



Escola de Inverno: Pesquisa e Inovação em  
Fármacos e Medicamentos



# ***Vigilância Infecçiosa no combate ao desenvolvimento da Resistência Microbiana***

***Importância do Laboratório Bioanalítico na VIRM pela Abordagem PK/PD à beira de leito do paciente séptico em estado crítico na UTI***

Profa Silvia Cavani

# ***Linhas de investigação***

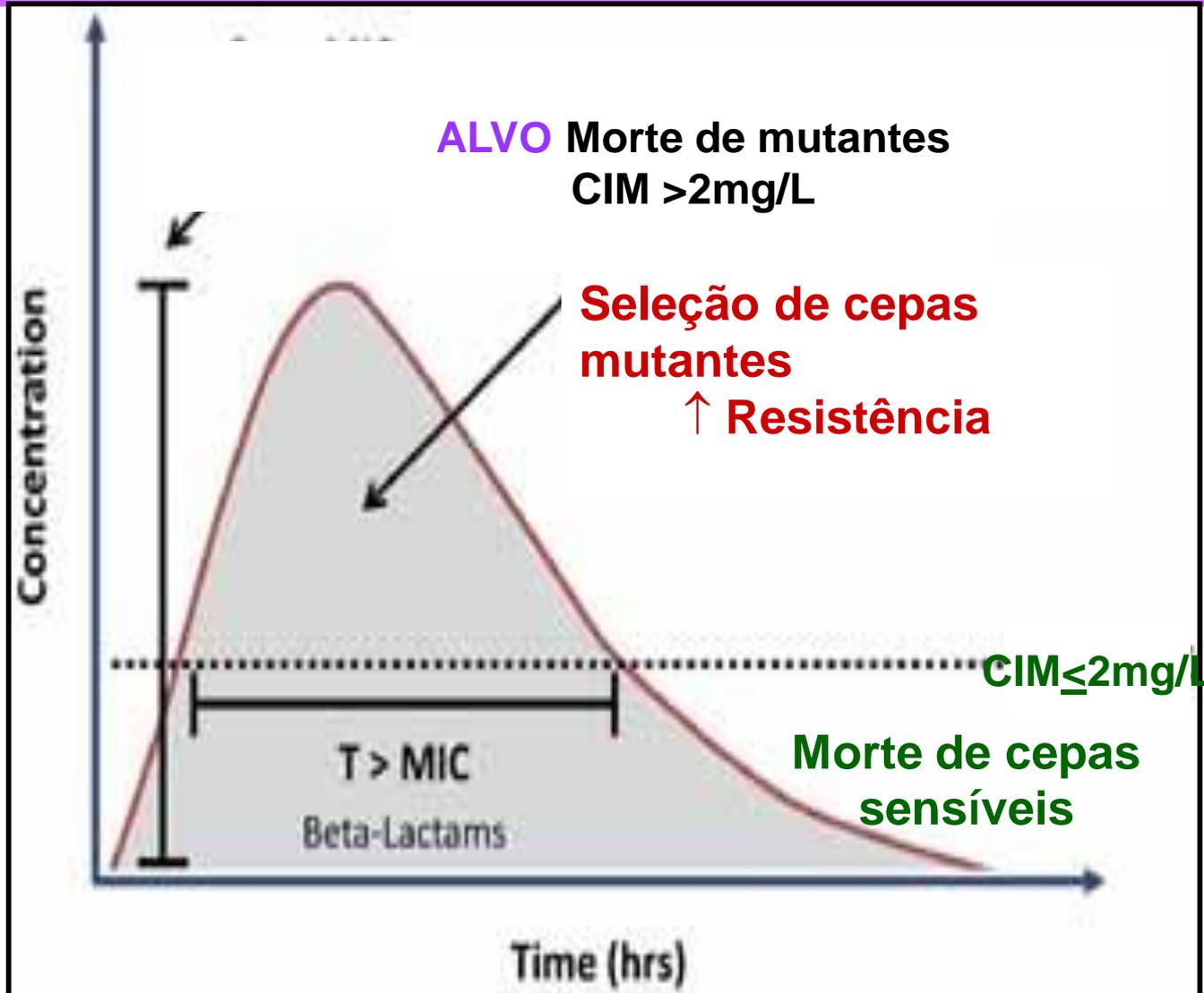
- Controle Terapêutico *ajuste de dose pela* abordagem PK/PD *de agentes antimicrobianos e antifúngicos em pacientes sépticos*
- Farmacocinética Clínica *projetos de investigação*

Polimorfismo genético - marcadores *biotransformação e excreção*

Expressão de transportadores de excreção renal *influxo – efluxo*

Modelagem PK/PD *fármacos agonistas e antagonistas de receptores farmacológicos*

## Abordagem PK/PD à beira do leito do paciente séptico em estado crítico na UTI



## *Combate às infecções hospitalares*

# **Apresentação Laboratório Bioanalítico**

*Responsável Laboratório: Profa. Sílvia Cavani*

*Bloco 13B 1º Andar*

# ***Laboratório Bioanalítico***

## **QUANTIFICAÇÃO DO ANALITO POR MÉTODO BIOANALÍTICO**

- 1. Como asseguro que o resultado obtido é verdadeiro?**
- 2. Se outro laboratório utilizar esse método, conseguirá reproduzir nossos resultados?**

**Para responder essas questões preciso**

**DESENVOLVER - VALIDAR o método**

# Por quê validar o método

**Definição:** Validar um método **é testar o seu desempenho**, de acordo com critérios estabelecidos na legislação, tendo como **objetivo confirmar se ele é apropriado para o uso pretendido.**

**O laboratório deve validar**

- Métodos não normalizados
- Métodos criados/desenvolvidos pelo próprio laboratório
- Métodos normalizados fora do escopo para o qual foi criado
- Ampliação ou modificação de método normalizado

# Normas da Agência Regulatória

**título:** Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003

**ementa não oficial:** Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos"; fica revogada a Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002.

**publicação:** D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 02 de junho de 2003

**órgão emissor:** ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**alcance do ato:** federal - Brasil

**área de atuação:** Medicamentos

**relacionamento(s):**

**RESOLUÇÃO RDC N.º 27, DE 17 DE MAIO DE 2012**  
DOU 22/mai/2012

*Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos.*

# Métodos - Técnicas

- 1.2.1. Técnicas analíticas que façam uso de métodos de separação e quantificação pela cromatografia

- Fase gasosa (CG) ✓

- Líquida de alta eficiência (CLAE) ✓

- 1.2.2. Testes imunológicos ou microbiológicos, desde que observado o grau de variabilidade usualmente associado. **Parceiros DLC HC FMUSP**
- 1.2.3. métodos não-cromatográficos, desde que estes ofereçam seletividade aceitável, ex. titulometria, espectrofotometria UV-VIS

# Desenvolvimento de Métodos

## Estudos preliminares no desenvolvimento:

1. Escolha da matriz biológica ✓
2. Estudos de estabilidade do analito na matriz ✓
3. Material de acondicionamento e transporte ✓
4. Purificação do analito na matriz ✓
5. Técnica de quantificação por cromatografia ✓
6. Faixa de trabalho, limites superior e inferior de quantificação ✓
7. Detecção, precisão, exatidão ✓
8. Ciclos de congelamento/descongelamento ✓
9. Estudos de estabilidade curta, média, longa duração ✓

# Matrizes biológicas

- ❑ Plasma / soro
- ❑ Sangue total
- ❑ Urina



- ❑ Líquido cefalo-raquidiano (líquor)

# Amostra - Matriz Biológica

## Técnicas de Preparação da Amostra

- Extração líquido-líquido
- Extração em fase sólida (SPE)
- Precipitação de proteínas
- Ultrafiltração

**Visa, eliminar os interferentes endógenos**

**Vantagens e desvantagens de cada técnica**

**Custo-Benefício**

**Tempo *versus* Qualidade**

# Purificação matriz biológica

## Solid Phase Extraction SPE



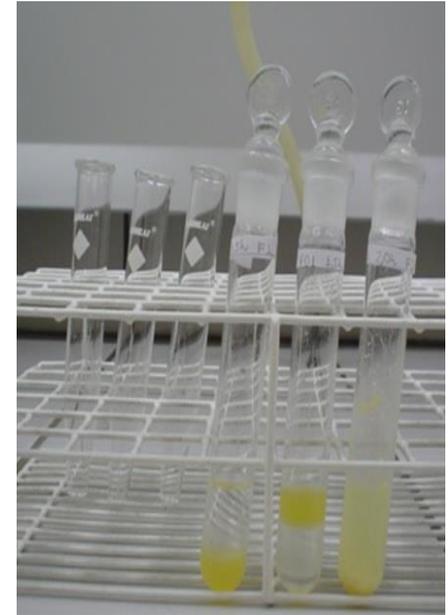
# Purificação da Matriz



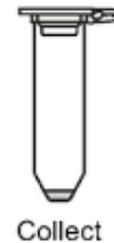
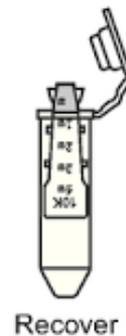
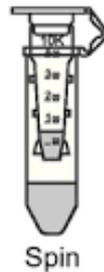
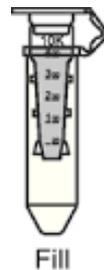
1 precipitação



2 extração



1-2



3 ultrafiltração

# Infraestrutura

## Instrumentação Analítica automatizada

- Cromatógrafo fase líquida
- Cromatógrafo fase gasosa

## Equipamentos do laboratório

- **Micropipetas - Dispensadores - Repipetadores**
- **Agitadores de tubos** vórtex/plataforma horizontal
- BM/ultrassom, bomba de vácuo/obtenção água OR e UP
- **Centrífugas** refrigeradas (15 mil rpm /não refrigeradas 3-6 mil rpm)
- **Sistemas específicos:** extração em fase sólida e ultrafiltração
- **Evaporador centrífugo/ Rede N<sub>2</sub>** concentração de extratos purificados

# Infraestructura de Cromatografía



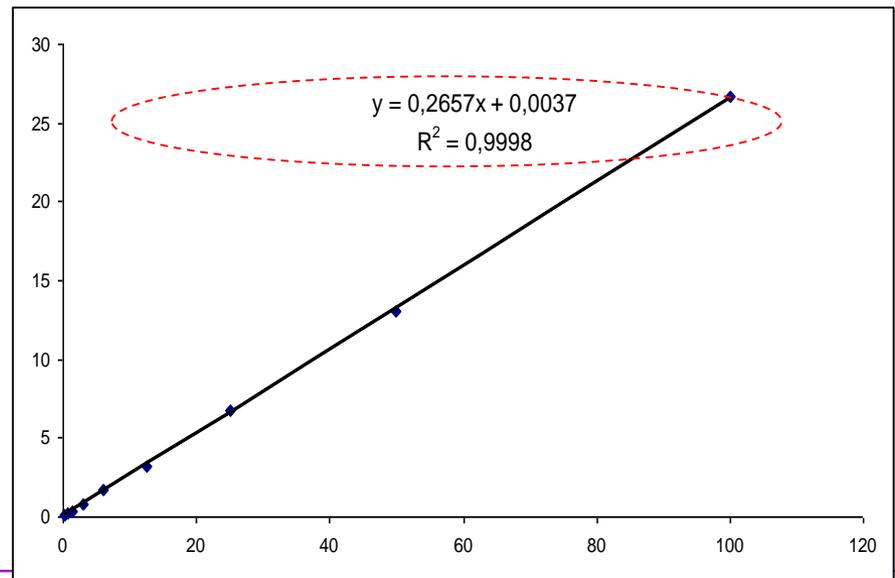
# Curva de calibração diária quantificação do analito na matriz



Calibrador	CC1	CC2	CC3	CC4	CC5	CC6	CC7	CC8	CC9
<b>Analito</b>	937939	468970	234485	117242	58621	29311	14655	7328	2664
<b>Pi</b>	35155	36009	34567	36425	33551	37515	38009	34562	33234
<b>Nominal</b>	100.00	50.00	25.00	12.50	6.00	3.00	1.50	0.75	0.25
<b>Razão de área</b>	26.68	13.02	6.78	3.22	1.75	0.78	0.39	0.21	0.08
<b>Obtido</b>	100.39	49.00	25.51	12.10	6.56	2.93	1.44	0.78	0.29
<b>ES %</b>	<b>0.4</b>	<b>-2.0</b>	<b>2.2</b>	<b>3.21</b>	<b>9.4</b>	<b>-2.4</b>	<b>-4.2</b>	<b>4.5</b>	<b>15.0</b>

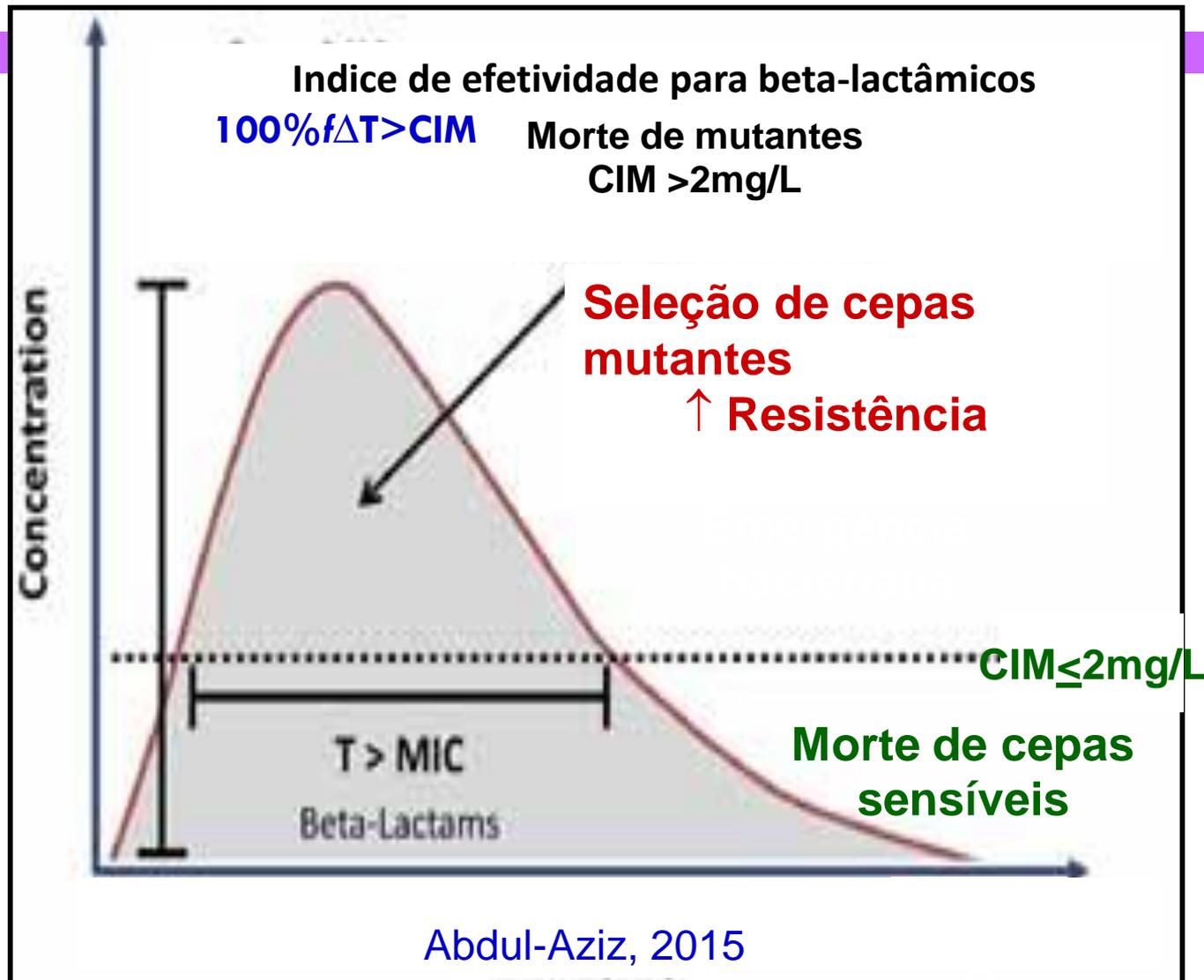
## Aceitação da CC diária através dos CQs

Controles de qualidade			
IQCA	IQCMA	IQCMB	IQCB
789470	392660	98165	9817
35944	39316	34657	33009
80.00	40.00	10.00	1.00
21,96	9.99	2.83	0.30
82,64	37.57	10.65	1.11
<b>3.3</b>	<b>-6.1</b>	<b>6.5</b>	<b>10.5</b>

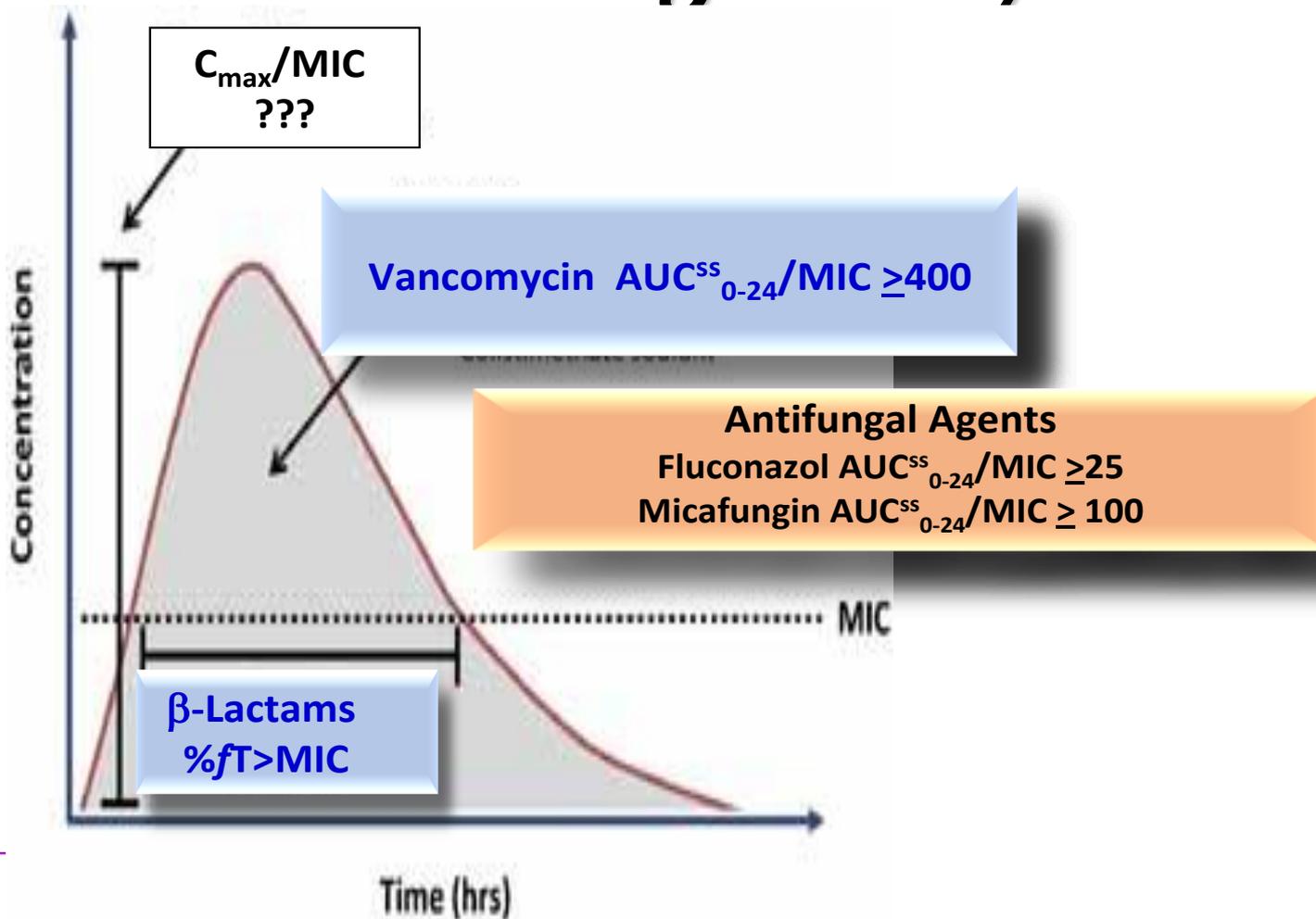


Y:X Razão de Area x Valor nominal

# Dosagem Sérica - Abordagem PK/PD



# Abordagem PK/PD



# Segurança em laboratório

## Uso de EPI/EPC:

- ▣ Avental de manga longa
- ▣ Sapatos fechados
- ▣ Luva descartável nitrílica, máscara, touca
- ▣ Óculos de segurança
- ▣ Máscaras - Capelas/Evaporadores
- ▣ Chuveiro Lava-olhos



# Biossegurança

*Comissão Técnica Nacional de  
Biossegurança*

**Certificação NB1  
Grau de Risco 1**

**Laboratório de  
Farmacologia Terapêutica**



*CTNBio*

*Deferiu 14/abril/2014*

*Extensão CQB 090/98- FCF USP  
Nível de biossegurança NB1  
Atividades de pesquisa em regime  
de contenção, transporte, descarte,  
ensino e armazenamento com  
organismos geneticamente  
modificados da classe de risco 1*

# Garantia da Qualidade - Normas técnicas

NORMA  
BRASILEIRA

ABNT NBR  
ISO/IEC  
17025

Segunda edição  
30.09.2005

Válida a partir de  
31.10.2005

## Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração

*General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*



Instituto Nacional de Metrologia,  
Normalização e Qualidade Industrial

## ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE ENSAIOS QUÍMICOS

Documento de caráter orientativo

**DOQ-CGCRE-008**

Revisão 02 – JUNHO/2007

Norma Técnica	
<b>Código</b>	ABNT NBR ISO 15189:2015
<b>Data de Publicação</b>	09/02/2015
<b>Válida a partir de</b>	09/03/2015
<b>Título</b>	Laboratórios clínicos - Requisitos de qualidade e competência
<b>Título Idioma Sec.</b>	Medical laboratories - Requirements for quality and competence
<b>Comitê</b>	ABNT/CB-036 Análises Clínicas e Diagnóstico In Vitro
<b>Nº de Páginas</b>	60
<b>Status</b>	Em Vigor
<b>Idioma</b>	Português
<b>Organismo</b>	ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

# Gestão de Resíduos

PESSOAS BIOTÉRIO CIPA ENTIDADES GESTÃO AMBIENTAL LINKS RESERVA DE SALAS SISTEMAS FCF EDITAIS NOTÍCIAS

 **Faculdade de Ciências Farmacêuticas**  
Universidade de São Paulo  
Português English



INICIO SOBRE A FCF COLEGIADOS E COMISSÕES DEPARTAMENTOS ENSINO PESQUISA CULTURA E EXTENSÃO COOPERAÇÃO INTERNACIONAL CONTATO

Você está aqui: Início » Sobre a FCF » Colegiados e Comissões » Comissões Assessoras » Descartes Laboratoriais

**COLEGIADOS E COMISSÕES**

COLEGIADOS

- » Congregação
- » Conselho Técnico Administrativo

COMISSÕES ESTATUÁRIAS

- » Cultura e Extensão Universitária
- » Graduação
- » Pesquisa

**DESCARTES LABORATORIAIS**

<b>PRESIDENTE</b>	<b>VICE-PRESIDENTE</b>
Prof. Dr. Ricardo Pinheiro de Souza Oliveira	Profa. Dra. Elizabeth de Souza Nascimento
Mandato: Por designação da Diretoria	Mandato:
<b>REPRESENTANTES</b>	<b>SUPLENTES</b>
Profa. Elvira M. G. Shinohara	Profa. Dra. Dominique Corinne Hermine Fischer
Mandato:	Mandato:

 **Ministério da Saúde**

 **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**  
www.anvisa.gov.br

 **VISA LEGIS**

**Legislação em Vigilância Sanitária**

 **BIREME - OPAS - OMS**

 **bvs**

## RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 306, DE 7 DE DEZEMBRO DE 2004

Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.



**A**

**Equipe técnica e  
Alunos do Laboratório  
agradecem sua atenção**



## Quantificação de fármacos através de CLAE ou CG

- ❖ **Purificação da matriz biológica para quantificação do analito**
- ❖ **Preparação da curva de calibração método padrão interno**
- ❖ **Construção da curva valor nominal versus razão de área**
- ❖ **CC diária (8 calibradores)**
- ❖ **CC validação (10 calibradores)**
- ❖ **Controles internos de qualidade ou CQs (CQA-CQM-CQB) para aceitação da curva de calibração para quantificação do analito**

**Objetivo da construção da CC e aceitação pelos CQs é determinar**

**Concentração do analito no sangue do paciente**



# BIOSsegurança



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
Comissão Interna de Biossegurança



Of.CIBio/0122014/FCF

São Paulo 15 de agosto de 2014

Senhora Professora,

Temos a satisfação de comunicar a Vossa Senhoria que o pedido de credenciamento do **Laboratório de Farmacologia Terapêutica - Unidades de Pesquisa Clínica e Controle Terapêutico** junto à CTNBio foi aprovado.

Estamos encaminhando em anexo:

- Cópia da publicação no Diário Oficial da União;
- Cadernos de Biossegurança: Resoluções e Instruções Normativas e,
- Etiquetas de identificação do laboratório.

Sendo o que nos cumpria no momento, aproveitamos a oportunidade para apresentar nossas cordiais saudações.

Atenciosamente,

Prof. Dr. MARIO HIROYUKI HIRATA  
Presidente da CIBio - FCFUSP

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 4.135/2014

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 141ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 14 de abril de 2011, a CTNBio apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:

Processo nº: 01200.003570/1998-08

Requerente: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP

CQB: 090/98

Assunto: Solicitação de Extensão de CQB para instalações com nível de biossegurança 1 e execução de projeto de pesquisa com organismos geneticamente modificados da classe de risco 1.

Data de Protocolo: 28/12/10

Próton: 52408/10

Extrato Prévio: 2624/11 publicado no DOU 06 em 10 de janeiro de 2011.

Decisão: DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação da Solicitação de Extensão do Certificado de Qualidade em Biossegurança da instituição, concluiu pelo deferimento, nos termos deste Parecer Técnico. O Presidente da Comissão Interna de Biossegurança da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, Dr. Mário Hiroyuki Hirata, solicita a extensão do Certificado de Qualidade em Biossegurança nº 090/98, para credenciar as instalações do Laboratório de Farmacologia Terapêutica - Unidades de Pesquisa Clínica e controle Terapêutico com Nível de Biossegurança 1, sob a responsabilidade da Dra. Sílvia Regina Cavani Jorge Santos. Este Laboratório irá desenvolver atividades de pesquisa em regime de contenção, transporte, descarte, ensino e armazenamento com organismos geneticamente modificados da classe de risco 1. Foi enviada na documentação a declaração do responsável legal, planta baixa, descrição pormenorizada das instalações e informações relativas a biossegurança. No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

A CTNBio esclarece que este extrato não exige a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.

A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo acima listado deverão ser encaminhadas por escrito à Secretaria Executiva da CTNBio.

EDIVALDO DOMINGUES VELINI

# Biossegurança

## Certificação NB1 Grau de Risco 1



---

---

## PESQUISADORES – USP PARCEIROS DE INVESTIGAÇÃO

**David de Souza Gomez - Investigador Principal UTI-Queimados**

Divisão de Cirurgia Plástica e Queimaduras IC HC FMUSP

**Elson Mendes da Silva Jr Intensivista**

Divisão de Cirurgia Plástica e Queimaduras HC FMUSP

**João Manoel Silva Jr Intensivista**

Divisão de Cirurgia Plástica e Queimaduras HC FMUSP

**Luiz Marcelo Malbouisson - Investigador Principal UTI Pós-operatória**

Divisão de Trauma Unidade de Atendimento à Criança IC - HCFMUSP

**Nilo José Coelho Dutra Médico Patologista da Bioquímica e Toxicologia**

Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP

**Rosário Dominguez Crespo Hirata Investigador Genômica-Polimorfismo**

Laboratório de Biologia Molecular Aplicada ao Diagnóstico – Farmacogenômica FCF USP

**Silvia Regina Cavani Jorge Santos – Investigador e Coordenação de Projeto**

Centro de Farmacocinética Clínica e Modelagem PK/PD FCF USP

**Vera Lúcia Lanchote – Investigador e Coordenação de Projeto**

Centro de Farmacocinética Clínica FCFRP USP