em FID comercializadas no Brasil, o objetivo deste estudo foi determinar a ocorrência de *Cronobacter* spp. em 30 amostras de fórmulas infantis para lactantes (0-6 meses) e 30 de fórmulas infantis de seguimento para lactantes (>6 meses) comercializadas no Estado do Rio de Janeiro, pelo método de cultivo descrito no Bacteriological Analytical Manual Online–FDA. A identificação das colônias características foi realizada com uso dos kits ID32E e API20E; do sistema Vitek 2.0 e por reação da polimerase em cadeia (PCR) com alvo no gene *gluA*. Nenhuma amostra apresentou contaminação por *Cronobacter* spp. Uma amostra de FIL apresentou contaminação por uma cepa identificada como *Pantoea* spp., *Serratia ficaria* ou *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae* de acordo com o Vitek 2.0, ID 32 E e API 20E, respectivamente. Concluiu-se que a ocorrência de *Cronobacter* spp. em FID parece ser baixa, indicando que os produtores estão cumprindo o disposto nas normas brasileiras vigentes de forma a evitar a contaminação dos produtos por este micro-organismo.

**Palavras-chave:** *Cronobacter*; PCR; Leite

**e-mail:** [ivano.defilippis@incqs.fiocruz.br](mailto:ivano.defilippis@incqs.fiocruz.br)

# CARACTERIZAÇÃO DO RESISTOMA MICROBIANO ASSOCIADO À DETECÇÃO DE ANTIBIÓTICOS NO EFLUENTE HOSPITALAR E AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS IMPACTOS AO MEIO AMBIENTE E A SAÚDE DA POPULAÇÃO

**Aluno:** Roberta Lima Pará Diniz

**Orientador:** Maysa Beatriz Mandetta Clementino

**Co-orientador:** Catia Aparecida Chaia Miranda Fernandes

**Laboratório:** Micro-organismos de Referência. Setor de Bactérias e Arqueas

**Departamento:** Microbiologia

## RESUMO

Os Resíduos dos Serviços de Saúde (RSS) são aqueles gerados em hospitais, clínicas, ambulatórios e similares e representam em torno de 1% da quantidade total dos resíduos gerados no país. Dentre os RSS, se encontram os resíduos líquidos, eliminados através dos sistemas de esgoto oriundos de unidades de saúde. A disposição conjunta do esgoto hospitalar com fármacos, metais, desinfetantes, drogas não metabolizadas por pacientes e outras substâncias, pode desencadear, pela pressão seletiva, um aumento de populações bacterianas multirresistentes aos antibióticos. Neste estudo, selecionamos as espécies *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* do efluente hospitalar para realizar a caracterização do resistoma, antes e após o tratamento. Após a coleta do efluente líquido de um hospital no R.J, será realizada a dosagem de parâmetros físico-químicos; a detecção de antibióticos por cromatografia LC-MS/MS e o isolamento de colônias sugestivas de *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *S. aureus* em meios seletivos, Agar Cetrimide, Agar McConkey e Agar Manitol Salgado, respectivamente. Os isolados serão identificados por metodologia fenotípica (bioquímica convencional) e molecular pela PCR e sequenciamento do gene *rrs* do 16S rRNA. Após a identificação, será determinada a susceptibilidade aos antibióticos pelo sistema VITEK II e pela difusão em disco (CLSI). De acordo com os resultados apresentados na susceptibilidade, será realizada a pesquisa dos genes de resistência e aos antibióticos pela PCR. A realização desse estudo nos permitirá uma melhor avaliação da influência do tratamento no comportamento de patógenos multirresistentes, evitando assim a disseminação dos mesmos no meio ambiente e colaborar com o aprimoramento das ações da vigilância ambiental e epidemiológica.

**Palavras-Chave:** Efluente Hospitalar; Resistoma; Antibióticos.

**E-mail :** robertadiniz1705@gmail.com

## **AValiação do teor de timerosal nas vacinas de influenza tipo A (H1N1) analisadas no INCQS**

**Aluno:** Sibebe de Araujo Rodrigues

**Orientador:** Kátia Christina Leandro

**Co-orientador:** Fausto Klabund Ferraris

**Laboratórios:** Alimentos / Farmacologia

**Departamentos:** Química / Farmacologia e Toxicologia

### **RESUMO**

O Instituto de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) é o laboratório de referência do país para análise de vacinas para fins de controle sanitário. As vacinas são medicamentos imunobiológicos de alta complexidade e a análise de controle deste produto visa verificar parâmetros de legislação vigente envolvendo ensaios físicos, físico-químicos e biológicos. Desde 1983, o INCQS analisa os protocolos de produção e executa ensaios laboratoriais em lotes de imunobiológicos nacionais e importados, adquiridos pelo Ministério da Saúde e utilizados no Programa Nacional de Imunizações (PNI), baseado em normas oficiais nacionais e internacionais. A vacinação é a melhor maneira de evitar diversas doenças imunoprevisíveis, como a varíola (erradicada), poliomielite (paralisia infantil), sarampo, tuberculose, rubéola, hepatite B, febre amarela, entre outras. Na fabricação de algumas vacinas, como a Influenza A (H1N1), o timerosal (tiosalicilato de etilmercúrio sódico) é usado como um agente conservante, com a finalidade de evitar a contaminação bacteriana durante a produção e a contaminação bacteriana e fúngica das vacinas durante o seu uso, em particular o frasco multidose. A Organização Mundial da Saúde (OMS) defende o conservante timerosal em vacinas, baseando-se em estudos que concluíram não existir evidências de contaminação em crianças ou adultos expostos ao mesmo, e que vacinas que contêm esta substância não aumentam a quantidade de mercúrio no organismo, pois este é excretado rapidamente, não se acumulando em função de repetidas injeções. A Coordenação Geral do PNI preconiza que a quantidade de timerosal contida nas vacinas não causam problemas para as pessoas vacinadas. A Farmacopéia Brasileira define o limite de timerosal de  $\leq 200$  ppm nas vacinas Tetravalente e Tríplice Viral, porém para a vacina H1N1 ainda não se definiu um limite. Em virtude da importância do controle de qualidade das vacinas distribuídas para a população brasileira, é de suma importância para a Legislação Brasileira definir o limite máximo de timerosal nas vacinas H1N1 comercializadas e estabelecer o grau de toxicidade desta substância in vitro.

**Palavras-Chave:** Timerosal; H1N1; Vacinas

**e-mail:** sibelearaujo.rodrigues@gmail.com / sibelearaujo.rodrigues@incqs.fiocruz.br

## **DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ALTERNATIVOS AO TESTE DE IRRITAÇÃO OCULAR (TESTE DE DRAIZE) UTILIZADO NO CONTROLE DE QUALIDADE TOXICOLÓGICO DE PRODUTOS SUJEITOS À AÇÃO DA VIGILÂNCIA SANITÁRIA.**

**Aluno:** Vanessa Lira Ribeiro Cordeiro

**Orientador:** Isabella Fernandes Delgado

**Co-orientador:** Octavio Augusto França Presgrave

**Laboratório:** Toxicologia. Setor de Pirogênio, LAL e Irritação

**Departamento:** Farmacologia e Toxicologia

### **RESUMO**

O Teste de Draize foi durante muito tempo amplamente utilizado para prever a irritabilidade oftalmológica de medicamentos, cosméticos e outras substâncias químicas. A partir dos anos 1980, a membrana córion-alantóide (CAM) de ovos embrionados de galinha tornou-se um modelo de estudo do potencial irritante ocular de ingredientes e produtos. As metodologias da membrana córion-alantóide (HET-CAM) e de coloração com azul de tripan da membrana córion-alantóide (CAM-TBS) têm sido propostas como alternativas ao teste in vivo. Com base nisso, o presente estudo tem como objetivo verificar a aplicabilidade de cada uma destas metodologias in vitro em prever o potencial irritante ocular de produtos sujeitos à ação da Vigilância Sanitária. Nos testes HET-CAM e CAM-TBS foram testados 7 xampus, 6 condicionadores, 2 desinfetantes, 1 colírio, 1 óleo essencial e 7 tensoativos. O teste HET-CAM apresentou sensibilidade de 100%, ou seja, foi capaz de identificar todos os produtos irritantes. Apresentou ainda precisão de 72,73% e especificidade de 50,00%, corroborando estudos anteriores que relatam que o HET-CAM tende a apresentar um número elevado de resultados falso positivos. O CAM-TBS apresentou sensibilidade de 53,30%, ou seja, não foi capaz de identificar todos os produtos irritantes. Apresentou ainda, especificidade de 61,10% e baixa precisão (57,57%). Até o momento, o método HET-CAM não apresentou resultados falso negativos, o que é de extrema relevância quando se está avaliando a segurança de produtos e ingredientes. Em contrapartida, o teste CAM-TBS apresentou alguns resultados falso negativos, devido provavelmente à forte interação dos detergentes com as macromoléculas constituintes das membranas biológicas, indicando que produtos que contenham altas concentrações de tensoativos devem ser testados diluídos.

**Palavras-chave:** Irritação Ocular; Métodos Alternativos; Vigilância Sanitária



# **Programa Institucional de Bolsa de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (PIBITI)**



## DETERMINAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE À ANTIMICROBIANOS DE ISOLADOS CLÍNICOS DE NEISSERIA MENINGITIDIS E ANÁLISE MOLECULAR DOS GENES DE RESISTÊNCIA DE CEPAS COM SUSCEPTIBILIDADE REDUZIDA AOS BETA-LACTÂMICOS, QUINOLONAS E RIFAMPICINA

**Aluno:** Bruna Schuwatz de Assis Vitório

**Orientador:** Ivano de Filippis

**Laboratório:** Micro-organismos de Referência. Setor de Bactérias e Arqueas

**Departamento:** Microbiologia

### RESUMO:

A *Neisseria meningitidis* é um diplococo gram-negativo encontrado no trato respiratório superior dos seres humanos, podendo causar meningite ou meningococemia. É separada em 13 sorogrupos, sendo os mais patogênicos os tipos A, B, C, Y e W135. Atualmente o Brasil não tem relatado sobre redução da susceptibilidade aos antibióticos utilizados tanto no tratamento quanto na profilaxia à *N. meningitidis*, porém o nosso objetivo principal, é pesquisar a presença de cepas de meningococos com susceptibilidade reduzida aos  $\beta$ -lactâmicos (penicilina, ampicilina e ceftriaxona), às quinolonas (ácido nalidíxico e ciprofloxacina), cloranfenicol e rifampicina da coleção de pesquisa do INCQS/FIOCRUZ. A coleção possui um acervo de mais de 2000 cepas de meningococos isolados de pacientes com doença invasiva de diferentes estados do Brasil. Foram escolhidas aleatoriamente 100 isolados dos estados do Rio de Janeiro, Bahia, Pernambuco e Sta. Catarina, dos anos de 2010 a 2013. Os isolados foram identificados como *N. meningitidis* por provas bioquímicas e PCR. Os sorogrupos foram determinados por sorologia e PCR. A redução da susceptibilidade das cepas selecionadas foi determinada pelo método de disco difusão para os antibióticos penicilina G com 18%, ampicilina com 6,94%, cloranfenicol com 23,6%, ceftriaxona com 26,4%, ciprofloxacina com 83,3%, àc. Nalidíxico com 27,7% e rifampicina com 69,4%. Algumas dessas cepas que apresentaram diminuição da susceptibilidade para esses antibióticos foram submetidas ao método de CIM por fitas de E-test para determinação quantitativa da resistência dessas cepas aos antibióticos específicos. A confirmação da diminuição da susceptibilidade pelo método do CIM apresentou os seguintes resultados: ceftriaxona 3 cepas, ampicilina 2 cepas, ácido nalidixílico 1 cepa, penicilina 5 cepas, rifampicina 4 cepas. As 11 cepas com susceptibilidade reduzida aos  $\beta$ -lactâmicos confirmadas pelo CIM, foram submetidas ao teste de  $\beta$ -lactamase e dessas, 8 produziram a enzima. A emergência de meningococos multi-resistentes e a possível presença de novos mecanismos de resistência no Brasil, devem ser monitorados atentamente pelas autoridades de vigilância sanitária e epidemiológica.

**Palavras-Chave:** *Neisseria Meningitidis*; Susceptibilidade à Antimicrobianos; Mecanismos de Resistência

**e-mail:** brunaschuwartz@hotmail.com

# IMPLANTAÇÃO E APLICAÇÃO DE NOVOS MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DE DESINFETANTES DE USO HOSPITALAR

**Aluno:** Christiane Rose de Almeida Rangel da Silveira

**Orientador:** Célia Maria Carvalho Pereira Araujo Romão

**Co-orientador:** Bruna Peres Sabagh

**Laboratório:** Microbiologia de Alimentos e Saneantes. Setor de Saneantes

**Departamento:** Microbiologia

## RESUMO

O controle das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) continua a ser um desafio para profissionais de saúde e envolve diversas medidas, entre elas o emprego de procedimentos de desinfecção e esterilização. *Candida albicans* é um agente etiológico importante em infecções hospitalares e comunitárias e por isso, a legislação sanitária atual (RDC 35/10) inclui *C. albicans* como microrganismo teste, para avaliar a eficácia de desinfetantes de uso hospitalar. O objetivo do presente projeto foi implantar a metodologia do Comitê Europeu de Normatização EN 13624 no Setor de Saneantes do Depto de Microbiologia/INCQS e avaliar a eficácia de um desinfetante hospitalar frente a *C. albicans*, visando atender e complementar as exigências estabelecidas na legislação. Foi empregada como microrganismo teste a cepa de referência *C. albicans* INCQS 40006 (ATCC 10231). Para a preservação deste microrganismo, foi utilizado o método EN 12353. O Método EN 13624, Diluição-Neutralização, foi empregado para avaliação da atividade levuricida de um desinfetante de alto nível de uso hospitalar à base de ácido peracético, em condições de limpeza e sujidade. O produto foi avaliado em três concentrações: produto puro ativado não diluído, diluído a 10% e 1%, no tempo de contato de 10 minutos. Foram realizadas sete repetições dos ensaios para ambas as condições. O critério de aprovação foi: redução de pelo menos 4 log considerando o número de unidades formadoras de colônias (UFC) inicial e o final, após ação do desinfetante. O microrganismo teste foi preservado e foram confirmadas a pureza e características. O inóculo foi padronizado de acordo com o método. Foram avaliadas cinco soluções de neutralizantes. O Meio Neutralizante Dey Engley acrescido de catalase (3 mg/10 mL) mostrou-se o mais adequado para neutralizar o produto. As médias das reduções obtidas foram: na condição de limpeza: >4,14 (produto puro ativado), 4,15 (10%) e < 2,76 (1%); na condição de sujidade: >4,23 (produto puro ativado), 4,10 (10%) e < 2,83 (1%) ou seja, o produto apresentou eficácia frente a *C. albicans* puro e a 10% em ambas condições. Iniciou-se padronização do inóculo segundo a EN 14562. Foi alcançada a concentração microbiana (D.O 2,07 e 2,17) porém não estamos conseguindo repetir esses valores. A presente pesquisa mostrou que o desinfetante à base de ácido peracético foi satisfatório, conforme recomendado pelo fabricante, e permitiu padronizar as etapas de implantação do método EN 13624, para o produto estudado, o que contribuirá para ações de vigilância sanitária. Apoio: PIBITI/CNPq- INCQS/FIOCRUZ

**Palavras-Chave:** Desinfetantes; *Candida Albicans*; Atividade Fungicida

**e-mail:** [celia.romao@incqs.fiocruz.br](mailto:celia.romao@incqs.fiocruz.br)

## IMPLANTAÇÃO DO ENSAIO DE FOTOTOXICIDADE IN VITRO PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE FILTROS SOLARES

**Aluno:** Douglas Ian Rosa Emidio

**Orientador:** Maria Helena Simões Villas Bôas

**Co-orientador:** Octavio Augusto França Presgrave

**Laboratório:** Toxicologia. Setor de Pirogênio, LAL e Irritação

**Departamento:** Farmacologia e Toxicologia

### RESUMO

Dentro do estudo dos filtros solares, um dos mais importantes testes aplicados é o teste de fototoxicidade, que corresponde à toxicidade gerada por uma substância aplicada no corpo humano, posteriormente exposto à luz solar. O método tradicional para a verificação da fototoxicidade em partículas macro utilizava animais de laboratório (cobaias e camundongos hairless principalmente). Contudo, métodos alternativos ao uso de animais foram sendo desenvolvidos, principalmente em função da pressão antiviviseccionista sobre a indústria cosmética. No teste de fototoxicidade são utilizadas células 3T3 Balb/c que são mantidas em cultura por 24 horas para a formação de monocamada. Duas microplacas de 96 poços são pré-incubadas com 8 diferentes concentrações da substância teste por 1 hora. Então uma das duas placas é exposta à maior irradiação não citotóxica enquanto que a outra é mantida no escuro. A citotoxicidade é expressa como a redução dependente da concentração da captura do corante vital Vermelho Neutro quando medida 24 horas após o tratamento com a substância teste e irradiação. O Vermelho Neutro penetra na membrana da célula por processo não difusivo e se acumula nos lisossomos. As alterações da superfície celular da membrana do lisossomo leva à uma fragilidade e outras mudanças que se tornam irreversíveis gradualmente. Tais mudanças resultam no decréscimo da captação e ligação do Vermelho Neutro. Dessa forma é possível distinguir entre células viáveis, danificadas e mortas. Para predizer o potencial fototóxico, as respostas das concentrações obtidas na presença e na ausência da irradiação são comparadas, usualmente determinando-se a IC50, que é a concentração que reduz a viabilidade celular em 50%, quando comparada com os controles não tratados. Os resultados poderão contribuir, inclusive, para a determinação de aspectos legais que envolvem os produtos que utilizam nanotecnologia, principalmente no que diz respeito à concentrações, rotulagem e informações a serem divulgadas para os consumidores.

**Palavras-Chave:** Fototoxicidade, Protetor Solar, Método Alternativo

**E-mail:** douglas.ian94@yahoo.com.br

## IMPLATAÇÃO DE METODOLOGIAS DO COMITÊ EUROPEU DE NORMALIZAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICOBACTERICIDA DE DESINFETANTES

**Aluno:** Felipe de Oliveira Rodrigues da Silva

**Orientador:** Maria Helena Simões Villas Bôas

**Co-orientador:** Bruna Peres Sabagh

**Laboratório:** Microbiologia de Alimentos e Saneantes. Setor de Saneantes

**Departamento:** Microbiologia

### RESUMO

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária divulgou em 2008 uma nota técnica, informando que de 2003 até 2008 haviam sido notificados mais de 2.000 casos sobre infecções hospitalares por Micobactérias de Crescimento Rápido em hospitais particulares do país, relacionadas principalmente a procedimentos videolaparoscópicos. Essas infecções foram significativamente causadas por *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* e acometeram principalmente a pele e o tecido celular subcutâneo dos pacientes. Após esse surto, novas resoluções foram publicadas pela Anvisa, relacionadas ao registro de produtos saneantes, que têm que comprovar a eficácia frente à cepa de *M. abscessus* subsp. *bolletii*. Já a RDC nº 35 de 16/08/2010, introduziu uma nova classificação para os desinfetantes de uso hospitalar e ampliou o escopo de metodologias utilizadas para fins de comprovação de eficácia desses produtos, entre elas aquelas preconizadas pelo Comitê Europeu de Normalização. Com base nesses acontecimentos e de forma a prevenir a ocorrência de novos surtos, esse trabalho tem por objetivo implantar as metodologias do CEN visando a avaliação da eficácia de produtos desinfetantes de alto nível, a EN 14348:2005 (Teste em suspensão para avaliação de atividade micobactericida - Fases 2, passo 1) e a EN 14563:2008 (Teste quantitativo empregando-se carreadores para avaliação da atividade micobactericida - Fase 2, passo 2). A implantação da fase 2, passo 1 foi realizada satisfatoriamente, utilizando-se *M. abscessus* subsp. *bolletii* como micro-organismo teste e dois produtos desinfetantes à base de ácido peracético (A e B), já que a etapa de neutralização do produto, crítica para a metodologia, foi realizada com sucesso. Os produtos A e B nas concentrações preconizadas pelos fabricantes, respectivamente 0,1% e 0,15%, foram considerados eficazes na eliminação do micro-organismo teste, tanto em condição de limpeza quanto de sujidade, com tempo de contato de 30 minutos, pois apresentaram redução decimal de 6 log em relação ao número inicial de micro-organismos, enquanto mínimo exigido pela metodologia é uma redução de 4 log. Até o momento, somente a etapa de neutralização do produto foi realizada e com sucesso para *Mycobacterium terrae*, a metodologia completa está em fase de execução. Outros produtos serão testados, além da implantação da EN 14563:2008. A verificação da qualidade dos saneantes em um contexto mais amplo visa dar suporte às ações da Vigilância Sanitária, que se constitui como instrumento social protegendo de violências contra as condições de saúde e bem-estar da população.

**Palavras-Chave:** Micobactérias; Desinfetantes; Saneantes; Infecção Hospitalar

**e-mail:** lipechavez16@hotmail.com

## **VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA PARA A DETERMINAÇÃO DE CITRATO TOTAL EM SOLUÇÃO ANTICOAGULANTE DA BOLSA DE SANGUE POR CLAE E SUA INSERÇÃO NA RESOLUÇÃO RDC Nº 35**

**Aluno:** Fernanda Souza Fernandes

**Orientador:** Silvana do Couto Jacob

**Co-orientador:** Michele Feitoza Silva

**Laboratório:** Biológicos e Artigos e Insumos de Saúde

**Departamento:** Química

### **RESUMO**

As bolsas de sangue são produtos destinados a coleta, armazenamento, processamento, transporte, separação e administração do sangue e suas frações. Podem ou não apresentar soluções anticoagulantes e/ou preservadoras para manter a qualidade do sangue e o regulamento técnico para registro e controle da qualidade desse produto vigente até junho de 2014 era a Portaria no 950, de 26 de novembro de 1998. E de acordo com esta Portaria, um dos ensaios físico-químicos que deveria ser realizado em soluções anticoagulantes era a determinação de ácido cítrico e citrato de sódio, que atua como uma solução tampão, prevenindo mudanças bruscas no pH de modo a manter a viabilidade e a função de cada constituinte sanguíneo. O INCQS é responsável por realizar análise prévia ao registro desses produtos e desenvolveu uma metodologia mais eficiente. Para a metodologia desenvolvida realizou-se a validação analítica sob os seguintes parâmetros: especificidade, linearidade e faixa linear de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão, precisão e robustez. A validação analítica para determinação de citrato total apresentou resultados satisfatórios, este estudo foi capaz de comprovar que a metodologia proposta era melhor do que a preconizada na Portaria 950/1998 e ainda, subsidiou a inserção da nova metodologia na Resolução publicada em junho de 2014. A publicação da RDC nº 35, de junho de 2014 reitera a importância de um Sistema Nacional de Vigilância Sanitária com entes integrados e o impacto regulatório dos estudos realizados pelos laboratórios oficiais no Brasil.

**Palavras-chave:** Bolsa de Sangue; Citrato de Sódio; Validação Analítica

**e-mail:** fernanda.fernandes0612@gmail.com

# VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAR TUBERCULOSTÁTICOS EM COMPRIMIDOS POR ELETROFORESE CAPILAR

**Aluno:** George Leon Machado Barros

**Orientador:** Shirley de Mello Pereira Abrantes

**Laboratório:** Alimentos. Setor de Contaminantes Orgânicos

**Departamento:** Química

## RESUMO

A Organização Mundial de Saúde propôs o tratamento quimioterápico padrão, que se baseia na terapia de curta duração utilizando associação de quatro drogas antituberculose: isoniazida, rifampicina, etambutol, pirazinamida. Dentre essas associações é objeto de pesquisa a associação 2:1 isoniazida e rifampicina. Os métodos oficiais sugeridos "United States Pharmacopeia", de maneira geral, descrevem a utilização de técnicas espectroscópicas e cromatográficas para identificação e quantificação de fármacos, respectivamente. Segundo ALTRIA, a eletroforese capilar vem substituindo métodos cromatográficos nas industriais farmacêuticas por ser uma técnica de alto desempenho e baixo custo, requerer menor volume de amostra e exigir pouca ou nenhuma utilização de solventes orgânicos. A validação de um método analítico é uma das primeiras e principais etapas de um processo para se reconhecer a confiabilidade dos resultados obtidos em relação ao propósito para o qual o método foi desenvolvido. No Brasil as duas instituições que regulamentam a validação de métodos analíticos na área de saúde são Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Para validação de métodos analíticos de doseamento de ativos em medicamentos a ANVISA publicou a resolução RE nº 899 de 29 de Maio de 2003 como um "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos" direcionando aos parâmetros adotados para validar um determinado método analítico. O objetivo é validar o método analítico para determinação de isoniazida e rifampicina na associação 2:1 por eletroforese capilar.

**Palavras-Chave:** Tuberculostáticos; Eletroforese Capilar; Validação

**e-mail:** george.barros@incqs.fiocruz.br

## **OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE 5-HIDROXIMETILFURFURAL EM BOLSAS DE SANGUE POR CLAE E SUA INSERÇÃO NA RESOLUÇÃO RDC Nº 35/ 2014.**

**Aluno:** Mary Nei de Melo Freitas

**Orientador:** Kátia Christina Leandro

**Co-orientador:** Michele Feitoza Silva

**Laboratório:** Biológicos e Artigos e Insumos de Saúde

**Departamento:** Química

### **RESUMO**

As bolsas plásticas utilizadas para armazenamento de sangue humano são classificadas de acordo com a sua complexidade como produto para saúde de classe III. As soluções anticoagulantes e preservadoras têm como objetivo manter a viabilidade do sangue e seus componentes. De acordo com a legislação vigente um dos ensaios a serem realizados é a determinação do teor de 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), que é um contaminante altamente tóxico presente nas soluções anticoagulantes, formado pela degradação térmica açúcares monossacarídeos. Este trabalho teve o objetivo otimizar e validar a metodologia para determinação do 5-HMF conforme preconizado pela Anvisa e Inmetro. Os parâmetros analisados na validação analítica foram: especificidade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão, precisão e robustez. Os resultados obtidos neste trabalho comprovaram que a metodologia é bastante eficaz para a determinação do teor de 5- HMF. O estudo foi submetido a ANVISA e recomendado como um dos métodos oficiais e incluído no novo regulamento técnico Resolução RDC 35 de junho de 2014 que dispõe sobre bolsas plásticas para coleta, armazenamento e transferência de sangue humano e seus componentes. A inserção da metodologia otimizada e validada pelo INCQS reitera a importância da integração entre os entes do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária para regulação de produtos de âmbito sanitário.

**Palavras-chave:** Cromatografia Líquida de Alta; Hidroxometilfurfural; Validação Analítica.

**e-mail:** maryn.melo@yahoo.com.br

# DETERMINAÇÃO DOS GRUPOS FILOGENÉTICOS DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE ISOLADAS DA MICROBIOTA NORMAL E DE EFLUENTES HOSPITALARES: RELAÇÃO COM OS PERFIS DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

**Aluno:** Pâmella Mascarenhas do Nascimento

**Orientador:** Maysa Beatriz Mandetta Clementino

**Laboratório:** Micro-organismos de Referência. Setor de Bactérias e Arqueas

**Departamento:** Microbiologia

## RESUMO

*Klebsiella pneumoniae* é reponsável por 75-80% de infecções hospitalares e comunitárias em todo o mundo. Entre outros ambientes, está presente no trato intestinal, um importante reservatório de bactérias e genes de resistência aos antibióticos, com papel fundamental no desenvolvimento de algumas patologias, como a obesidade e a desnutrição. A emergência de *K. pneumoniae* multiresistentes necessita atenção, uma vez que são importantes agentes causadores de infecções hospitalares, associados a pneumonias, bacteremias e outras infecções intra-abdominais. Os hospitais liberam em seu esgoto substâncias tais como fármacos, antibióticos, desinfetantes, cuja disposição conjunta com os outros componentes residuais geram uma pressão seletiva levando a um aumento das populações bacterianas multi-resistentes. A associação entre a variabilidade genética, virulência e transmissibilidade dos isolados de *K. pneumoniae* não é bem compreendida. Entretanto, há evidências do comportamento diferenciado das cepas que são geneticamente heterogêneas. Estudos na Europa demonstraram que isolados clínicos de *K. pneumoniae* podem ser classificados em três grupos filogenéticos denominados KPI, KpII e KpIII, através de análise filogenética das seqüências dos genes *gyrA* e *parC*. O objetivo principal desse trabalho foi a determinação dos grupos filogenéticos e sua distribuição entre os isolados de *K. pneumoniae* da microbiota normal e efluente hospitalar, associados aos perfis de resistência aos antimicrobianos, relacionados com a origem dos isolados. Foi realizada uma coleta de um efluente, em um hospital do Rio de Janeiro. Após filtragem, o material obtido foi cultivado em meio de cultura seletivo agar MacConkey de onde foram selecionadas 35 colônias róseas, mucoides e lactose positiva, bastonetes Gram-negativos, suspeitas *Klebsiella* spp. Desses isolados, 15 foram identificados como *K. pneumoniae*, por meio da ITS-PCR onde apresentaram fragmento de aproximadamente 300 bp. A análise dos perfis de resistência (CLSI) estão sendo realizadas. Dando continuidade a classificação dos isolados da microbiota normal de fezes, foram amplificados gene *parC* (400 bp) de 6 isolados, que foram enviados para o sequenciamento. No Brasil, só localizamos um grupo de pesquisadores de Recife envolvidos nessa linha de pesquisa em isolados de *K. pneumoniae* de origem clínica e da microbiota normal pela RFLP-PCR do gene *gyrA*. No entanto, não temos conhecimento de nenhum grupo investigando esses isolados da microbiota normal e do efluente hospitalar pelo sequenciamento e análise filogenética dos genes *gyrA* e *parC*.

**Palavras-Chave:** *Klebsiella Pneumoniae*; Grupos Filogenéticos; Microbiota Normal

**e-mail:** pamellam.nascimento@gmail.com

## DESENVOLVIMENTO DE UMA FERRAMENTA PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DE FOTOPROTETORES

**Aluno:** Raiane Rosales Diniz

**Orientador:** Alicia Viviana Pinto

**Co-orientador:** Marcelo de Pádua

**Laboratório:** Microbiologia e Avaliação Genotóxica, UFRJ

**Departamento:** Coordenação de Pós-Graduação e de Pesquisa e Ensino, INCQS / Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, UFRJ

### RESUMO

Os protetores solares, quando atingidos pela radiação solar, podem ocasionar riscos à saúde. O presente trabalho objetiva o desenvolvimento de testes para serem usados como ferramenta no controle de qualidade de protetores solares por meio do monitoramento da cito e genotoxicidade em diferentes cepas da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Esta se mostra uma ótima ferramenta experimental, dado o grande número de cepas deficientes em genes homólogos aos de mamíferos, principalmente, genes de reparo de DNA, além de satisfazer o princípio dos 3R's em testes alternativos aos com animais de laboratório preconizado por agências regulatórias como FDA. A citotoxicidade é evidenciada pela sobrevivência e a genotoxicidade pela mutagênese de cepas selvagem (wt) e deficientes em genes de reparo do DNA a tratamentos com os protetores TiO<sub>2</sub>, Montmorilonita (MMT) e ZnO, com luz solar simulada (LSS). A genotoxicidade é também avaliada mediante a expressão de um sistema repórter que combina o gene humano TP53 e a galactosidase. Para isso, foi necessária a construção (interrupção por troca alélica) de nova cepa deficiente no gene OGG1. Na avaliação da citotoxicidade, a cepa selvagem, quando irradiada com LSS (UVA+UVB) se mostrou protegida pela presença de TiO<sub>2</sub> e sensibilizada na presença de MMT. Já a mutagênese (DL37), na presença de ambas substâncias foram geradas menor número de mutantes quando comparadas com a cepa não tratada. Na avaliação da citotoxicidade para a cepa ogg1 (deficiente no reparo de purinas oxidadas) tanto a presença de TiO<sub>2</sub> quanto a de MMT conferiram aumento na sobrevivência da cepa selvagem quando irradiada com LSS. Entretanto na mutagênese, o tratamento da cepa ogg1+TiO<sub>2</sub> apresentou 2,8 vezes mais mutantes e o da cepa ogg1+MMT apresentou 1,7 vezes mais quando comparada com o da cepa não tratada. Estes resultados evidenciam a capacidade fotoprotetora do TiO<sub>2</sub> (cepas wt e ogg1) e MMT (ogg1). O incremento de mutagênese da cepa ogg1 indica que, assim como com o UVB isoladamente (Pinto, et al 2010), o TiO<sub>2</sub> também possui potencial fotogenotóxico quando irradiado com a LSS. Isto também é verificado para a MMT. Portanto, cepa ogg1 utilizada até o presente momento é uma forte candidata para identificar substâncias que possuem potencial fotoprotetor, gerando informações sobre sua segurança (fotogenotoxicidade), além evidenciar as diferenças biológicas implicadas, quando irradiadas com UVB e LSS. Configura-se como perspectiva do trabalho determinar dos perfis de sobrevivência e de mutagênese de outras cepas deficientes em diferentes sistemas de reparo à luz solar simulada e UVB e princípios ativos de formulações tópicas (em forma individual e combinada).

**Palavras-Chave:** *S. Cerevisiae*, Protetor Solar; Controle da Qualidade

**e-mail:** raiane.rdiniz@yahoo.com; alicia.pinto@incqs.fiocruz.br

# ESTUDO DA SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS E CARACTERIZAÇÃO DOS MARCADORES DE RESISTÊNCIA EM CEPAS DE HAEMOPHILUS INFLUENZAE APÓS 12 ANOS DE USODA VACINA CONTRA O HIB

**Aluno:** Ramon Cesar dos Santos Barboza

**Orientador:** Antônio Eugênio Castro Cardoso de Almeida

**Co-orientador:** Nathalia Gonçalves Santos Caldeira

**Laboratório:** Microbiologia de Produtos Estéreis e Não Estéreis. Setor de Vacinas

**Departamento:** Microbiologia

## RESUMO

A espécie *Haemophilus influenzae* (Hi) é a mais importante do gênero *Haemophilus*, podendo ser capsulada ou não-capsulada, esta também chamada de não tipável (NT). As capsuladas se apresentam de seis tipos de a– f. A do tipo b (Hib) ainda é considerada um dos principais agentes infecciosos por sua grande patogenicidade. Essas bactérias pertencem a família Pasteurellaceae sendo micro-organismos pleomórficos, gram-negativos, aeróbios, imóveis, não-hemolíticos e não esporulados. Desde 1988 os processos infecciosos associados ao Hib são preveníveis por vacinação no mundo, enquanto que no Brasil só em 1999. Contudo, anos depois, esse micro-organismo ainda é descrito como importante patógeno humano, responsável por diversas infecções invasivas e graves. Mais recentemente, estudos em países que iniciaram a vacinação no início da década de 90 já demonstram a alteração desta faixa etária com isolados de Hi não b em adultos jovens, embora ainda com a presença do tipo b ou Hib em infecções. Infecções respiratórias, em particular a Bronquite Crônica (BC) é um componente crítico da doença obstrutiva pulmonar (COPD). Enfisema e bronquiectasia também contribuem para agravamento deste quadro. Pacientes idosos são de risco maiores para micro-organismos durante episódios de exacerbação aguda de BC (EABC). O Hi é a bactéria mais encontrada nestes processos. O tratamento com antibióticos, em particular com as penicilinas e fluoroquinolonas, constituem hoje um alarme para os tratamentos que falham inicialmente ou quando interrompidos precocemente. Desta forma, os mecanismos de resistência as penicilinas ou  $\beta$ -lactâmicos constituem área de interesse mundial. Este mecanismo pode ocorrer de duas maneiras: enzimáticos ou não-enzimáticos. Os enzimáticos ocorrem em cerca de 30% das cepas de Hi e são denominadas  $\beta$ -lactamases positivas (BLA+), dentro destas resistências enzimáticas, temos  $\beta$ -lactamase TEM-1 (gen *blaTem-1*), que corresponde cerca de 90-95% das resistências encontradas em Hi, e a  $\beta$ -lactamase ROB-1 (gen *blaRob-1*), que corresponde 5-10% das resistências. As cepas de Hi que apresentam este mecanismo enzimático de resistência à ampicilina, denominam-se  $\beta$ -lactamase positivo resistente à ampicilina (BLPAR). Nossos resultados mostram que nas 20 amostras estudadas, a maioria das cepas (20/18) foram Hi não tipável (HiNT) e somente duas (10%) foram do sorotipo b. Quanto a susceptibilidade aos antimicrobianos, cinco cepas foram resistentes à ampicilina. Destas três revelaram ser beta-lactamase positiva (15%). As outras duas são resistentes por outro mecanismo. Estes resultados demonstram que mesmo num universo pequeno (20 cepas) ainda encontramos dois Hib, sendo que um foi originário de um caso de meningite. A maioria dos isolados foram HiNT o que está de acordo os isolados infecciosos de Hi descritos na literatura atual. Nossos resultados são otimistas para o prosseguimento deste estudo, visto que, no Brasil, poucos trabalhos revelam a situação epidemiológica da doença por *Haemophilus*, a diversidade atual das infecções e o perfil de susceptibilidade de antibióticos na população adulta.

**Palavras-chave:** *Haemophilus Influenzae*; Beta-Lactamase; Marcadores de Resistência

**e-mail:** racbarboza@gmail.com



**Programa de  
Inovação Tecnológica  
(INOVATEC)**

## IDENTIFICAÇÃO DOS PRINCIPAIS AGENTES ETIOLÓGICOS DAS MENINGITES BACTERIANAS POR PCR EM TEMPO REAL

**Bolsista:** Aline Carvalho de Azevedo

**Orientador:** Ivano de Filippis

**Laboratório:** Micro-organismos de Referência. Setor de Bactérias e Arqueas

**Departamento:** Microbiologia

### RESUMO

As meningites bacterianas são caracterizadas como doenças infecto-contagiosas, agudas que atingem principalmente faixa etária baixa, podendo também infectar adolescentes, adultos e idosos. Os principais agentes etiológicos das meningites bacterianas são a *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e o *Streptococcus pneumoniae* que podem também causar outras doenças invasivas como septicemia, pneumonia, entre outras. De um modo geral, a transmissão desses agentes ocorre de pessoa a pessoa, através das vias respiratórias, por emissão de aerossóis e secreções da nasofaringe. Apresenta distribuição mundial com predomínio no inverno, o que facilita a sua transmissão devido à maior aglomeração populacional em lugares fechados. A incidência das meningites bacterianas hoje no Brasil para os 3 agentes mencionados é de 1 a 4 casos por 100.000 habitantes. Esses agravos são responsáveis por centenas de óbitos anualmente e os pacientes que sobrevivem podem ter sequelas. Os exames laboratoriais atuais não apresentam a rapidez e a especificidade necessárias para o diagnóstico desses agravos. Assim, a utilização de técnicas capazes de detectar e caracterizar esses agentes tornam-se ferramentas essenciais para o controle e vigilância epidemiológica dessas enfermidades. Métodos moleculares baseados na amplificação de regiões específicas do DNA pela técnica da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) são rotineiramente utilizados na identificação de microrganismos. Atualmente uma variação desta técnica é a PCR em Tempo Real, a qual permite o monitoramento da amplificação gerada durante a corrida através da ajuda de corantes intercalantes ou oligonucleotídeos marcados com fluorescência. A emissão dos compostos fluorescentes gera um sinal que aumenta proporcionalmente de acordo com o produto amplificado. Duas metodologias de PCR em Tempo Real foram utilizadas: Taqman e HRM. O sistema Taqman é baseado na atividade 5' exonuclease da Taq DNA polimerase em sondas marcadas com corantes fluorescentes. HRM baseia-se na identificação de variações nas sequências de nucleotídeos em regiões específicas, caracterizando amostras de DNA de acordo com o comportamento da dissociação e transição da dupla fita para fita simples com o aumento da temperatura.

Após a extração e dosagem do DNA, foram realizadas diluições seriadas para a determinação do limite de detecção de cada microrganismo de referência de forma isolada (uniplex) e simultânea (multiplex). Os resultados gerados pelas corridas demonstram que ambas as metodologias foram eficazes na obtenção do limite de detecção. Testes com os sistemas Taqman e HRM uniplex revelaram limites similares, na faixa de 200 fg/ $\mu$ L, o que corresponde aproximadamente a 20 cópias de genoma bacteriano. O resultado do teste Taqman multiplex revelou o limite na faixa de 1-2 pg/ $\mu$ L. Numa próxima etapa serão utilizadas amostras clínicas com resultado negativo por testes convencionais para pesquisa dos três agentes por Taqman e HRM.

**Palavras-Chave:** Meningites Bacterianas; PCR em Tempo Real; Diagnóstico Molecular

**e-mail:** [aline.azevedo@incqs.fiocruz.br](mailto:aline.azevedo@incqs.fiocruz.br)

## PROJETO PILOTO DE PRODUÇÃO E CERTIFICAÇÃO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA DE MONENSINA EM MATRIZ LEITE EM PÓ

**Bolsista:** Leandro Alves Gomes de Oliveira

**Orientador:** Bernardete Ferraz Spisso

**Laboratório:** Alimentos. Setor de Resíduos

**Departamento:** Química

### RESUMO

Há cerca de 8.000 anos humanos utilizam leite de outras espécies nas dietas, e uma importante indústria têm se desenvolvido em torno do processamento do leite. A administração de antibióticos a animais produtores de alimentos para prevenir e eliminar infecções representa um risco à saúde humana devido à possibilidade de contribuir para a resistência microbiana. Um material de referência certificado (MRC) auxilia a determinação de resíduos de antimicrobianos e de outros fármacos. Segundo a ISO Guia 35, sobre princípios gerais e estatísticos para certificação de materiais de referência, um MRC é suficientemente homogêneo e estável, caracterizado por um procedimento metrologicamente válido para uma propriedade especificada. Ele é acompanhado de um certificado que fornece o valor de propriedade, a incerteza associada e uma declaração de rastreabilidade metrológica. Um material de leite fortificado com monensina, um antibiótico da classe dos ionóforos poliéteres, foi produzido por liofilização, em três lotes com 116 frascos cada. O material foi submetido a testes de homogeneidade e estabilidade que atenderam aos padrões da Guia. Os dados da homogeneidade foram tratados por uma análise de variância (ANOVA) de um fator, e a análise de tendência da estabilidade foi avaliada pelo teste t de Student. A contribuição desses estudos para a incerteza associada ao valor de propriedade foi calculada: para a homogeneidade, pelas médias quadráticas determinadas na ANOVA,  $u_{bb} = 0,0508$  (3,94%); e para a estabilidade, pela estimativa da taxa de degradação devido ao transporte e ao armazenamento,  $u_{ts} = 0,0823$  (7,10%) e  $u_{lt} = 0,0757$  (6,95%). Na atual etapa, o monitoramento da estabilidade e a caracterização estão em andamento. No dia 16/9/2014, o monitoramento completará 18 de 30 meses, e duas amostras anteriormente sorteadas serão analisadas. A caracterização está sendo desenvolvida baseada em medições por meio de uma rede de laboratórios empregando um ou mais métodos. Foram contactados 22 laboratórios nacionais e 3 internacionais, mas somente 2 nacionais e um internacional se interessaram em participar do estudo interlaboratorial para caracterização. Um dos interessados, apesar da disposição, possui experiência apenas na área de resíduos de ionóforos em matriz carne de frango. Os resultados da consulta aos laboratórios evidenciam a dificuldade para a caracterização de um material de matriz de tal complexidade pela estratégia do estudo interlaboratorial e o grau de inovação do presente projeto, já que não existe MRC disponível de ionóforos poliéteres em matriz leite.

**Palavras-Chave:** Material de Referência; Monensina; Leite

**e-mail:** leandroagdeoliveira@gmail.com

# DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE PRODUÇÃO DE ITENS DE ENSAIO EM MATRIZ ÁGUA PARA OS PARÂMETROS: PESQUISA DE E. COLI E CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS

**Bolsista:** Rodrigo Domingos Overa Tavares

**Orientadora:** Paola Cardarelli-Leite

**Laboratório:** Microbiologia de Alimentos e Saneantes. Setor de Alimentos

**Departamento:** Microbiologia

## RESUMO

A qualidade da água é uma das grandes preocupações da saúde pública em todo o mundo. A alta ocorrência de doenças de veiculação hídrica, como as doenças diarreicas agudas, são as principais causas de mortalidade principalmente em crianças. No Brasil, a Portaria nº2.914/2011 é a legislação que dispõe sobre os padrões de potabilidade da água para consumo humano. Essa legislação estabelece como padrão microbiológico a ausência de *Escherichia coli* em 100 mL e recomenda o acompanhamento da contaminação de bactérias heterotróficas, que não deve ultrapassar o limite de 500 UFC/mL. A utilização de procedimentos de garantia da qualidade é essencial para a credibilidade dos resultados laboratoriais. A norma NBR ISO/IEC 17025 é utilizada mundialmente como referência em laboratórios de ensaios e descreve como um dos métodos de controle dos procedimentos de análise a adesão em práticas de ensaios de proficiência (EP). O objetivo deste estudo foi a produção de itens de ensaio (IE) para uso em uma rodada de EP a ser oferecida futuramente a laboratórios que realizam o controle microbiológico de água para o consumo humano nos dois ensaios de pesquisa de *E. coli* e na enumeração de bactérias heterotróficas. Três lotes de IE foram produzidos. Para o ensaio de pesquisa de *E. coli* foram preparados dois lotes um com *E. coli* e outro com *Klebsiella spp.*; para o ensaio quantitativo foi produzido um lote misto contendo *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*. As cepas foram cultivadas em caldo infusão cérebro-coração. As concentrações das células foram ajustadas em aparelho fotocolorímetro e quantificadas por plaqueamento direto. As suspensões de células foram diluídas em solução salina peptonada 0,1% contendo 100mM de sacarose até a concentração alvo. Para cada lote, volumes de 300 µL da suspensão foram distribuídos em frascos de vidro estéreis. Os frascos foram congelados a  $\leq -70^{\circ}\text{C}$  e submetidos à liofilização. Posteriormente, os frascos foram selados, rotulados e estocados a  $\leq -70^{\circ}\text{C}$ . Para o controle dos lotes foram realizados os testes de homogeneidade e os estudos de estabilidade em longa duração nas temperaturas de referência ( $-70^{\circ}\text{C}$ ) no período de 12 meses e estoque ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) durante 6 meses e, em curta duração em três temperaturas simulando condições de transporte durante quatro dias (4, 30 e  $35^{\circ}\text{C}$ ). Para as análises de controle do lote de bactérias heterotróficas, foi utilizado o plaqueamento direto com ágar padrão para contagem e para o lote de *E. coli* foi realizada a contagem em ágar cristal violeta vermelho neutro bile lactose. Para a avaliação estatística da homogeneidade foi aplicada a análise de variância, segundo o Protocolo Harmonizado e para os estudos de estabilidade a análise de regressão linear, seguindo as orientações da ISO GUIA 35:2012. Os três lotes preparados foram considerados homogêneos e estáveis para o uso pretendido, estando em condições adequadas para a utilização em um EP.

**Palavras-Chave:** Água; *Escherichia Coli*; Ensaio de Proficiência

**e-mail:** paola.cardarelli@incqs.fiocruz.br



**Programa de Residência  
Multiprofissional em  
Vigilância Sanitária**

# **AVALIAÇÃO DE SÓDIO (Na) EM REFEIÇÕES OFERECIDAS A PRÉ-ESCOLARES DE CRECHE INSTITUCIONAL: DETERMINAÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP OES)**

**Aluno:** Ana Victoria Regazone

**Tutor:** Silvana do Couto Jacob

**Preceptor:** Jaylei Monteiro Gonçalves

**Laboratório:** Alimentos. Setor de Elementos Inorgânicos

**Departamento:** Química

## **RESUMO**

A creche escolar é um local de aprendizado, muitas vezes, lúdico, com o objetivo de desenvolvimento psicossocial e motor. É através dela que as crianças lidam, em primeiro momento, com noções de coletividade e cidadania. Uma vez na instituição, essa é responsável pela alimentação dos pequenos. Pensando no aumento de doenças crônicas não-transmissíveis e a possibilidade de prevenção através de mudanças no contexto alimentar desde a infância, foi criada a Portaria Interministerial nº 1010, em 2006, que institui as diretrizes para a Promoção da Alimentação Saudável nas Escolas de Educação Infantil, Fundamental e Nível Médio nas Redes Pública e Privada, em Âmbito Nacional. O documento estabelece o “estímulo à produção de hortas escolares para realização com os alunos e utilização desses alimentos nas refeições, restrição à comercialização de alimentos e preparações com altos teores de gordura saturada, trans, açúcar livre e sal, incentivo ao consumo de frutas, verduras e legumes, sensibilização e capacitação de profissionais envolvidos com alimentação na escola para produção e oferta de alimentos mais saudáveis, além da co-responsabilidade dos pais em promover a alimentação saudável fora do ambiente acadêmico. O objetivo desse trabalho foi quantificar a concentração do elemento sódio (Na) nas refeições produzidas e oferecidas por uma creche de referência para crianças de 2 a 5 anos,. Estabeleceu-se, por conveniência, a colheita das preparações por um período de duas semanas consecutivas do mês de Julho, totalizando dez dias de coleta. A retirada das amostras aconteceu em quatro momentos ao longo do dia: colação, almoço, lanche e jantar. O almoço e o jantar eram compostos por prato principal, bebida e sobremesa. A metodologia empregada foi a homogeneização das amostras através de um liquidificador caseiro, seguida por digestão ácida em micro-ondas e, por fim, a quantificação desse elemento pela espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Os resultados encontrados correspondem a cada dia de coleta. O sexto dia apresentou a maior concentração de Na (2,0g), sucedido pelos oitavo e décimo dia, ambos com a mesma quantidade (1,3g). Levando-se em consideração que o pré-escolar consumiu tudo o que foi-lhe ofertado e que o jantar da creche não será sua última refeição do dia, faz-se necessário uma releitura da quantidade oferecida, uma vez que a recomendação desse mineral para crianças de 1 a 3 anos é de 1g/dia e, para crianças de 4 a 8 anos é de 1,2g/dia.

**Palavras-chave:** Avaliação Nutricional; Sódio; Creche

**e-mail:** anavicre@gmail.com

# REVALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE OCRATOXINA A EM CAFÉ TORRADO

**Aluno:** Bianca Gonçalves Medina

**Tutor:** Armi Wanderley da Nobrega

**Preceptor:** Maria Heloísa Paulino de Moraes

**Laboratório:** Alimentos. Setor de Resíduos

**Departamento:** Química

## RESUMO

O café é uma das bebidas mais apreciada e consumida no mundo. Dados da ABIC, mostram que o consumo per capita resultou em 4,87 kg de café torrado/habitante.ano. Além do alto consumo, o café tem uma importância relevante na economia do país já que o Brasil produz quase 50 mil sacas de café, e exporta mais de 30 milhões de sacas por ano. Por outro lado, o café verde tem sido alvo de contaminação por micotoxinas, principalmente a ocratoxina A (OTA) e por ser uma molécula termorresistente, permanece no mesmo após o processo de torrefação. Segundo a IARC, a OTA é classificada como carcinógeno do grupo 2B indicando assim o seu risco à saúde pública. No Brasil, a Anvisa estabelece para OTA o limite máximo tolerável de 10µg/kg em café torrado. Em 2001, o Jecfa definiu uma ingestão semanal tolerável provisória de 100 ng/kg de peso corporal. Assim, o desenvolvimento de métodos para detecção e quantificação de OTA em café se faz necessário para avaliar os níveis de contaminação nesta matriz, gerando dados que possam dar subsídios em ações de Vigilância Sanitária. O presente trabalho teve o objetivo otimizar e revalidar um método para determinação de OTA em café torrado. As razões que levaram à revalidação desse método foram a baixa carga de anticorpos para OTA na maioria das colunas de imunoafinidade e para atender aos estudos realizados para produção de itens de Ensaio de Proficiência. A revalidação foi realizada partindo de 5,0g de amostra, em vez de 25g, obtendo uma melhor recuperação do método nas mesmas concentrações avaliadas anteriormente no Laboratório de Micotoxinas. Para realização dessa validação, amostras de café torrado e moído foram adquiridas em mercado de Portugal e trazidas para o laboratório no Brasil. Depois de um estudo piloto no qual foi verificado a ausência da micotoxina ( $nd < lod$ ), foram então artificialmente contaminada, em 5 níveis de concentrações (0,7, 1,4, 2,5, 5,0, 7,5 e 10 ng/g) para 3 alíquotas em cada nível, pela adição de solução padrão de OTA. A recuperação foi calculada pela quantidade de toxina quantificada em relação à quantidade de toxina adicionada e os valores variaram de 78,0 a 94,0%. O desvio padrão relativo (CV) na avaliação da repetitividade do método variou de 14,6 a 2,1. O limite de detecção e o limite de quantificação, baseados no sinal/ruído, foram de 0,5 e 0,7µg/kg, respectivamente. Os resultados atenderam aos critérios estabelecidos por nossa legislação e aos do Codex Alimentarius demonstrando ser adequado na rotina do controle sanitário de ocratoxina A em café torrado nos laboratórios.

**Palavras-Chave:** Ocratoxina A; Café; Validação

**e-mail:** biancamedina@hotmail.com

# IMPORTÂNCIA DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO NO CICLO DO SANGUE: ANÁLISE COMPARATIVA DAS LEGISLAÇÕES REFERENTES AOS SERVIÇOS DE HEMOTERAPIA NO BRASIL E NOS ESTADOS UNIDOS

**Aluno:** Cristiane de Oliveira Campos

**Tutor:** Marisa Coelho Adati

**Preceptor:** Helena Cristina Guedes

**Laboratório:** Sangue e Hemoderivados

**Departamento:** Imunologia

## RESUMO

A partir da década de 80, com o surgimento da AIDS e a possibilidade de transmissão deste vírus por transfusão sanguínea, iniciou-se uma busca pela qualidade dos serviços de hemoterapias e modificações nas políticas existentes objetivando minimizar os riscos de contaminação de doenças transmissíveis pelo sangue em indivíduos transfundidos. Em busca da qualidade constante, nos serviços hemoterápicos do Brasil, foi instituída a portaria 1376/93, com o objetivo de normatizar o ciclo do sangue. No ano de 2004, visando um rigoroso controle nos serviços de hemoterapia foi publicada a RDC 153/2004 normalizada no grupo mercado comum – MERCOSUL, que dispõe sobre o regulamento técnico para todos os procedimentos nestes serviços. Porém, no Brasil, o ciclo do sangue é definido como um serviço de hemoterapia e não como unidade fabril, portanto não passível de cumprir os preceitos básicos das Boas Práticas de Fabricação como preconiza o FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos, por exemplo. A elaboração de regulamentos técnicos com ênfase em Boas Práticas de Fabricação aplicadas aos Serviços de Produção de Hemocomponentes baseados nas práticas de segurança do paciente submetido a transfusão do sangue, são essenciais nos sistemas de saúde nacionais. A constante ação de vigilância Sanitária torna-se cada vez mais evidente, tanto no sentido de induzir avanços na qualidade e segurança dos produtos e dos serviços de interesse a saúde, resultando em uma maior confiabilidade deste produto aos usuários. O presente trabalho, tem como objetivo, estabelecer uma análise comparativa entre as legislações brasileiras aplicáveis ao ciclo do sangue, identificar as diferenças existentes entre as mesmas comparando com as legislações americanas pertinentes. Este estudo será desenvolvido por meio do método indutivo, baseado em pesquisa e revisão bibliográficas. Serão utilizadas como base primária, as legislações obsoletas e atuais referenciadas no Brasil com as preconizadas pelo FDA em relação a qualidade e o processo de produção do sangue. Além disso, demonstrar a importância da implementação dos preceitos das boas práticas de Fabricação visando a qualidade e segurança dos usuários, produtos e processos realizados nos serviços de hemoterapia.

**Palavras- Chave:** Qualidade do Sangue; Boas Práticas de Fabricação; Serviços de Hemoterapia

**e-mail:** cristiane.campos@incqs.com.br

## DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE IONÓFOROS POLIÉTERES EM MÚSCULO DE FRANGO POR LC-MS/MS

**Aluno:** Jair Martins Maria Cavalcante de Melo

**Tutor:** Bernardete Ferraz Spisso

**Preceptor:** Mararlene Ulberg Pereira

**Laboratório:** Alimentos. Setor de Resíduos

**Departamento:** Química

### RESUMO

Os ionóforos poliéteres (IP) são antibióticos usados para prevenir a coccidiose em frangos de corte, sendo a lasalocida (LAS), monensina (MON), senduramicina (SEN), narasina (NAR), salinomicina (SAL) e a maduramicina (MAD) registradas para essa finalidade no Brasil. Para proteger a saúde humana diferentes autoridades regulatórias têm estabelecido Limites Máximos de Resíduos para substâncias farmacologicamente ativas em alimentos. Existem dois programas nacionais de monitoramento de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos implementados no país, o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVet) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Somente o MAPA incluiu os IP no programa setorial para carne. A fim de possibilitar a avaliação da conformidade dos alimentos frente às legislações cada vez mais rígidas sobre resíduos e contaminantes, métodos analíticos adequados precisam estar disponíveis e serem capazes de identificar de maneira inequívoca os resíduos e quantificá-los em concentrações muito baixas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método para determinação de LAS, MON, SEN, NAR, SAL e MAD em músculo de frango, empregando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS). Foram realizados diferentes experimentos de extração/purificação, tais como, simples extração com acetonitrila e QueChERS. De todos os experimentos testados, os melhores resultados foram obtidos com o método QueChERS que utilizou na primeira etapa de extração acetonitrila e os sais sulfato de magnésio e acetato de sódio e na segunda etapa de purificação a adição de amina primária e secundária (PSA) em uma alíquota do extrato centrifugado. As recuperações obtidas variaram de 60% para a LAS a 95% para a SEN, com um desvio padrão relativo máximo de 7%. A detecção e quantificação dos analitos pela técnica de LC-MS/MS conferiu ao método a seletividade e a sensibilidade necessárias à determinação de IP em músculo de frango conforme os requisitos atualmente em vigor pelas recomendações internacionais. Após a validação, o método poderá ser aplicado para análises de rotina no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, permitindo a avaliação da conformidade de amostras de acordo com os limites recomendados pelo Codex Alimentarius e pela Comunidade Europeia, contribuindo para ações de vigilância sanitária.

**Palavras-Chave :** Ionóforos Poliéteres; Frango; LC-MS/MS

**e-mail:** jair.melo@incqs.fiocruz.br

# LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE PRODUTOS PARA DIAGNÓSTICO DE USO IN VITRO: UMA ANÁLISE CRÍTICA

**Aluno:** Joice Alves Cruzeiro

**Tutor:** Marisa Coelho Adati

**Preceptor:** Álvaro Ribeiro, Helena Cristina Guedes e Valéria Furtado de Mendonça

**Laboratório:** Sangue e Hemoderivados

**Departamento:** Imunologia

## RESUMO

Grande parte dos produtos para a saúde, nacionais ou importados, não podem ser industrializados, expostos à venda ou entregues ao consumo no mercado brasileiro sem, antes, obter o registro do Ministério da Saúde. Desta forma o registro sanitário é um ato privativo do órgão competente do Ministério da Saúde destinado a comprovar o direito de fabricação dos produtos submetidos ao regime da Lei 6360 de 23 de setembro de 1976, permitindo ao órgão regulador o conhecimento dos produtos industrializados e comercializados com a finalidade primordial de garantir eficácia e segurança. Estão inclusos nessa categoria de produtos para a saúde, os produtos para diagnóstico de uso in vitro. Eles consistem em um conjunto de elementos utilizados estritamente para fins de diagnóstico laboratorial, que tem por finalidade realizar a determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em amostras provenientes do organismo humano (BRASIL, 2006). No Brasil, a concessão de registro de produtos é de competência da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), através da Gerência de Produtos para Diagnósticos de uso in vitro (GGTPS/GEVIT), responsável pela regulamentação, controle e fiscalização desses produtos. O presente trabalho tem como objetivo analisar criticamente a legislação brasileira referente ao registro de produtos para diagnóstico de uso in vitro. Para tal, propõe-se a realização de um levantamento da legislação referente aos produtos para diagnóstico de uso in vitro, realizando uma avaliação histórica apresentando as alterações na legislação aplicável ao registro destes produtos, assim como realizar um estudo comparativo entre as respectivas leis e regulamentos técnicos aplicáveis, em âmbito nacional e frente as orientações técnicas do IMDRF (International Medical Device Regulators), pontuando concordâncias, vantagens e desvantagens. Por fim, será feita uma avaliação da aplicabilidade e efetividade de tais leis e regulamentos técnicos, afim de sugerir melhorias no que diz respeito aos processos de registro, controle pré e pós comercialização de tais produtos.

**Palavras-Chaves:** Produto para Diagnóstico; Registro Sanitário; Legislação Sanitária

## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO QUECHERS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE SULFONAMIDAS EM LEITE UHT

**Aluno:** Julia Rodrigues Martins Pastor dos Santos

**Tutor:** Bernardete Ferraz Spisso

**Preceptor:** Mychelle Alves Monteiro

**Laboratório:** Alimentos. Setor de Resíduos

**Departamento:** Química

### RESUMO

As sulfonamidas (SAs) são antimicrobianos sintéticos amplamente utilizadas tanto na medicina veterinária quanto na medicina humana. São empregadas para tratar doenças, controlar e prevenir infecções e para a promoção do crescimento de animais produtores de alimentos, embora esse último uso não seja autorizado no Brasil. O manejo inadequado dessas substâncias na medicina veterinária pode levar ao aparecimento de resíduos desses medicamentos nos alimentos em níveis inseguros à saúde humana levando a uma preocupação cada vez maior com a resistência bacteriana. Para o controle de resíduos em alimentos foram criados programas que visam o monitoramento, baseados no atendimento aos LMR (Limites Máximos de Resíduos). Um LMR de 100 µg/kg foi estabelecido no Brasil para o somatório de sulfadimetoxina, sulfaquinoxalina, sulfametazina e sulfatiazol em leite. Já a União Europeia considera o mesmo valor para o total combinado dos resíduos de todas as substâncias do grupo das SAs. Essa classe foi contemplada pelos dois programas nacionais de monitoramento vigentes no país, o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e o Programa de Monitoramento de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O objetivo deste trabalho foi propor uma metodologia para determinação de SAs em leite UHT (sulfadimetoxina, sulfamerazina, sulfametazina, sulfacetamida, sulfametoxazol, sulfaquinoxalina, sulfatiazol e dapsona). A extração foi feita pelo método QuEChERS, onde o leite foi extraído com acetonitrílica acidificada com ácido fórmico 0,1% com posterior adição de MgSO<sub>4</sub> e CH<sub>3</sub>COONa. As amostras foram centrifugadas e uma alíquota do sobrenadante foi levada à secura sob fluxo de N<sub>2</sub> e aquecimento e ressuspendida com uma solução de 80% de ácido fórmico 0,1% em água e 20% de metanol. As amostras foram analisadas por LC-MS/MS com ionização por eletrospray positivo. O método utilizado foi considerado eficiente, obtendo-se boa separação entre os picos e boa linearidade no intervalo de 12,5 a 300 µg/kg com um R<sup>2</sup> ≥ 0,9868. A recuperação dos analitos foi de 93% a 103%, com desvio padrão relativo ≤ 11%. Os ensaios demonstraram ainda que o método é adequado para a análise das SAs considerando o LMR estabelecido pela legislação brasileira e europeia. Esse método, após ser validado, poderá ser aplicado em análises de rotina no INCQS, permitindo a avaliação da conformidade do leite quanto à presença de resíduos de SAs a fim de contribuir para ações de Vigilância Sanitária.

**Palavras-Chave:** Medicamentos Veterinários; Leite; Sulfonamidas

**e-mail:** juliamartinsmps@hotmail.com

# IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HORMÔNIO DE CRESCIMENTO RECOMBINANTE PARA USO HUMANO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA ASSOCIADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

**Aluno:** Julio Cesar Queiroz Penha

**Tutor:** Filipe Soares Quirino da Silva

**Preceptor:** Cláudia Maria da Conceição

**Laboratório:** Biológicos e Artigos e Insumos para a Saúde. Setor de Imunobiológicos

**Departamento:** Química

## RESUMO

O hormônio do crescimento (GH) é produzido por células especializadas, os somatotofos, localizadas na porção anterior da hipófise, sendo constituído por uma cadeia polipeptídica contendo 191 aminoácidos, duas pontes dissulfeto e massa molecular de 22125 daltons (Da). O GH estimula o crescimento dos ossos, atuando também sobre o metabolismo de proteínas, lipídeos e carboidratos. A sua deficiência leva a manifestações clínicas e metabólicas diversas. O tratamento com hormônio de crescimento tem sido realizado desde o final dos anos 50, sendo utilizado até o início dos anos 80 com GH extraído de cadáveres humanos. Somente após 1985, com o advento da tecnologia do DNA recombinante, houve uma maior disponibilidade deste hormônio para o tratamento dos distúrbios relacionados à sua deficiência. A qualidade dos produtos fornecidos à população deve ser assegurada e, para isso, órgãos de vigilância sanitária utilizam ferramentas para que esses medicamentos sejam avaliados, evitando possíveis danos à saúde pública. O objetivo do presente trabalho foi identificar e caracterizar as formulações de hormônio de crescimento recombinante (rhGH) para uso humano disponíveis no mercado utilizando a técnica de cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas. Para a realização das análises foi utilizado um cromatógrafo líquido acoplado a um espectrômetro de massas fabricado pela Waters® Corporation, modelo SYNAPT G2-S HDMS. Para o experimento de proteína intacta, o padrão fornecido pela Farmacopeia Europeia (FE) e quatro amostras, ambos em duplicata, não sofreram tratamento prévio. Todos foram diluídos utilizando uma solução de ácido fórmico 0,1%, obtendo uma concentração de 50 µg L<sup>-1</sup> para ambos. Para a realização do experimento de mapa de peptídeos, as amostras e o padrão foram preparados de acordo com um protocolo de digestão trípica da Waters® Corporation. A FE preconiza a identificação do hormônio de crescimento pela técnica de eletroforese capilar feita com obtenção de um eletroferograma com apenas um pico principal correspondente ao hormônio. Com a utilização do espectrômetro de massas acoplado ao cromatógrafo líquido de ultra eficiência foram obtidos espectros contendo um pico majoritário tanto para o padrão quanto para as amostras. Os resultados preliminares obtidos permitiram identificar o composto em todas as amostras analisadas em conformidade com o padrão utilizado. Para o padrão foram encontrados valores de massa exata de 22126.41 e 22126.51 Da, a amostra 1 apresentou valores de 22125.92 e 22125.82 Da, a amostra 2 de 22125.79 e 22125.75 Da, a amostra 3 de 22125.74 e 22125.89 Da e a amostra 4 de 22125.87 e 22125.88 Da. A partir dos resultados preliminares também foi possível determinar o erro máximo de massa exata, em partes por milhão, de 65 para o padrão e 38.5 para as amostras, demonstrando a exatidão na determinação da massa do hormônio no padrão e amostra utilizados de acordo com a massa de 22125 Da preconizada na FE.

**Palavras-Chave:** Hormônio do Crescimento; Espectrometria de Massas; Vigilância Sanitária

**e-mail:** jc.vetuff@gmail.com

# AVALIAÇÃO DE PUREZA EM SOROS ANTIOFÍDICOS A PARTIR DE METODOLOGIAS FÍSICO-QUÍMICAS

**Aluno:** Luiza Coutinho Costa

**Tutor:** Filipe Soares Quirino da Silva

**Preceptor:** Claudia Maria da Conceição

**Laboratório:** Biológicos e Artigos e Insumos de Saúde. Setor de Imunobiológicos

**Departamento:** Química

## RESUMO

Os acidentes com animais peçonhentos são de grande importância médica, devido a sua gravidade e frequência. No Brasil, ocorrem cerca de 20.000 casos/ano, sendo que, em 2011, as serpentes responderam por aproximadamente 5.000 casos registrados no Sistema Nacional de Informações Tóxico-farmacológicas (SINITOX). Estima-se que o número de casos seja ainda maior devido a problemas relacionados à notificação de acidentes deste tipo em várias regiões. As espécies comumente envolvidas nestes acidentes são as do gênero *Bothrops* e *Crotalus*, sendo que a primeira causa quase 70% dos acidentes. A administração de soros antiofídicos por via endovenosa, é o tratamento de escolha para os acidentes envolvendo serpentes. Os soros heterólogos antivenenos são concentrados de F(ab')<sub>2</sub> obtidos a partir da extração dos venenos das serpentes. Após a extração do veneno, o antígeno é processado, diluído, filtrado e encaminhado às fazendas para inoculação em equinos. Os animais permanecem em quarentena para produção de anticorpos e, ao término deste período, o soro é elaborado a partir do seu plasma. O plasma é, então, diluído e hidrolisado por ação enzimática, sendo posteriormente filtrado e purificado, além de sofrer a adição de substâncias para sua isotonzificação e conservação. Por se tratar de um soro heterólogo, é possível que contenha impurezas capazes de desencadear reações adversas aos pacientes durante e após a sua administração, sendo fundamental que se realize uma avaliação de pureza. A Farmacopeia Brasileira (5ª edição) não indica a realização de ensaios físico-químicos para avaliação de pureza, portanto este trabalho tem por objetivo a experimentação de técnicas para este fim. Inicialmente, realizou-se a cromatografia por exclusão molecular (CEM) em um cromatógrafo líquido do modelo LC-10 do fabricante Shimadzu® com uma coluna TSK-GEL® G3000SWXL do fabricante Tosoh Bioscience com detecção por varredura no ultravioleta de 220 e 280nm. A fase móvel utilizada foi 0,1M de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 0,2M de NaCl com pH ajustado para 6,8. Para calibração da coluna, foram utilizados padrões de anidrase carbônica (29 kDa); albumina bovina (66 kDa); álcool desidrogenase (150 kDa); catalase (232 kDa); ferritina (440 kDa) e tireoglobulina (669 kDa). O soro de escolha para teste preliminar foi um soro antibotrópico e foram observados dois picos no cromatograma indicando, possivelmente, não só a presença do F(ab')<sub>2</sub>, mas também de possíveis contaminantes, tais como: F(ab'); Fc; IgG íntegra; resíduos de enzimas e albumina equina, provenientes do processamento deficiente do plasma. Outros métodos serão utilizados para este estudo como a espectrometria de massas e a eletroforese para uma melhor caracterização destes soros.

**Palavras-Chave:** Soro Antiofídico; Teor de Pureza; Cromatografia

**e-mail:** luiza.costa@incqs.fiocruz.br

## **AVALIAÇÃO LABORATORIAL DA QUALIDADE DOS HEMODERIVADOS: UM INSTRUMENTO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA**

**Aluno:** Marlon Akio da Silva Issobe

**Tutor:** Marisa Coelho Adati

**Preceptor:** Helena Cristina Guedes

**Laboratório:** Sangue e Hemoderivados

**Departamento:** Imunologia

### **RESUMO**

Os Hemoderivados são medicamentos, produtos biológicos que têm o plasma humano obtido a partir de doações de sangue voluntárias, altruístas e não-remuneradas como matéria-prima. São produzidos por uma sequência de processos industriais extremamente controlados: fracionamento, purificação, concentração de proteínas e inativação/remoção de contaminantes, com a finalidade de lhes conferir estabilidade, eficácia, segurança e qualidade. Pertencem a este grupo de produtos os fatores da coagulação como Fator VIII, Fator IX, Complexo Protrombínico, entre outros. São destinados ao tratamento de várias doenças graves, entre elas a hemofilia (A e B), coagulopatias e imunodeficiência primária. Entretanto, quando não produzidos, transportados e/ou armazenados sob rigoroso controle, podem propiciar ou ainda acentuar os agravos em uma população dependente e debilitada, se não atenderem os requisitos técnicos de qualidade estabelecidos na legislação vigente (RDC nº 46, de 18 de maio de 2000). Neste contexto, objetivando a redução e prevenção de riscos à saúde da população usuária de tais produtos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária e o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS/FIOCRUZ – vêm atuando no monitoramento sistemático dos hemoderivados, por meio da coleta pela GGPAF/ANVISA nos aeroportos de São Paulo, Brasília, Minas Gerais, Recife e Rio de Janeiro, antes da sua internalização no mercado nacional. É de responsabilidade do INCQS a análise e liberação de lotes de hemoderivados como parte do procedimento realizado pela ANVISA, com vistas à liberação de lotes para o consumo no Brasil. O objetivo deste trabalho é discutir a importância do controle de qualidade dos hemoderivados realizado no país. Para realização do presente trabalho será realizada uma revisão da literatura e da legislação brasileira pertinente ao controle da qualidade de hemoderivados, assim como, avaliação dos resultados das análises controle referente aos fatores da coagulação realizadas nos últimos 5 anos pelo INCQS, ressaltando a importância do controle da qualidade de tais produtos no país.

**Palavras-chave:** Hemoderivados; Controle de Qualidade; Dispositivos Legais

**e-mail:** marlon.issobe@incqs.fiocruz.br

# DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO, CÁDMIO E CHUMBO NAS FOLHAS E NA INFUSÃO DE CHÁS COMERCIALIZADOS NO RIO DE JANEIRO, BRASIL

**Aluno:** Priscila Paula Duboc

**Tutor:** Silvana do Couto Jacob

**Preceptor:** Lisia Maria Gobbo dos Santos

**Laboratório:** Alimentos. Setor de Resíduos

**Departamento:** Química

## RESUMO

São colhidos anualmente cerca de 2,5 milhões de toneladas de chá e 75% dessas folhas secas são fabricados como chá preto (*Camellia sinensis*), sendo uma das bebidas não alcoólicas mais populares no mundo, que é consumida por mais de dois terços da população mundial devido aos seus efeitos medicinais, estimulantes e refrescantes. Apesar dos efeitos benéficos, estudos têm demonstrado que o consumo excessivo de chá pode causar mal à saúde. A partir das folhas de *C. sinensis* são produzidos diferentes tipos de chás: preto, verde e branco, que diferem devido ao grau de processamento e composição. O objetivo deste estudo foi avaliar a concentração de As, Cd e Pb nas folhas e na infusão dos chás verde, preto e branco, afim de verificar se esses elementos são lixiviados das folhas para a infusão. Foram adquiridas 6 marcas diferentes em supermercados, sendo 6 amostras chá branco, 5 chá verde e 5 chá preto, total de 16 amostras. As amostras foram submetidas a digestão ácida em micro-ondas (Speed Wave – Berghof) e em seguida transferidas para balões volumétricos de 25 mL, e posteriormente diluídas, uma alíquota de 3 mL em 15 mL, e adicionadas de Rh (padrão interno), concentração final de 10 mg L<sup>-1</sup>. A infusão foi feita de acordo com a indicação dos fabricantes, sendo adicionadas de HNO<sub>3</sub> e Rh, concentração final 1% e 10 mg L<sup>-1</sup>. As determinações de As, Cd e Pb nas folhas e nas infusões foi feita por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (Nexion 300D – Perkin Elmer) equipado com um nebulizador concêntrico (MEINHARD®) e uma câmara de vidro ciclônica. O gás argônio com pureza mínima 99,99% foi obtido a partir da White Martins (São Paulo, Brasil). O equipamento foi operado no modo padrão, tempo de permanência de 15 ms, 50 sweeps, uma leitura por replica, 3 repetições. A avaliação diária de desempenho do instrumento foi feita utilizando uma solução padrão com 1 µg L<sup>-1</sup> de Be, Ce, Fe, In, Li, Mg, Pb, and U com 1% HNO<sub>3</sub> e os resultados foram comparados com os parâmetros fornecidos pelo fabricante. A concentração de As, Cd e Pb nas folhas de chá foram 0,02-0,4 mg kg<sup>-1</sup>; 0,02-0,09 mg kg<sup>-1</sup> e 0,1-3,6 mg kg<sup>-1</sup>, e a concentração nas infusões foram <0,005 -0,1 µg / 200 ml; <0,005 -0,02 mg / 200 mL e 0,01 -0,4 mg / 200 mL, quase não houve transferência de metal das folhas de chá para a infusão. A concentração de Pb nas folhas de chá branco (0,8-3,6 mg kg<sup>-1</sup>) foi maior do que nos chás verde e preto, e do que limite estabelecido pela ANVISA (0,6 mg kg<sup>-1</sup>). A concentração de As e Cd nas folhas e infusão foi abaixo dos limites da ANVISA: Cd - 0,4 mg kg<sup>-1</sup> e As - 0,6 mg kg<sup>-1</sup>.

**Palavras Chaves:** Metais Pesados; Chá; Infusão; ICP-MS

**e-mail:** ppduboc@gmail.com

# VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO QUECHERS PARA ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM MATRIZ PIMENTÃO

**Aluno:** Shaiene Vieira Carmo

**Tutor:** Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso

**Preceptor:** Lucia Helena Pinto Bastos

**Laboratório:** Alimentos. Setor de Resíduos

**Departamento:** Química

## RESUMO

Os pimentões são frutos pertencentes à família Solanaceae e ao gênero Capsicum. Os estados de São Paulo e Minas Gerais são os principais produtores do produto, respondendo por cerca de 35% da produção nacional, atingindo a marca de 248.767 toneladas no ano de 2006. O mercado brasileiro de agrotóxicos é o maior do mundo. No segundo semestre de 2010 e primeiro semestre de 2011 esse mercado movimentou 936 mil toneladas de produtos, sendo 833 mil produzidas no País, e 246 mil importadas. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) iniciou em 2001, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos de Alimentos (PARA) com o objetivo de avaliar os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos in natura que chegam à mesa do consumidor. São permitidos pela legislação brasileira 38 agrotóxicos de diferentes classes químicas para a cultura de pimentão. No último relatório do PARA, o pimentão, o morango e o pepino lideram o grupo dos alimentos mais contaminados por agrotóxicos. Os problemas detectados foram o teor de resíduos de agrotóxicos acima do permitido e o uso de produtos não autorizados para as culturas. No caso do pimentão, 91,8% das amostras analisadas apresentaram problemas de contaminação por agrotóxicos. O objetivo do trabalho foi validar método analítico quantitativo para a determinação de quarenta e nove resíduos de agrotóxicos, em pimentão, usando método de extração QuEChERS com detecção por cromatografia gasosa acoplada a detector por micro captura de elétrons – CG- DCE. O método de extração QuEChERS inclui três etapas: extração, partição e limpeza. A extração é feita com acetonitrila acidificada com 1% de ácido acético, capaz de permitir uma ampla extração de agrotóxicos de diferentes polaridades e com menor quantidade de co-extrativos lipofílicos como gorduras. A etapa de partição consiste na diminuição da solubilidade dos agrotóxicos em água e da água na fase da acetonitrila. Para a etapa de limpeza foram testadas quatro diferentes fases: MgSO<sub>4</sub>/PSA, MgSO<sub>4</sub>/PSA/C18, MgSO<sub>4</sub>/PSA/C18/carvão ativo e MgSO<sub>4</sub>/PSA/Carvão ativo. Essa etapa é fundamental para reduzir interferências e o efeito matriz, além de diminuir a necessidade de manutenção do sistema cromatográfico. Os parâmetros avaliados na validação foram seletividade, linearidade, faixa de trabalho, efeito matriz, limite de detecção e quantificação, precisão e exatidão. As recuperações obtidas variaram de 71 a 119%, considerando os níveis de adição de agrotóxicos/amostra de 0,0075 a 0,5416 mg kg<sup>-1</sup>. Os limites de detecção do método variaram de 0,004 a 0,020 mg kg<sup>-1</sup> e os de quantificação entre 0,01 a 0,03 mg Kg<sup>-1</sup>. Com os resultados obtidos, o método foi considerado validado na matriz pimentão para quarenta agrotóxicos.

**Palavra-Chave:** Agrotóxico; Pimentão; Validação

**e-mail:** shaiene.carmo@incqs.fiocruz.br



**CNPq**

**Bolsista:** Cátia Cardoso da Silva

**Orientador:** Silvia Maria Lopes Brício

**Laboratório:** Microbiologia de Alimentos e Saneantes. Setor de Alimentos

**Departamento:** Microbiologia

### RESUMO

A NBR ISO/IEC 17025:2005, é a principal norma da qualidade empregada em laboratórios de ensaio. Esta descreve como um dos procedimentos para a garantia da qualidade e confiabilidade dos resultados de análises a participação de laboratórios em ensaios proficiência (EP). Entretanto, os laboratórios que almejam comprovar a qualidade dos seus resultados analíticos encontram empecilhos para participação em EP devido aos custos onerosos cobrados pelos organizadores, o que reduz a participação, principalmente de laboratórios públicos nesses programas. Destaca-se a importância do desenvolvimento de itens de ensaio (IE) microbiológicos em diferentes matrizes de alimentos, a fim de se avaliar o desempenho dos laboratórios participantes dos programas de EP na análise de produtos distintos. Dentre os cereais de importância na alimentação humana destaca-se o arroz. O objetivo desse trabalho foi produzir quatro lotes de IE em matriz de arroz para a realização de uma rodada de EP realizada no mês de julho de 2014, oferecida aos laboratórios brasileiros, com foco nos Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACEN). O Brasil é o nono produtor mundial de arroz e o primeiro fora do continente asiático. No país, o consumo médio varia de 74 a 76 Kg/habitante/ano, sendo este cereal o principal produto da cesta básica brasileira. A escolha dos parâmetros para o controle microbiológico do arroz foi baseada na RDC Nº12. Primeiramente foi estudado o procedimento de contaminação direta da matriz com os diferentes micro-organismos. Os resultados indicaram quedas expressivas na concentração dos inóculos adicionados, já nas primeiras etapas de controle. Desta forma, foi realizado o preparo dos IE destacado da matriz. Os IE foram produzidos para os ensaios de pesquisa de *Salmonella* spp.; enumeração de *B. cereus*, coliformes a 45°C e estafilococos coagulase positiva. Para o preparo dos lotes foram utilizadas cepas isoladas de amostras de alimentos. As concentrações de inóculo utilizadas no preparo dos diferentes lotes foram ajustadas em aparelho fotocolorímetro. Volumes de 1,0 mL da suspensão de cada um dos micro-organismos de cada lote foram distribuídos em frascos de vidro. Os analitos foram liofilizados e estocados a -70°C. Os itens de ensaio produzidos foram avaliados quanto a característica de homogeneidade e estabilidade em curta e longa duração. Foram preparados saches contendo 25 gramas de arroz cozido e autoclavado, acondicionados em embalagens metálicas e lacrados em máquina seladora a vácuo, que em seguida foram acondicionados em temperatura de refrigeração. Durante a rodada do EP foram realizados ensaios de controle qualitativo para *Salmonella* spp. e quantitativo para os demais micro-organismos, a fim de controlar o conteúdo dos itens de ensaio e garantir aos laboratórios o recebimento de IE semelhantes. A participação de laboratórios em programas de EP promove a possibilidade de avaliarem suas habilidades em obter resultados confiáveis, podendo também comparar o desempenho obtido, com o de outros laboratórios participantes.

**Palavra-Chave:** Arroz; Ensaio de Proficiência

**e-mail:** [silvia.bricio@incqs.fiocruz.br](mailto:silvia.bricio@incqs.fiocruz.br)

## Índice por Aluno / Bolsista

AZEVEDO, Aline Carvalho de.	45
BARBOZA, Ramon Cesar dos Santos.	43
BARRETO, Mayara Jhesikaline da Cruz.	21
BARROS, George Leon Machado.	39
BITTENCOURT, Lívia Bretas.	19
CAMPOS, Cristiane de Oliveira.	51
CARMO, Shaiene Vieira.	59
CORDEIRO, Vanessa Lira Ribeiro.	32
COSTA, Andreza Santos da.	10
COSTA, Luiza Coutinho.	56
CRUZ, Gleyce Carolina Santos.	15
CRUZEIRO, Joice Alves.	53
DINIZ, Raiane Rosales.	42
DINIZ, Roberta Lima Pará.	30
DUBOC, Priscila Paulo.	58
EMÍDIO, Douglas Ian Rosa.	36
FARIAS, Rafaela Almeida.	26
FERNANDES, Fernanda Souza.	38
FERREIRA, Tatiany Teles.	22
FREITAS, Mary Nei de Melo.	40
ISSOBE, Marlon Akio da Silva.	57
LOPES, Clarissa Fontes.	12
LUCAS, Fabio Porto Reis.	13
MALHEIROS, Jessica.	28
MARQUES, Julia Trece.	17
MEDINA, Bianca Gonçalves.	50
MELO, Jair Martins Maria Cavalcante de.	52
NASCIMENTO, Pamella Mascarenhas do.	41
OLIVEIRA, Gabriela Caramano de.	14
OLIVEIRA, Leandro Alves Gomes de.	46
PENHA, Julio Cesar Queiroz.	55
REGAZONE, Ana Victoria.	49
RODRIGUES, Sibebe de Araujo.	31
SANTOS, Julia Rodrigues Martins Pastor dos.	54
SANTOS, Kelly Oliveira.	18
SANTOS, Thaís dos.	23
SILVA, Ana Carolina Rosa da.	8

SILVA, Andressa Diniz Vargas da. 9  
SILVA, Felipe de Oliveira Rodrigues da. 37  
SILVA, Catia Cardoso da. 61  
SILVA, Hilton Felix da. 16  
SILVEIRA, Christiane Rose de A. Rangel da. 35  
SOUZA, Camilla Oliveira de. 11  
SOUZA, Vinícius Monteiro de. 24  
TAVARES, Rodrigo Domingos Ouver. 47  
UMEDA, Natália Saudeller. 29  
VASCONCELLOS, Luiza. 20  
VITÓRIO, Bruna Schuwartz de Assis. 34

## Índice por Orientador / Co-Orientador/ Tutor / Preceptor

ABRANTES, Shirley de Mello Pereira. 39  
ADATI, Marisa Coelho. 51, 53, 57  
ALMEIDA, Antonio Eugenio Castro Cardoso de. 24, 43  
BASTOS, Lucia Helena Pinto, 59  
BRANDÃO, Marcelo Luiz Lima. 29  
BOLLER, Maria Aparecida Affonso. 13  
BRÍCIO, Silvia Maria Lopes. 61  
CALDEIRA, Cristiane. 26, 43  
CALDEIRA, Nathalia Gonçalves Santos. 24  
CARDOSO, Maria Helena Wohlers Morelli, 59  
CLEMENTINO, Maysa Beatriz Mandetta. 23, 30 41  
CONCEIÇÃO, Cláudia Maria da. 10, 11, 12, 55, 56  
COUTADA, Leonardo. 8  
DELGADO, Isabella Fernandes. 32  
FERNANDES, Catia Aparecida Chaia Miranda. 30  
FERNANDES, Kayo Cesar Bianco. 23  
FERRARIS, Fausto Klabund. 31  
FILLIPIS, Ivano de. 9, 14, 29, 34, 45  
FREITAS, João Carlos Borges Rolim de. 21  
FRIEDRICH, Karen. 22  
FUST, Anna Maria Barreto Silva. 15, 19  
GONÇALVES, Jaylei Monteiro. 28, 49  
GUEDES, Helena Cristina. 51, 53, 57  
JACOB, Silvana do Couto. 28, 38, 49, 58  
LARANGEIRA, Andréa Pereira. 18  
LEANDRO, Katia Christina. 31, 40  
LEITE, Paola Cardarelli. 47  
MENDONÇA, Valéria Furtado de. 53  
MONTEIRO, Mychelle Alves. 54  
MORAES, Maria Heloísa Paulino de. 50  
NOBREGA, Armi Wanderley da. 50  
PÁDULA, Marcelo de. 42  
PEREIRA, Mararlene Ulberg. 52  
PINTO, Alicia Viviana. 42  
PRESGRAVE, Octavio Augusto França. 16, 26, 32, 36  
RIBEIRO, Álvaro. 53

ROMÃO, Célia Maria Carvalho Pereira Araújo. 20, 35  
SABAGH , Bruna Peres. 35, 37  
SANTOS, Jarbas Emílio dos. 17  
SANTOS, Lisia Maria Gobbo dos. 58  
SILVA, Filipe Soares Quirino da. 55, 56  
SILVA, Michele Feitoza. 15, 19, 38, 40  
SILVA, Sérgio Luiz da. 22  
SPISSO, Bernardete Ferraz. 46, 52, 54  
VALE, Renata de Freitas Dalavia. 15, 19  
VILLAS BOAS, Maria Helena Simões. 36, 37

## Índice por Palavra-Chave

16S rRNA. 23  
Adesina NadA. 14  
Agrotóxicos. 22, 28, 59  
Água. 23, 47  
Aglulhas Hipodérmicas. 19  
Antibióticos. 30  
Antimicrobianos. 24  
Arroz. 61  
Atividade Fungicida. 35  
Avaliação Nutricional. 49  
Bacteroidales. 23  
Beta-Lactamase. 43  
Boas Práticas de Fabricação. 51  
Bolsas de Sangue. 15, 38  
Café. 50  
Candida Albicans. 35  
Chá. 58  
Citrato de Sódio. 38  
CLAE. 10  
Cobre. 28  
Controle de Qualidade. 10, 11, 12, 15, 16, 42, 57  
Corantes Artificiais. 8  
Creche 49  
Criopreservação. 26  
Cromatografia. 8, 56  
Cromatografia Líquida de Alta. 40  
Cronobacter. 29  
Curva Dose-Resposta. 16  
Desinfetantes. 35, 37  
Diagnóstico Molecular. 45  
Dispositivos Legais. 57  
Doença Meningocócica. 9  
Dose Desafio. 13  
Efluente Hospitalar. 30  
Eletroforese Capilar. 39  
Ensaio de Proficiência. 47, 61  
Escherichia Coli. 20, 47  
Espectrofotometria. 12  
Espectrometria de Absorção Atômica com Chama. 28  
Espectrometria de Massas. 55  
Espectrometria UV/VIS. 8  
Expressão Gênica. 14

Farmacopeias. 21  
Fototoxicidade. 36  
Frango. 52  
Grupos Filogenéticos. 41  
H1N1. 31  
Haemophilus influenzae. 24, 43  
Hemoderivados. 57  
Heparina. 10  
Hidroxometilfurfural. 40  
Hormônio do Crescimento. 55  
ICP-MS. 58  
Infecção Hospitalar. 37  
Infusão. 58  
Ionóforos Poliéteres. 52  
Irritação Ocular. 32  
Klebsiella Pneumoniae. 41  
Klebsiella sp. 20  
Laboratório. 22  
LC-MS/MS. 52  
Legislação Sanitária. 15, 19, 53  
Leite. 29, 46, 54  
Marcadores de Resistência. 43  
MAT. 21  
Material de Referência. 46  
Mecanismos de Resistência. 34  
Medicamentos Veterinários. 54  
Meningites Bacterianas. 45  
Metais Pesados. 58  
Métodos Alternativos. 18, 32, 36  
Micobactérias. 37  
Microbiota Normal. 41  
Monensina. 46  
Neisseria Meningitidis. 9, 11, 14, 34  
Ocratoxina A. 50  
PCR. 29  
PCR em Tempo Real. 45  
Perfil Hematológico. 26  
Pimentão. 59  
Pirogênio. 21  
Poliomielite. 12  
Pontos de Corte. 18  
Produto para diagnóstico. 53  
Protetor Solar, 36  
Protetor Solar. 42

Qualidade do Sangue. 51  
Referência de Trabalho. 17  
Registro Sanitário. 53  
Resistência a Antibióticos. 20  
Resistoma. 30  
S. Cerevisiae. 42  
Saneantes. 37  
Sangue Total Humano. 26  
Saúde Pública. 22  
Serviços de Hemoterapia. 51  
Sódio. 49  
Soro Antibotrópico. 13  
Soro Antiofídico. 56  
Soro Antitetânico. 18  
Sulfonamidas. 54  
Susceptibilidade à Antimicrobianos. 34  
Tecnovigilância. 19  
Teor de Pureza. 56  
Teste de Pirogênio. 16  
Timerosal. 31  
Tríplice Viral. 17  
Tuberculostáticos. 39  
Vacinas. 9, 11, 17, 24, 31  
Validação. 39, 50, 59  
Validação Analítica. 38, 40  
Veneno Botrópico. 13  
Vigilância Sanitária. 32, 55