

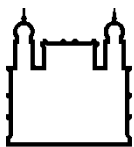
MINISTÉRIO DA SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

**DSEI YANOMAMI E OS ACIDENTES OFÍDICOS NO  
NORTE DO BRASIL: DO PERFIL EPIDEMIOLÓGICO À  
AVALIAÇÃO DA TERMOESTABILIDADE DOS SOROS  
ANTIOFÍDICOS COMO ESTRATÉGIA DE SAÚDE PÚBLICA**

LUÍS EDUARDO RIBEIRO DA CUNHA

Rio de Janeiro  
14 de abril de 2020.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

Luís Eduardo Ribeiro da Cunha

**DSEI YANOMAMI e os acidentes ofídicos no norte do Brasil:  
do perfil epidemiológico à avaliação da termoestabilidade dos soros  
antiofídicos como estratégia de saúde pública**

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte  
dos requisitos para obtenção do título de Doutor em  
Medicina Tropical

**Orientador (es):** Prof. Dr. Elba Regina Sampaio de Lemos  
Prof. Dr. Marco Aurélio Horta

**RIO DE JANEIRO**

14 de abril de 2020

ii

## FICHA CATALOGRÁFICA

Cunha, Luis Eduardo Ribeiro da.

DSEI Yanomami e os acidentes ofídicos no norte do Brasil: do perfil epidemiológico à avaliação da termoestabilidade dos soros antiofídicos como estratégia de saúde pública / Luis Eduardo Ribeiro da Cunha. - Rio de Janeiro, 2020.

142 f.; il.

Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2020.

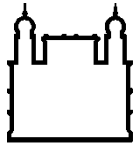
Orientadora: Elba Regina Sampaio de Lemos.

Co-orientador: Marco Aurélio Horta.

Bibliografia: f. 94-103

1. Termoestabilidade de soros antiofídicos/antivenenos. 2. Epidemiologia dos acidentes ofídicos DSEI Yanomami/Brasil. 3. Soro antiofídico/soro antiveneno. 4. Epidemiologia de acidentes ofídicos no norte do Brasil. I. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca de Manguinhos/ICT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

### **Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

**AUTOR:** Luís Eduardo Ribeiro da Cunha

#### **TÍTULO DA TESE**

## **DSEI YANOMAMI e os acidentes ofídicos no norte do Brasil: do perfil epidemiológico à avaliação da termoestabilidade dos soros antiofídicos como estratégia de saúde pública**

**ORIENTADORES:** Prof. Dra. Elba Regina Sampaio de Lemos.

**Prof. Dr.** Marco Aurélio Horta

**Aprovada em:** 14/04/2020

#### **EXAMINADORES:**

**Prof. Dra.** Martha Cecília Suárez Mutis - Presidente da banca (Instituto Oswaldo Cruz)

**Prof. Dr.** Paulo César Basta (ENSP/FIOCRUZ)

**Prof. Dr.** Marcelo Abrahão Strauch (UFRJ/Instituto Vital Brazil)

**Prof. Dr.** Paulo de Assis Melo (Universidade Federal do Rio de Janeiro)

**Prof. Dr.** José Carlos Cogo (Universidade Brasil)

Rio de Janeiro, 14 de abril de 2020.



**Dedico este trabalho a todos os profissionais comprometidos com os agravos que acometem as populações negligenciadas no mundo.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que me dá forças para superar desafios, sempre colocando pessoas de bem em meu caminho.

À minha orientadora Dra. Elba Regina S. Lemos, pela amizade, carinho, atenção, confiança, paciência e muita sabedoria a quem expresso meu eterno agradecimento.

Ao Dr Marco Aurélio Horta pela orientação no direcionamento e foco na realização desse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz-IOC, em especial aos coordenadores professores e colaboradores.

A toda equipe do Instituto Vital Brazil, principalmente da Gerência de Controle de Qualidade, em especial a Antônia, Celina, Joseane, Rosinalva....., que além da amizade, ajudaram na realização desta pesquisa,. Esse trabalho é nosso.

Ao Distrito Sanitário Especial Indígena–Yanomami, com seu espetacular corpo de funcionários, apaixonados pelo ofício de levar saúde aos povos aldeados. Em especial a enfermeira Andréia da Costa Formiga, que, sem medir esforços, nos disponibilizou conhecimento e ânimo para a realização desse trabalho.

Ao Centro Gestor e Operacional do Sistema de Proteção da Amazônia, Ministério da Defesa, que disponibilizou meios que tornaram possível esse trabalho.

Ao INCQs, na pessoa da Dra. Aparecida Bohler, a Cida, profissional competente e comprometida, que gentilmente disponibilizou os venenos de referência.

Aos companheiros integrantes dos Expedicionários da Saúde, com os quais tive a honra, o prazer e a felicidade de presenciar, às margens do Rio Negro, entre São Gabriel da Cachoeira e Santa Isabel do Rio Negro, na Aldeia Cartucho, o que é o verdadeiro amor ao próximo.

Aos membros da banca Dra Marta Mutis, Dr Paulo Basta, Dr Marcelo Strauch, Dr Paulo Melo e Dr José Cogo que se dispuseram enriquecer esse momento tão importante da minha vida.

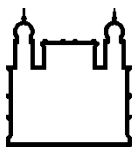
Aos meus amados filhos Daniel, Gustavo e Maria Eduardo. À minha nora Priscila e ao meu amor Carlos Eduardo, meu neto, que chegou em 2019 enchendo nossas vidas de luz.

Aos meus pais que, lá de cima, estão vendo que continuamos na luta pelo bem comum.

Ao amor da minha vida e esposa Maria Luiza que aceitou o desafio de compartilhar anos de tribulações, mas não poupou esforços para me ajudar a chegar até aqui.

***“O que vale na vida não é o ponto de partida  
e sim a caminhada. Caminhando e  
semeando, no fim terás o que colher.”***

***Cora Coralina***



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

## **DSEI Yanomami e os acidentes ofídicos no norte do Brasil: do perfil epidemiológico à avaliação da termoestabilidade dos soros antiofídicos como estratégia de saúde pública**

### **RESUMO**

#### **TESE DE DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL**

**Luís Eduardo Ribeiro da Cunha**

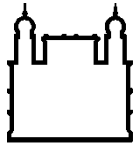
Incluídos recentemente pela Organização Mundial da Saúde na lista das doenças tropicais negligenciadas, os acidentes ofídicos representam um importante problema de saúde pública no mundo, no Brasil e na Amazônia, principalmente nos grupos etários economicamente ativos das populações rurais, ribeirinhos e, em especial, nas populações indígenas cuja taxa de mortalidade por acidente ofídico quase o dobro (0,77%) do que na população geral do Brasil (0,48%).

O presente estudo foi desenvolvido, com o objetivo de analisar o perfil epidemiológico dos acidentes ofídicos registrados no Distrito Sanitário Especial Indígena-Yanomami (DSEI-YANOMAMI) e avaliar a termoestabilidade dos soros antiofídicos líquido, produzidos pelo Instituto Vital Brazil durante armazenamento por 12 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ . Para atendimento do primeiro objetivo foram utilizados, como fonte, dados secundários dos boletins epidemiológicos referentes ao período de 01 janeiro de 2014 a 31 de dezembro de 2017. A partir da pesquisa documental primária de caráter descritivo, foi realizada uma análise quantitativa dos casos registrados de acidentes ofídicos ocorridos nos 37 polos base de atenção à saúde indígena, vinculados ao DSEI-Yanomami. Do total de 827 casos notificados de acidentes ofídicos, 687 (83,07%) foram ocasionados por serpentes peçonhentas, com predomínio de acidentes pelo gênero *Bothrops*, 636 (92,7%). Março e julho de 2015 apresentaram o maior número de acidentes, com uma distribuição mensal em consonância com o padrão das atividades humanas e das estações climáticas, ratificando a ocorrência do maior número de casos (68%) nas estações chuvosas de março a setembro. Quanto à classificação dos acidentes, 56,4% foram consideradas leves, ocorrendo predominantemente na faixa etária de 06-30 anos (63%) em ambos os sexos. A ocorrência desses acidentes foi mais frequente no sexo masculino (62,2%), com maior acometimento nos membros inferiores (88,65%). A soroterapia antiofídica foi realizada em 644 (93,6%) casos com registro de seis óbitos (0,87%).

Quanto ao segundo objetivo, a termoestabilidade dos soros antiofídicos líquidos estressados foi avaliada por ensaios *in vivo* e *in vitro*, seguindo farmacopeias nacionais e internacionais, que poderiam influenciar na qualidade, segurança e eficácia dos soros. Os resultados foram expressos em miligrama por mililitro para potência; e em grama por cento (g%) para fenol, proteína, nitrogênio total, nitrogênio proteico e nitrogênio não proteico. Os critérios de aceitação foram fixados seguindo especificações farmacopeicas e recomendações do ICH e OMS.

Os resultados obtidos no estudo epidemiológico demonstraram que a diferença das taxas de mortalidades entre as populações indígenas e o restante da população brasileira está relacionada ao tempo entre a ocorrência do acidente e a aplicação do soro, regiões estas que não possuem uma estrutura de cadeia de frio adequada, e poderiam ser melhor atendidas com soros mantidos a temperatura ambiente.

Os soros antiofídicos líquidos produzidos pelo Instituto Vital Brazil, no presente estudo, apresentaram termoestabilidade quando mantidos e transportados em temperatura de  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$  por um ano, os quais poderiam ser uma opção para atender regiões remotas que não possuam infraestrutura de refrigeração.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

DSEI Yanomami and the ophidian accidents in the north of Brazil: of the epidemiological profile to the evaluation of thermostability of antivenom as a public health strategy

ABSTRACT

PHD TESIS IN MEDICINA TROPICAL

Luís Eduardo Ribeiro da Cunha

Recently included by the World Health Organization in the list of neglected tropical diseases, snakebites represent an important public health problem in the world, in Brazil and in the Amazon, especially in the economically active age groups of rural, riverside populations and, especially, in indigenous populations whose mortality rate due to snakebite accidents almost doubled (0.77%) than in the general population of Brazil (0.48%).

The present study was developed with the objective of analyzing the epidemiological profile of snakebites registered in the Special Indigenous Health District-Yanomami (DSEI-YANOMAMI) and evaluating the thermostability of liquid antiophidic serums, produced by the Vital Brazil Institute during storage for 12 months at  $30.0 \pm 2.0$  °C. To meet the first objective, secondary data from epidemiological bulletins for the period from January 1, 2014 to December 31, 2017 were used as a source. Based on the primary documentary research of a descriptive character, a quantitative analysis of the registered cases of snake accidents occurring in the 37 base poles of attention to indigenous health, linked to the DSEI-Yanomami. Of the total of 827 notified cases of snakebites, 687 (83.07%) were caused by venomous snakes, with a predominance of accidents by the Bothrops genus, 636 (92.7%). March and July 2015 had the highest number of accidents, with a monthly distribution in line with the pattern of human activities and climatic seasons, confirming the occurrence of the highest number of cases (68%) in the rainy seasons from March to September. Regarding the classification of accidents, 56.4% were considered mild, occurring predominantly in the age group of 06-30 years (63%) in both sexes. The occurrence of these accidents was more frequent in males (62.2%), with greater involvement in the lower limbs (88.65%). A antiophidic serotherapy was performed in 644 (93.6%) cases with a record of six deaths (0.87%).

As for the second objective, the thermostability of the stressed liquid antivenom was evaluated by in vivo and in vitro assays, following national and international pharmacopoeias, which could influence the quality, safety and efficacy of the serums. The results were expressed in milligrams per milliliter for power; and in grams per cent (g%) for phenol, protein, total nitrogen, protein nitrogen and non-protein nitrogen. The acceptance criteria were set following pharmacopoeial specifications and recommendations from ICH and WHO.

The results obtained in the epidemiological study showed that the difference in mortality rates between indigenous populations and the rest of the Brazilian population is related to the time between the occurrence of the accident and the application of serum, regions that do not have a cold chain structure. and could be better treated with serums kept at room temperature.

The liquid antiophidic serums produced by Instituto Vital Brazil, in the present study, showed thermostability when maintained and transported at a temperature of  $30.0 \pm 2.0$  °C for one year, which could be an option to serve remote regions that do not have infrastructure of cold chain.

## ÍNDICE

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>20</b>
<b>1.1 Considerações gerais.....</b>	<b>20</b>
<b>1.2 Acidentes ofídicos no Brasil.....</b>	<b>23</b>
<b>1.3 Acidentes ofídicos e população indígena no Brasil.....</b>	<b>31</b>
<b>1.4 Distrito Sanitário Indígena e o DSEI Yanomami .....</b>	<b>32</b>
<b>1.4.1. Caracterização da população do DSEI Yanomami .....</b>	<b>33</b>
<b>1.4.2. Polo Base .....</b>	<b>35</b>
<b>1.5 .Soros Antiofídicos .....</b>	<b>42</b>
<b>1.5.1 Vital Brazil, ofidismo e soroterapia .....</b>	<b>44</b>
<b>1.5.2 Termoestabilidade .....</b>	<b>46</b>
<b>1.5.3 Produção e distribuição dos soros antiofídicos .....</b>	<b>47</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESES.....</b>	<b>49</b>
<b>2.1 Justificativa .....</b>	<b>49</b>
<b>2.2 Hipóteses .....</b>	<b>50</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>52</b>
<b>3.1 Objetivos Gerais .....</b>	<b>52</b>
<b>3.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>52</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>53</b>
<b>4.1. Materiais .....</b>	<b>53</b>
<b>4.1.1 Boletins epidemiológicos – DSEI Yanomami.....</b>	<b>53</b>
<b>4.1.2. Animais de Laboratório .....</b>	<b>53</b>
<b>4.1.3. Venenos de referência e soros .....</b>	<b>53</b>
<b>4.2. Métodos .....</b>	<b>54</b>
<b>4.2.1. Estudos epidemiológicos com dados secundários .....</b>	<b>54</b>
<b>4.2.2. Termoestabilidade.....</b>	<b>55</b>
<b>4.2.2.1. Teste de potência .....</b>	<b>55</b>
<b>4.2.2.2. Teste de pirogênio .....</b>	<b>56</b>
<b>4.2.2.3. Teste de pH e outros parâmetros físico-químicos .....</b>	<b>56</b>



4.3. Estatística .....	57
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>59</b>
5.1. Dados secundários – DSEI Yanomami .....	59
5.2. Termoestabilidade .....	68
5.2.1. Teste de potência .....	68
5.2.2. Parâmetros químicos e físico-químicos .....	71
5.2.2.1. pH .....	72
5.2.2.2. Proteína .....	73
5.2.2.3. Nitrogênio Total .....	74
5.2.2.4. Nitrogênio não proteico .....	74
5.2.2.5. Nitrogênio proteico .....	76
5.2.2.6. Fenol .....	76
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>77</b>
6.1. Estudo com dados secundários do DATASUS/DSEI-Yanomami .....	78
6.2. Termoestabilidade .....	83
<b>7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>91</b>
7.1. Conclusão .....	91
7.2. Perspectivas .....	93
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>94</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>104</b>
9.1. Anexo 1. Termo de compromisso DSEI Yanomami.....	104
9.2. Anexo 2. Autorização CEUA.....	106
9.3. Anexo 3. POP – Procedimentos analíticos.....	107
9.4. Anexo 4. POP – Pirogênio.....	117
9.5. Anexo 5. Potência dos soros antipeçonhentos.....	122
9.6. Anexo 6. Estudo da estabilidade dos soros hiperimunes.....	126
9.7. Anexo 7. Número de casos de acidentes ofídicos.....	137
9.8. Anexo 8. Relação dos Polos Base com o número de acid. Ofídicos.....	138
9.9. Anexo 9. Material informativo.....	139
10. Produtos gerados durante o desenvolvimento da tese.....	140
10.1. Publicações.....	140
10.2. Patentes.....	142

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ANVISA** – Agência Nacional Vigilância Sanitária -  
**AIS** - Agente Indígena de Saúde  
**ABNT** – Associação Brasileira de Normas Técnicas  
**CASAI** - Casa de Saúde do Índio  
**CPPI** – Centro de Pesquisa e Produção de Imunobiológicos  
**CONDISI** – Conselho Distrital de Saúde Indígena  
**DSEI** - Distrito Sanitário Especial Indígena  
**DTN** – Doença Tropical Negligenciada  
**EMSI** – Equipe Multidisciplinar de Saúde Indígena  
**FIOCRUZ** – Fundação Oswaldo Cruz  
**FUNASA**- Fundação Nacional de Saúde  
**FUNED** - Fundação Estadual Ezequiel Dias.  
**IB** – Instituto Butantan  
**IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
**INCQS** – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em saúde  
**IVB** – Instituto Vital Brazil  
**MS** - Ministério da Saúde  
**OPAS**- Organização Pan-Americana da Saúde  
**OMS** - Organização Mundial da Saúde  
**SAB** – Soro Antibotrópico  
**SAB/C** – Soro Antibotrópico/Crotálico  
**SAB/L** – Soro Antibotrópico/Laquético  
**SAC** - Soro Anticrotálico  
**SAE** – Soro Antiescorpiônico  
**SALatro** – Soro Antilatrodético  
**SAP** – Soro Antiapílico  
**SASI** – Subsistema de Atenção à Saúde Indígena  
**SESAI** – Secretaria Especial de saúde indígena  
**SINAN** – Sistema de Informação de agravos de notificação  
**SUS** – Sistema único da saúde

## LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.1	Mapa de distribuição mundial dos acidentes por serpentes peçonhentas	21
Figura 1.2	Acidentes por animais peçonhentos no Brasil no ano de 2017.	22
Figura 1.3	Distribuição das notificações dos acidentes por serpentes do gênero <i>Bothrops</i> no Brasil no período de 2007 a 2015.	26
Figura 1.4	Espécies de serpentes peçonhentas de interesse médico, predominantes no norte do Brasil. <i>Bothrops</i> ; <i>Micrurus</i> ; <i>Lachesi</i> e <i>Crotalus</i> e seus mapas de localizações	27
Figura 1.5	Taxa média de letalidade nos acidentes por serpentes no Brasil, período de 2007 a 2017.	28
Figura 1.6	Local das picadas por serpentes no Brasil de 2010 a 2016, considerando os quatro gêneros de importância médica no território brasileiro.	29
Figura 1.7	Algoritmo de tratamento de acidentados por botrópico, onde todos os acidentes por botrópico, com sinais clínicos, recebem soros antitoxinotóxicos.	30
Figura 1.8	Distribuição dos Distritos Especiais Indígenas (DSEI) no território brasileiro.	32
Figura 1.9	Distribuição da população indígena no território nacional. Indicando que a região norte abriga a maior população indígena.	33
Figura 1.10	População indígena cadastrada por DSEI. O DSEI Yanomami ocupa o 11º lugar dentre os 34 existentes no Brasil (Fonte: SIASI/SESAI)	35
Figura 1.11	Organização da rede de serviços em saúde dos distritos sanitários especiais indígenas no Brasil	36
Figura 1.12	Localização espacial da Reserva indígena Yanomami, no Brasil.	39
Figura 1.13	Mapa das rotas predominantemente aéreas que são seguidas para a remoção de pacientes indígenas	40
Figura 1.14	Mapa de vias fluviais, onde se realiza o meio de transporte mais usado na região	41
Figura 1.15	Relação dos soros antivenenos produzidos no Brasil e seus respectivos Laboratórios produtores.	43
Figura 4.1	Fotos das instalações do IVB onde se realizou as análises de potência dos soros, mostrando a estante ventilada e o momento de pesagem dos animais.	56
Figura 4.2	Imagens dos laboratórios onde os testes de pirogênio foram realizados em coelhos, no Instituto Vital Brazil.	57
Figura 5.1	Distribuição dos acidentes por serpentes peçonhentas no DSEI Yanomami por mês de ocorrência no período de 2014 a 2017.	59

Figura 5.2	Distribuição dos casos de acidentes por serpentes peçonhentas e óbitos no DSEI Yanomami, por ano, no período de 2014 a 2017.	60
Figura 5.3	Distribuição dos acidentes por serpentes peçonhentas e óbitos no DSEI Yanomami por faixa etária e sexo no período de 2014 a 2017.	61
Figura 5.4	Distribuição dos acidentes por serpentes peçonhentas e óbitos notificados nos municípios que fazem parte do DSEI Yanomami e que apresentaram maior número de casos durante o período de 2014 a 2017.	62
Figura 5.5	Distribuição dos casos de acidentes ofídicos notificados no DSEI Yanomami durante o período de 2014 a 2017.	63
Figura 5.6	Distribuição dos casos de acidentes ofídicos no DSEI Yanomami, a partir da análise de Kernel mostrando o “hot-spot”, durante o período de 2014 a 2017.	64
Figura 5.7	Acidentes ofídicos notificados no DSEI Yanomami segundo tipo de acidente durante o período de 2014 a 2017. A) Número total de acidentes pelos gêneros <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> ; B) acidentes por <i>Bothrops</i> ; C) acidentes por <i>Crotalus</i> ; D) acidentes por <i>Micrurus</i> ; E) acidentes por <i>Lachesis</i> .	65
Figura 5.8	Gravidade dos casos de acidentes ofídicos no DSEI Yanomami.	67
Figura 5.9	Avaliação da potência do soro Antibotrópico	69
Figura 5.10	Avaliação da potência do soro Anticrotático	70
Figura 5.11	Avaliação da potência do soro Antibotrópico/Anticrotático	71
Figura 5.12	Avaliação dos fatores físico-químicos do soro Antibotrópico	72
Figura 5.13	Avaliação do pH nos lotes dos soro antibotrópico(SAB), anticrotático(SAC), antibotrópico/anticrotático(SAB/C) e antibotrópico/antilaquético (SAB/L) que foram testados nos tempos 24, 30 e 36 meses a $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ .	72
Figura 5.14	Determinação de proteína em g% do soro monovalente antibotrópico (SAB) e do soro anticrotático (SAC), nos tempos 24, 30 e 36 meses a $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ .	73
Figura 5.15	Determinação de proteína em g% dos soros duplos antiofídicos – soro antibotrópico/anticrotático (SAB/C) e soro antibotrópico/antilaquético (SAB/L) nos tempos 24, 30 e 36 meses a $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ .	73
Figura 5.16	Determinação de Nitrogênio total em g% dos soros antiofídicos monovalentes nos tempos 24, 30 e 36 meses a $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ . SAB- soro antibotrópico; SAC- soro anticrotático; SAB/C – soro antibotrópico/anticrotático e SAB/L- soro antibotrópico/antilaquético.	74

Figura 5.17	Determinação de Nitrogênio total em g% dos soros antiofídicos duplos nos tempos 24, 30 e 36 meses a $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ . SAB/C – soro antibotrópico/anticrotático e SAB/L- soro antibotrópico/antilaquético.	74
Figura 5.18	Determinação de Nitrogênio não proteico em g% dos soros antiofídicos monovalentes nos tempos 24, 30 e 36 meses a $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ . SAB- soro antibotrópico; SAC- soro anticrotático.	75
Figura 5.19	Determinação de Nitrogênio não proteico em g% dos soros antiofídicos duplos nos tempos 24, 30 e 36 meses a $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ . SAB/C – soro antibotrópico/anticrotático e SAB/L- soro antibotrópico/antilaquético.	75
Figura 5.20	Determinação de Nitrogênio proteico em g% dos soros antiofídicos monovalentes nos tempos 24, 30 e 36 meses a $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ . SAB- soro antibotrópico; SAC- soro anticrotático	75
Figura 5.21	Determinação de Nitrogênio proteico em g% dos soros antiofídicos duplos nos tempos 24, 30 e 36 meses a $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ . SAB/C – soro antibotrópico/anticrotático e SAB/L- soro antibotrópico/antilaquético.	76
Figura 5.22	Determinação do Fenol em g% dos soros antiofídicos monovalentes e duplos nos tempos 24, 30 e 36 meses a $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ . SAB- soro antibotrópico; SAC- soro anticrotático; SAB/C – soro antibotrópico/anticrotático e SAB/L- soro antibotrópico/antilaquético	76

## LISTA DE QUADROS

		Pág
Quadro 1.1	As principais espécies de serpente venenosas no Brasil segundo distribuição nos biomas	24
Quadro 1.2	Os principais acidentes por animais peçonhentos no Brasil, segundo taxa de incidência, número de acidentes e tipo de animal por macrorregião.	25
Quadro 1.3	População indígena com indicação das 15 etnias com maior número de indígenas, por localização do domicílio no Brasil em 2010.	34
Quadro 1.4	Lista dos 37 polos base do Distrito Especial Indígena Yanomami com sua localização, segundo estado e município no Brasil.	38

## LISTA DE TABELAS

		Pág.
Tabela 5.1	Distribuição dos acidentes ofídicos notificados DSEI Yanomami, segundo o local da picada, durante o período de 2014 a 2017.	66
Tabela 5.2	Distribuição dos acidentes por serpentes no DSEI Yanomami, por sexo, idade, gravidade, tempo de atendimento e evolução (2014-2017)..	66
Tabela 5.3	Soroterapia em acidentados por serpentes peçonhentas do DSEI Yanomami, durante o período de 2014 a 2017.	68
Tabela 5.4	Análise da potência da fração botrópica dos soros monovalentes	69
Tabela 5.5	Análise da potência dos três lotes do soro monovalente anticrotálico.	70
Tabela 5.6	Análise da potência, fração botrópica, dos soros duplos SAB/C e SAB/L	71

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1.Considerações Gerais

Acidentes com serpentes peçonhentas ganharam importância mundial com a sua inclusão na lista das Doenças Tropicais Negligenciadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2017. Com a publicação sobre ofidismo intitulado *Snakebite envenoming: a strategy for prevention and control* a OMS apresentou dados alarmantes relacionados aos acidentes envolvendo serpentes no mundo, reafirmando que o envenenamento por picada de serpente é uma doença tropical negligenciada (DTN), responsável por enorme sofrimento, incapacidade e morte prematura em todos os continentes (Chippaux 1998; Chippaux et al. 2012; Williams et al. 2019, Martins et al. 2019; WHO 2019).

Os acidentes com serpentes peçonhentas são causadas principalmente pelas serpentes da Classe *Reptilia*; Subordem *Serpentes*, na qual algumas espécies são capazes de causar envenenamentos em humanos. No entanto, essas espécies correspondem apenas a uma pequena parcela da imensa fauna desses répteis. Assim, considerando a espécie da serpente venenosa, o quadro clínico do acidentado pode se manifestar com grave comprometimento neurológico, com paralisia grave, distúrbio hemorrágico, insuficiência renal, que pode evoluir para o óbito na ausência de tratamento adequado e precoce, além de lesão com destruição tecidual com consequente incapacidade permanente e amputações de membros, mais frequentemente (Melo et al. 1993; Gutiérrez et al. 2006; Bernarde et al. 2014).

É preciso registrar que apesar do desconhecimento do número exato dos acidentes ofídicos no mundo, a estimativa é de que ocorram mais de cinco milhões de casos por ano e que uma média de 120 mil pessoas morrem anualmente, com mais de 350 mil pacientes que sobrevivem com amputações e outras sequelas (Chippaux et al 2019; WHO 2010; Willians et al. 2019).

Os acidentes ofídicos passaram a ser considerados DTN pela OMS em decorrência, entre outros fatores, do reduzido apoio às pesquisas sobre o tema, da falta de interesse da indústria farmacêutica e dos governos, e principalmente devido ao fato de existir o soro antiofídico, um tratamento eficaz e seguro que, se disponível e acessível, evitaria a maioria das mortes e das sequelas consequentes ao acidente ofídico (WHO 2010a, 2010b; Gutiérrez 2012).



Apesar do grande impacto no contexto da saúde pública nos países africanos, asiáticos e sul-americanos, onde o agravo acomete principalmente trabalhadores rurais mais humildes, ribeirinhos e indígenas, a maioria dos acidentes com serpentes peçonhentas não evolui para o óbito e as sequelas permanentes como amputações, disfunções e insuficiência renais graves frequentemente não entram nas estatísticas oficiais assim como os elevados custos individuais, familiares e sociais que frequentemente também não são computados (Gutiérrez 2006; Borges et al. 1999, Bochner et al 2014).

Quanto à situação dos envenenamentos por serpentes peçonhentas no Brasil, em 2017, foram notificados 30.367 acidentes (Figura 1.2), com 99 óbitos (SINAN 2019), sem qualquer informação quanto à presença de sequelas transitórias ou permanentes (Chippaux 2015; Gutiérrez et al. 2017, Williams et al. 2019).

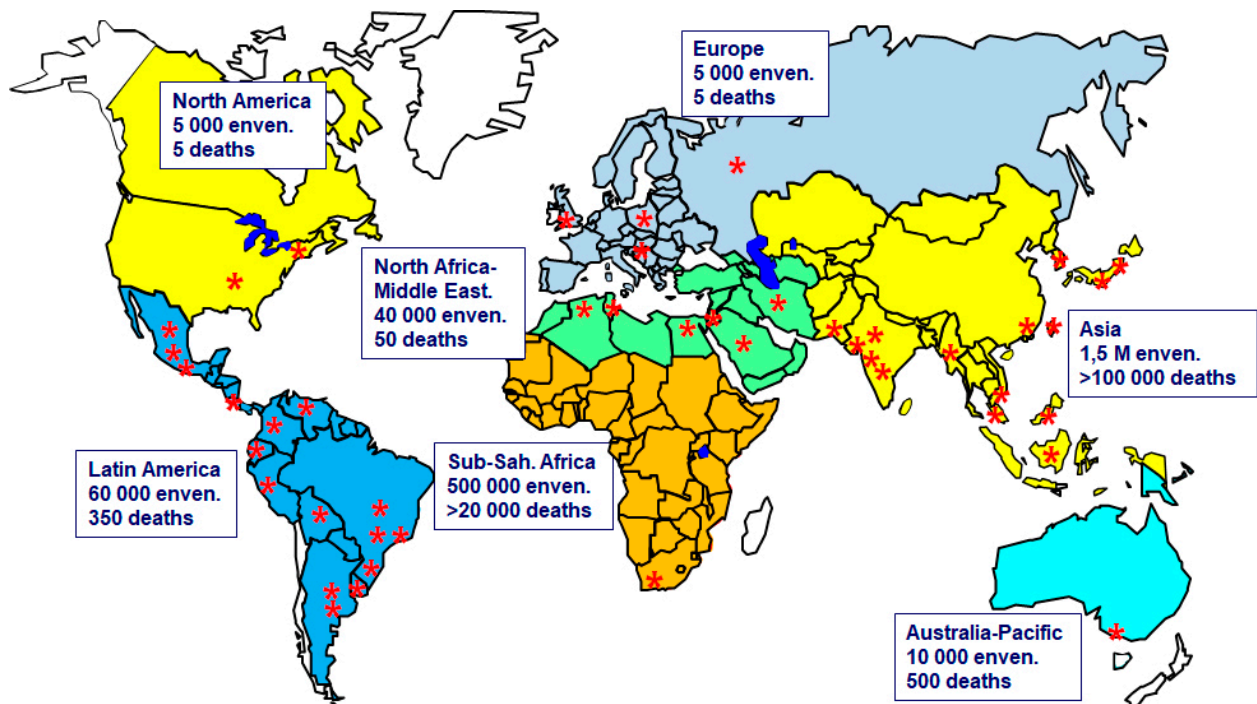


Figura 1.1 Mapa de distribuição mundial dos acidentes por serpentes peçonhentas. O maior número de casos e de óbitos ocorre no continente asiático, seguido da África e da América Latina e Caribe. Os asteriscos vermelhos indicam a distribuição global de fabricantes de soros antivenenos.(Fonte: Chippaux et al 2019).

Em relação às espécies de serpentes no Brasil, das 393 espécies identificadas no território nacional, apenas 64 são consideradas peçonhentas ou de interesse médico (Costa et al. 2015). As serpentes peçonhentas brasileiras enquadram-se principalmente em duas famílias, a Elapidae e a Viperidae, com membros desta última família responsáveis pela grande maioria dos acidentes por serpentes registrados no Brasil (Costa et al. 2015). Assim, dos 78 gêneros reconhecidos atualmente no país, dois representam a maioria dos acidentes notificados: os gêneros *Bothrops* e *Crotalus*, ambos viperídeos (Bernarde 2014, Costa et al. 2015). De fato, no território brasileiro, considerando os diferentes biomas, 71,41% dos acidentes ofídicos são causados por serpentes do gênero *Bothrops* (71,41%), seguido pelos gênero *Crotalus* (7,03%), *Lachesis* (3%) e *Micrurus* (0,78%) (SINAN, 2019). Na Figura 1.2 é possível observar que, em 2018, dos 209.476 casos de acidentes com animais peçonhentos, incluindo escorpiões, aranhas, lagartas e abelhas, 30.859 (14,5%) foram causados por serpentes, considerando dados do Sistema de Informações sobre Agravos de Notificação do Ministério da Saúde que reúne os registros desse tipo de acidente no Brasil. (Bochner 2012; SINAN 2019).



Figura 1.2 - Acidentes por animais peçonhentos no Brasil no ano de 2017. Dos 209.476 casos de acidentes notificados, 14,5% (30.367) foram atribuídos a serpentes (SINAN 2019)

## 1.2. Acidentes ofídicos no Brasil

Os envenenamentos por serpentes peçonhentas no Brasil representam um importante problema de saúde pública em decorrência, entre outros fatores, de sua incidência e morbidade elevadas, principalmente nas camadas mais pobres das populações que residem em áreas rurais e mais desfavorecidas econômica-socialmente.(Pereira, AJCG, 2017). Segundo o *Brooks Global Biodiversity Conservation Prioritie Sciences* (Brooks 2006) existe uma grande biodiversidade de animais peçonhentas no planeta, na América Latina e particularmente no Brasil, que abriga em sua fauna inúmeras espécies causadoras de acidentes de interesse médico, frequentemente associadas a variáveis ambientais e ocupacionais (Silva et al. 2020).

Com a criação do Programa Nacional de Ofidismo, no final da década de 1980, os acidentes por serpentes passaram a ser de notificação obrigatória, com a geração de dados epidemiológicos, permitiu uma melhor distribuição do soro no país e possibilitou a geração de conhecimento sobre a epidemiologia do ofidismo no Brasil. Infelizmente, a partir de 1996, o programa foi descontinuado e, como consequência imediata, se observou uma queda no número de casos notificados, de tal forma que foram notificados mais de 34 mil casos de acidentes por animais peçonhentos em 1995, contra 7.119 casos em 1998. (Mise 2009, Machado e Lemos 2016).

No Quadro 1.1 é apresentado um resumo das principais espécies de serpentes peçonhentas identificadas no Brasil, considerando a sua distribuição nos diferentes biomas e as manifestações clínicas associadas (Melgarejo 2003).

**Quadro 1.1 As principais espécies de serpente venenosas no Brasil segundo distribuição nos biomas**

Gênero	Espécie	Bioma	Observações (nome popular)
<i>Bothrops</i>	<i>B. alternatus</i>	Cerrado Pampa	Vive em áreas abertas e úmidas. Plantações de arroz e cana de açúcar. Maior produtora de veneno. (urutu cruzeiro)
	<i>B. atrox</i>	Amazônia	É o principal responsável pelos acidentes ofídicos no Norte. Presente nas beiras dos rios e igarapés (jararaca do norte)
	<i>B. brazili</i>	Amazônia	Embora rara, injeta grande volume e veneno (jararaca vermelha)
	<i>B. cotiara</i>	Mata Atlântica Pampa	Matas da Araucária do sul do Brasil (cotiara)
	<i>B. fonsecai</i>	Mata Atlântica	Áreas altas da Mantiqueira e Serra do Mar (urutu, cotiara)
	<i>B. jararaca</i>	Mata Atlântica	Espécie mais abundante e de grande plasticidade adaptativa. (jararaca preguiçosa)
	<i>B. jararacussu</i>	Mata Atlântica	Serpente de grande porte predominantemente do Sudeste e do Sul (jararacuçu)
	<i>B. leucurus</i>	Mata Atlântica	Espécie mais comum na zona da mata do Nordeste. Habita áreas perto de água (malha de sapo)
	<i>B. moojeni</i>	Cerrado Caatinga	Habita campos e cerrados (caiçara). Adaptada a ambientes antropizados
	<i>B. neuwiedi</i>	Cerrado Mata Atlântica	Complexo de sete espécies. Principais: <i>B. neuwiedi</i> , <i>B. lutzi</i> , <i>B. diporus</i> , <i>B. pubescens</i> , <i>B. marmoratus</i> (jararaca pintada)
	<i>B. insularis</i>	Mata Atlântica	Espécie da ilha da Queimada Grande/SP onde há a maior concentração de serpentes peçonhentas no mundo. Em risco de extinção (jararaca ilhoa)
<i>Crotalus</i>	<i>C. durissus</i>	Cerrado Caatinga Amazônia Mata Atlântica	Ampla distribuição geográfica. Responsável em média por 10% dos acidentes em áreas abertas, secas, arenosas e pedregosas (cascavel)
<i>Lachesis</i>	<i>L. muta</i>	Amazônia Mata Atlântica	“Rainha das matas” do neotrópico. Responsável por 3% dos acidentes. O bote pode ultrapassar 50% do seu comprimento total (surucucu)
<i>Micrurus</i>	<i>M. corallinus</i> <i>M. frontalis</i> <i>M. filiformis</i> <i>M. obscurus</i> <i>M. paraensis</i>	Amazônia Caatinga Cerrado Mata Atlântica Pampa Pantanal	No Brasil existem 30 espécies de corais venenosas, veneno neurotóxico: 27 <i>Micrurus</i> e 3 <i>Leptomicrurus</i> . Responsáveis por menos de 1% dos acidentes (coral verdadeira).

Fonte: Melgarejo AR, 2003; Barraviera, 2007.

Atualmente, apesar da regularidade das notificações dos acidentes por animais peçonhentos pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), a real magnitude dos acidentes por animais peçonhentos no Brasil não é ainda totalmente conhecida. Especificamente, em relação ao ofidismo, dados do Boletim Epidemiológico, volume 50, da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde de março de 2019 mostram que os envenenamentos por serpentes representam aproximadamente 29 mil casos anualmente.

No Quadro 1.2 são apresentados os dados dos acidentes ofídicos no contexto dos principais animais peçonhentos no Brasil, considerando a taxa de incidência, número de acidentes e a espécie de animal por região. É preciso registrar que diferentemente das outras regiões, onde acidentes por escorpião e aranha são mais prevalentes, na região norte predomina o envenenamento por serpentes.

Quadro 1.2 Os principais acidentes por animais peçonhentos no Brasil, segundo taxa de incidência, número de acidentes e tipo de animal por macrorregião.

Brasil e Macrorregiões	Ano de 2016		
	Incidência (/100.000 hab)	Número de acidentes	Acidente Principal (n de casos/%)
1ª Nordeste	95,7	54.483	Escorpião (39.162/72%)
2ª Sul	94,7	27.886	Aranha (17.530 / 63%)
3ª Norte	85,7	15.174	Serpente (8.689 / 57%)
4ª Sudeste	76,8	66,344	Escorpião (41.960 / 63%)
5ª Centro-Oeste	59,4	66.344	Escorpião (4.528 / 49%)
- Brasil	84,0	173.171	Escorpião (91.106 / 53%)

Predomínio dos acidentes por serpentes (57%) na região norte, com uma taxa de incidência/100.000 habitantes de 85,7.(Fonte: SINAN/SVS/MS).

Dos quatro gêneros de serpentes peçonhentas de importância médica no Brasil, destaca-se *Bothrops*, responsável por mais de 70% dos casos notificados no território nacional e que na região Norte, durante o período de 2009 a 2017, foi o gênero associado à maioria dos casos notificados (Figura 1.3). Mourão e colaboradores atribuem a maioria dos acidentes ofídicos, na região Amazônica do Brasil à espécie *Bothrops atrox*. Infelizmente os dados informados ao SINAN não informam a espécie e sim o gênero dos animais envolvidos nos acidentes ofídicos (Bernarde PS 2012).

Quanto à incidência de acidentes ofídicos no Brasil, dados do Ministério da Saúde demonstram que no período de 2009 a 2017, a taxa na população geral se mantém abaixo da média anual de 14,2 casos /100.000 habitantes, enquanto que na Região Norte, nesse mesmo período, teve média de 54,5 casos/100.000 hab., com destaque para os estados de Roraima (média de 75,05/100.000) e do Amazonas (média de 42,37/100.000). (Magalhães 2019; SINAN/SVS/MS)

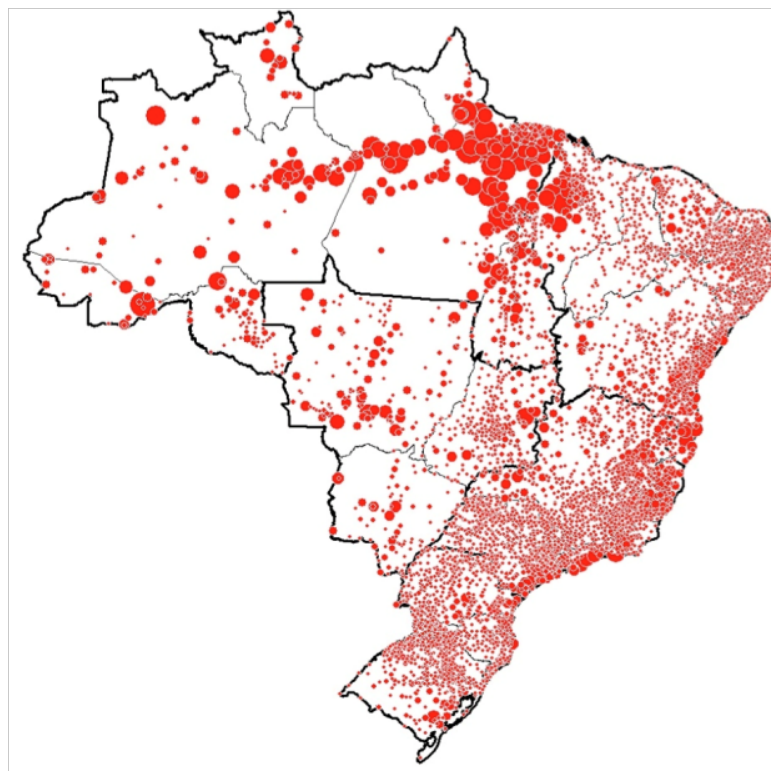


Figura 1.3 Distribuição das notificações dos acidentes por serpentes do gênero *Bothrops* no Brasil, no período de 2007 a 2015. Fonte: SINAN/MS.

Diante do predomínio dos acidentes ofídicos na região norte, as principais



espécies de serpentes peçonhentas *Bothrops atrox*; *Crotalus durissus*; *Lachesi muta*; *Micrurus spixii* e *Micrurus surinamensis* de importância médica na região norte se encontram ilustradas na Figura 1.4.

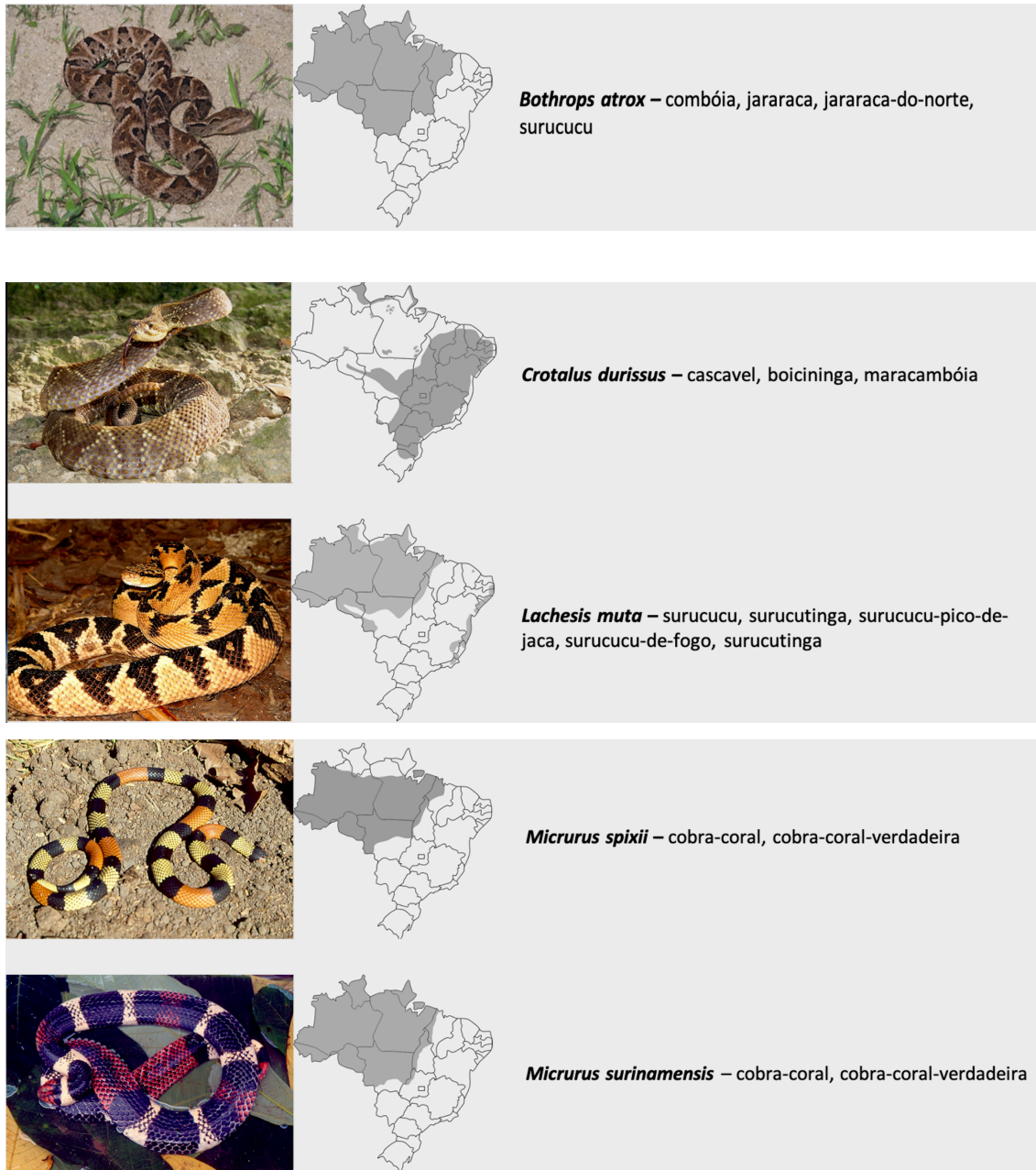


Figura 1.4 Espécies de serpentes peçonhentas de interesse médico, comuns no norte do Brasil. *Bothrops atrox*; *Crotalus durissus*; *Lachesi muta*; *Micrurus spixii* e *Micrurus surinamensis*.(Fonte: GT-AP/Zoonose/CGDT/DEVIT/SVS/MS-2014).

Quanto à faixa etária, segundo dados do Ministério da Saúde, embora todas as

idades possam ser acometidas, os acidentes ofídicos ocorrem com maior frequência em indivíduos na faixa etária entre 20-34 anos. Nesta faixa idade ocorrem o maior número de óbitos, de 18 a 22% dos casos(SINAN 2019).

Em relação à taxa de letalidade, na Figura 1.5 é possível verificar a correlação do tempo entre o acidente e o atendimento, no qual quanto mais precoce o início da soroterapia menor taxa de letalidade.

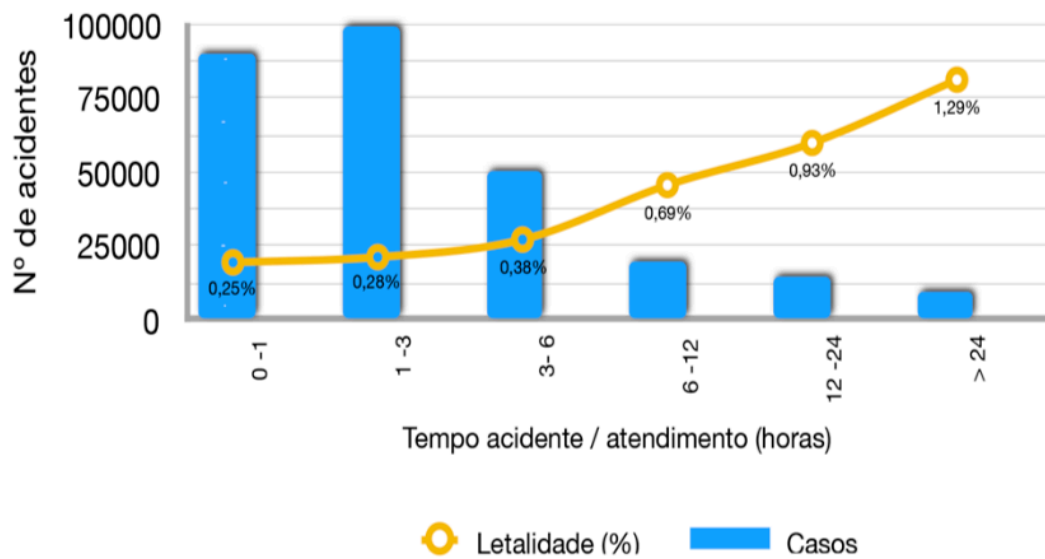


Figura 1.5. Taxa média de letalidade nos acidentes por serpentes no Brasil, período de 2007 a 2017. (Fonte: SINAN/MS. Acesso ao site 26/02/2018).

Os dados obtidos no SINAN, durante o período de 2010 a 2016, confirmam que no acidente botrópico o local da picada é predominantemente no membro inferior, chamando a atenção para uma elevada incidência de picada no membro superior observados nos acidentes elapídicos (Figura 1.6).



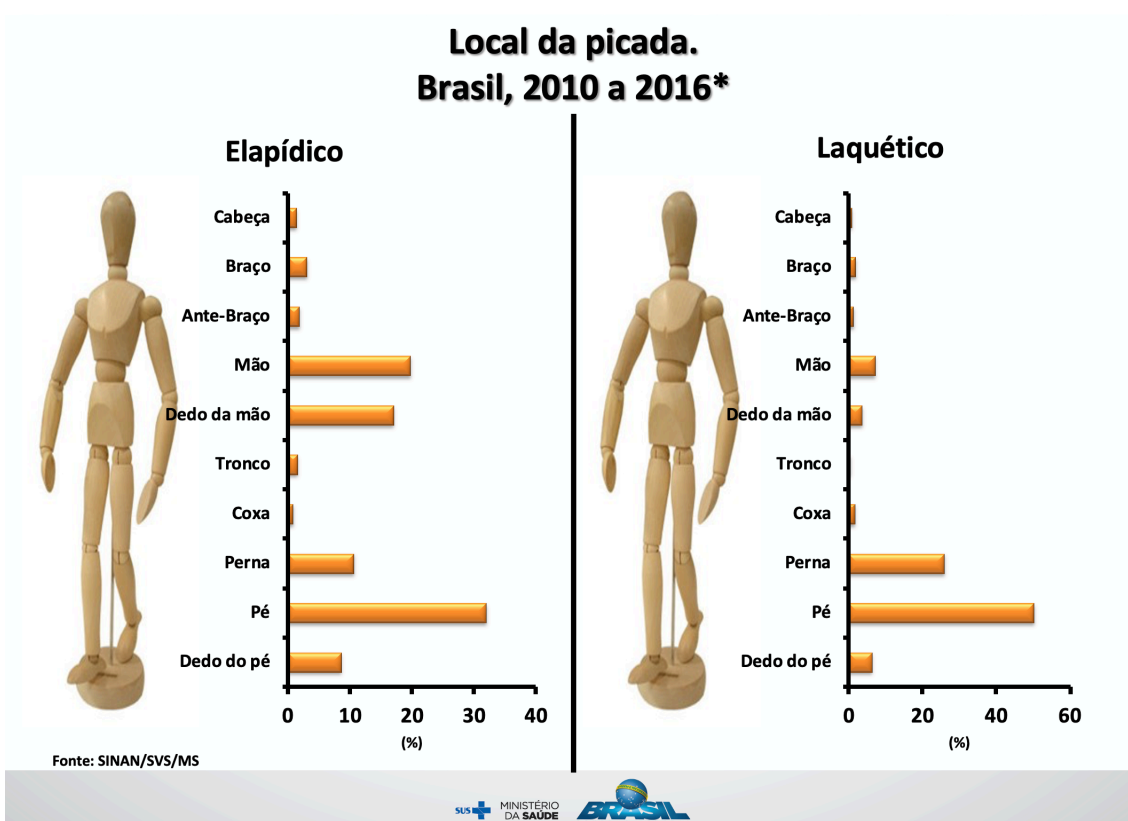
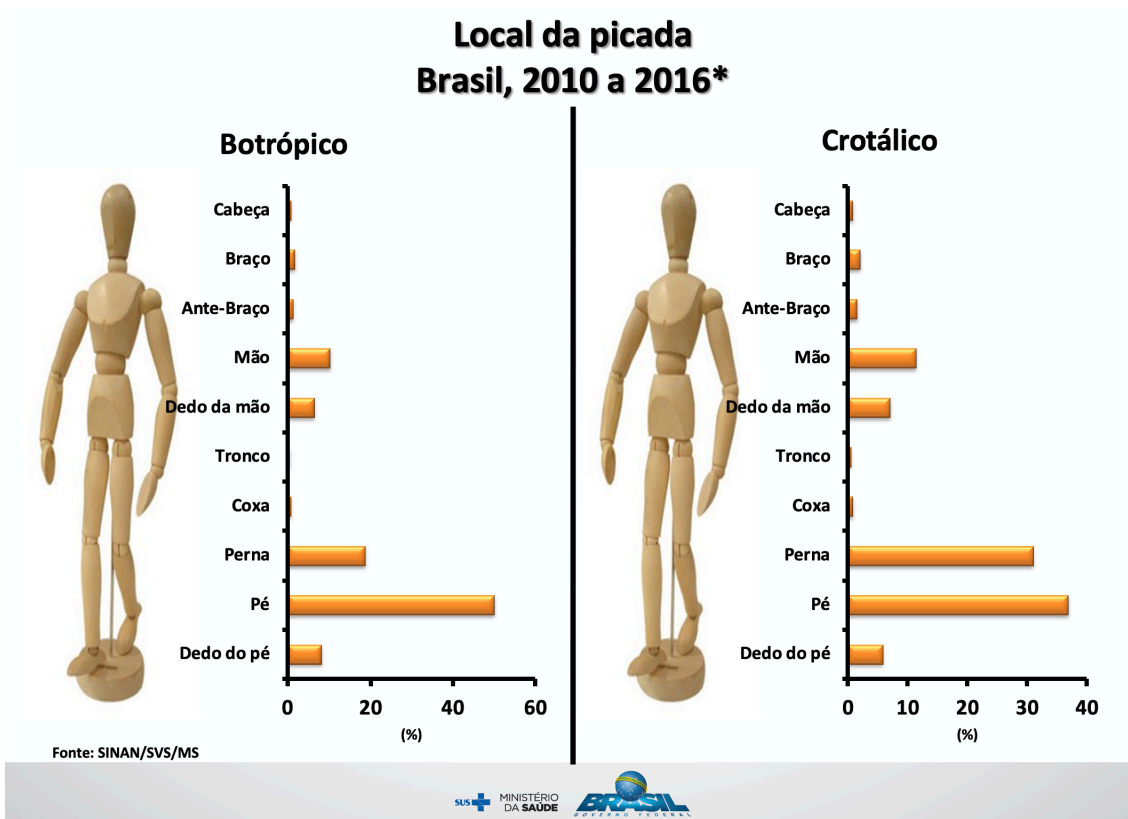


Figura 1.6 Local das picadas por serpentes no Brasil de 2010 a 2016, considerando os quatro gêneros de importância médica no território brasileiro. (Fonte: GT-AP/CGDT/DEVIT/SVS/MS-2017).

Considerando que a maioria dos envenenamentos por serpentes peçonhentas é ocasionada pelo gênero botrópico, na Figura 1.7 é apresentado, a partir das manifestações clínicas caracterizadas como leves, moderadas ou graves, um algoritmo de tratamento preconizado pelo Ministério da Saúde.

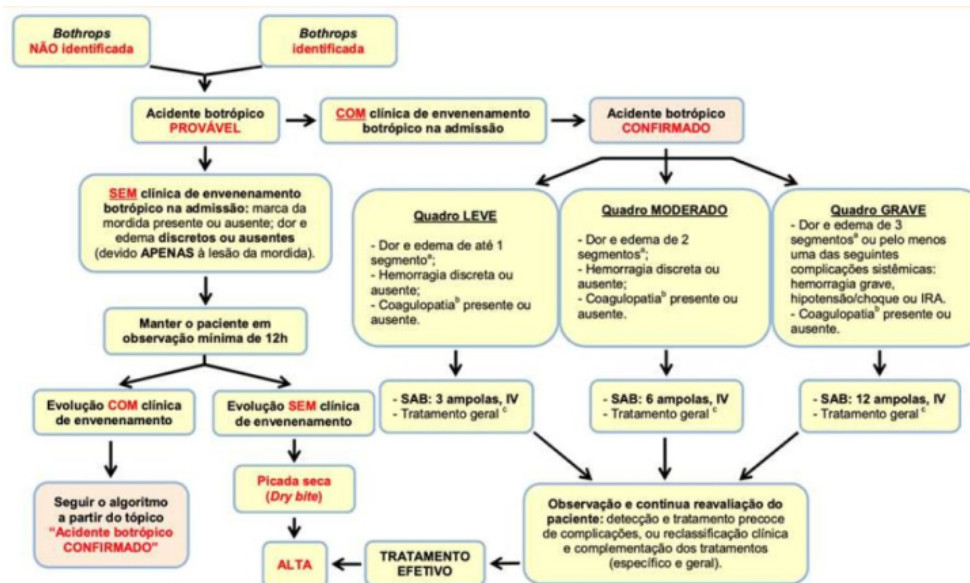


Figura 1.7 – Algoritmo de tratamento de acidentados por botrópico, onde todos os acidentes por botrópico, com sinais clínicos, recebem soros antibotrópico. (Fonte MS-NOTA INFORMATIVA: Informações da Coordenação-Geral de Doenças Transmissíveis (CGDT) referentes à nova abordagem ao tratamento em casos de acidentes por serpentes do grupo Bothrops de 03/08/2016.) Legendas: SAB (soro antibotrópico); IV (intravenoso); IRA (insuficiência renal aguda).

No Brasil o atendimento médico de acidentados por animais peçonhentos é realizado pelo Sistema Único de Saúde (SUS), gratuitamente. O Ministério da Saúde do Brasil adquiri os soros antivenenos dos laboratórios nacionais produtores e os distribui para todas as secretarias estaduais de saúde. São elas que fazem a disponibilização para os polos de atendimentos, inclusive para os DSEIs.

### 1.3. Acidente Ofídico e População Indígena no Brasil

Embora de grande relevância para a saúde pública, são poucos os estudos de incidência de acidentes ofídicos em áreas indígenas no Brasil (Pierini et al. 1996, Ferreira et al. 2011, da Silva et al. 2018, Freitas et al. 2019, Santos et al. 2019). Melo em sua dissertação de mestrado intitulada *”Perfil epidemiológico dos acidentes ofídicos no Estado de Roraima de 2013 a 2016”* demonstrou que mais de 60% dos acidentes no referido estado ocorreram na população indígena Yanomami. Assim, embora as publicações sejam escassas, é na região amazônica, onde se encontra a maioria da população indígena brasileira e a maior densidade de serpentes peçonhentas das Américas, que se tem o mais alto índice de acidentes com estes animais, além de uma elevada taxa de letalidade (Melo 2018; Pereira, AJCG, 2017).

Neste contexto, os dados epidemiológicos do Ministério da Saúde apontam que a incidência de óbitos na população indígenas no Brasil, em relação a acidentes com animais peçonhentos, é de 0,77%, enquanto que o índice na população em geral é de 0,48%, fato atribuído essencialmente à demora na aplicação do soro específico (SINAN 2019).

Com relação às questões etnoculturais, conhecimentos e práticas tradicionais que envolvem populações indígenas do Brasil é preciso destacar que podem interferir no atendimento e tratamento médico em especial com a recusa do atendimento. A morte quanto a doença para os Yanomamis são temas complexos. Quando um “parente” morre seus pertences são queimados, seu nome não deve ser mais pronunciado e o seu corpo precisa ser queimado e os seus ossos triturados a pó (Freitas et al. 2019). As sequelas permanentes, amputações e disfunções temporárias, que não são contabilizadas nas estatísticas oficiais, têm uma conotação trágica para os Yanomamis, já que o amputado se torna um estorvo para toda a comunidade.

Uma questão ética importante que também precisa ser considerada é a administração venosa de soros antiofídicos, preconizado pelo Ministério da Saúde e pela Organização mundial da Saúde, como único tratamento cientificamente comprovado para o tratamento das vítimas de envenenamento ofídico (IBGE 2010, Melo 2018). Como o soro hiperimune antiofídico produzido no Brasil é heterólogo, isto é, de origem equídea, uma reflexão sob o ponto de vista ético pode ser relevante.

## 1.4. Distritos Sanitários Especiais Indígenas e o DSEI Yanomami

O Subsistema de Saúde Indígena da SESAI/MS, integrante do SUS, está organizado em 34 Distritos Especiais Indígenas (DSEI) (Figura 1.8). É um espaço étnicocultural, geográfico, populacional e administrativo bem delimitado, sem relação direta com os limites de estados e municípios onde está localizados as terras indígenas. Visa promover a ordenação da rede de saúde e das práticas sanitária, além de desenvolver atividades administrativas e gerenciais necessárias à prestação da assistência (SESI-MS 2017). O DSEI-Yanomami foi pioneiro, criado em 1992, e desde então vem acumulando experiências e metodologias de trabalho exitosas tanto sob o ponto de vista da organização dos serviços de saúde indígena no país, quanto na qualificação dos seus recursos humanos cujo perfil, adequação e comprometimento com o trabalho passaram a ser referência para outros distritos sanitários indígenas.



Figura 1.8 Distribuição dos Distritos Especiais Indígenas (DSEI) no território brasileiro (Fonte: DESAI/FUNASA)

Segundo dados de 2010, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no Brasil, as populações indígenas residentes, que se declaram ou que se consideram indígenas de acordo com suas tradições, costumes e antepassados, são estimadas em 896.917 indígenas pertencentes a 305 etnias distintas, distribuídas em todas as regiões do Brasil (IBGE 2010). As regiões Norte e Centro-Oeste possuem as maiores concentrações de indígenas que ainda permanecem em terras oficialmente reconhecidas (Figura 1.9)

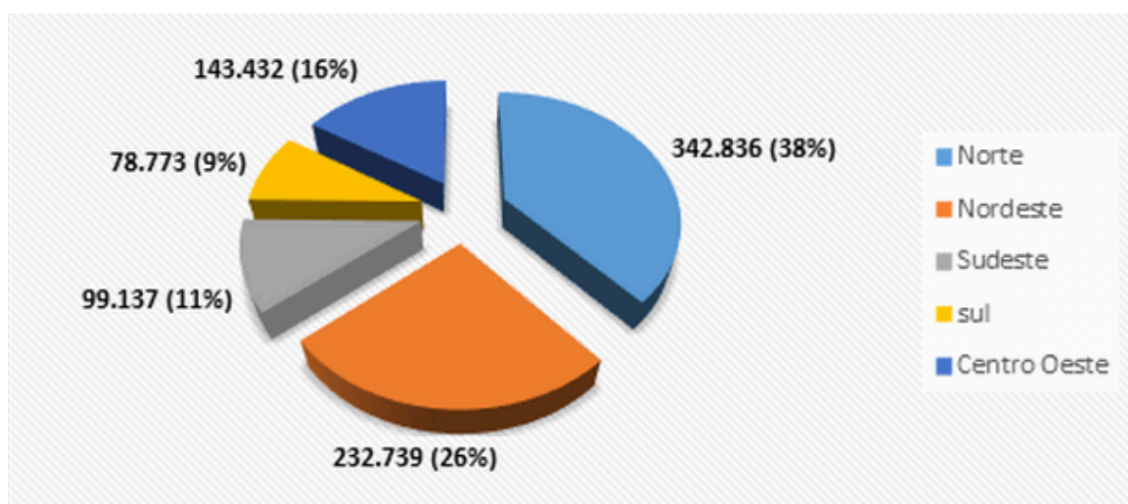


Figura 1.9 Distribuição da população indígena no território nacional. Indicando que a região norte abriga a maior população indígena. (Fonte: IBGE 2010).

#### 1.4. 1. Caracterização da População do DSEI-Yanomami

Situado no extremo setentrional do Brasil, a terra indígena Yanomami possui alta precipitação média anual (>2.000 mm), com os meses mais secos entre agosto e março, e uma precipitação média de  $1.655 \pm 408$  mm/ano que ocorre no pico das chuvas durante o período de abril-agosto (70%), segundo o Instituto Nacional de Meteorologia.

O território Yanomami, que abrange oito municípios brasileiros nos estados de Roraima e Amazona, está situado em ambos os lados da fronteira Brasil/Venezuela, na região interflúvio Orinoco-Amazonas. A reserva indígena Yanomami (homologada em 25/05/1992), que no Brasil cobre uma área de 96.650 Km<sup>2</sup> de floresta tropical (9.664.975,00 ha), é reconhecida por sua relevância quanto à biodiversidade amazônica.

Os Yanomami são uma sociedade de caçadores/agricultores da floresta tropical do norte da Amazônia brasileira. Segundo o Departamento de Gestão da Saúde Indígena,



Sistema de Informações de Atenção à Saúde Indígena, trata-se de uma população de 25.486 indígenas distribuídos em 323 aldeias, com duas etnias, a Yanomami e a Ye'kuana, constituindo um conjunto cultural e linguístico composto da mesma família – Yanomae, Yañimami, Sanima e Ninam.

O DSEI-Yanomami é responsável pela assistência à saúde da população indígena Yanomami que, em 2018, era constituído por 25.289 indígenas, segundo o Sistema de Informações de Atenção à Saúde Indígena/Secretaria Especial de Saúde Indígena do ministério da Saúde. Estruturado em três subdistritos localizados nos municípios de Barcelos, Santa Isabel do Rio Negro e São Gabriel da Cachoeira, localizados no estado do Amazonas, o DSEI Yanomami tem 37 polos-base, todos localizados dentro da terra indígena Yanomami. Destes 37 polos, 23 se localizam no estado de Roraima e 14 no estado do Amazonas, atendendo 323 aldeias (DSEI 2016).

Dados sobre a população indígena no território brasileiro que foram publicados no Censo Demográfico de 2010 mostram que, das 15 etnias com o maior número de indígenas (Quadro 1.3), os Yanomami são a sétima maior etnia, com uma estimativa populacional de 21.982 indígenas, e também é a etnia com maior percentual de indígenas em terras indígenas (94%). (IBGE - 2010)

Quadro 1.3 População indígena com indicação das 15 etnias com maior número de indígenas, por localização do domicílio no Brasil em 2010.

Nº de ordem	Total		Nas Terras Indígenas		Fora das Terras Indígenas	
	Nome da etnia	População	Nome da etnia	População	Nome da etnia	População
1	Tikúna	46.045	Tikúna	39.349	Terena	9.626
2	Guarani Kaiowá	43.401	Guarani Kaiowá	35.276	Baré	9.016
3	Kaingang	37.470	Kaingang	31.814	Guarani Kaiowá	8.125
4	Makuxí	28.912	Makuxí	22.568	Múra	7.769
5	Terena	28.845	Yanománi	20.604	Guarani	6.937
6	Tenetebara	24.428	Tenetebara	19.955	Tikúna	6.696
7	Yanománi	21.982	Terena	19.219	Pataxó	6.381
8	Potiguara	20.554	Xavante	15.953	Makuxí	6.344
9	Xavante	19.259	Potiguara	15.240	Kokama	5.976
10	Pataxó	13.588	Sateré-Maw é	11.060	Tupinambá	5.715
11	Sateré-Maw é	13.310	Mundurukú	8.845	Kaingang	5.656
12	Mundurukú	13.103	Kayapó	8.580	Potiguara	5.314
13	Múra	12.479	Wapixana	8.133	Xucuru	4.963
14	Xucuru	12.471	Xacriabá	7.760	Tenetebara	4.473
15	Baré	11.990	Xucuru	7.508	Atikum	4.273

(Fonte; IBGE-Censo Demográfico 2010).

Em relação ao número de população indígena cadastrada por DSEI, na Figura 1.10 se observa que a densidade populacional varia de 2.972 indígenas no DSEI Altamira a 71.658 indivíduos no DSEI Mato Grosso do Sul.

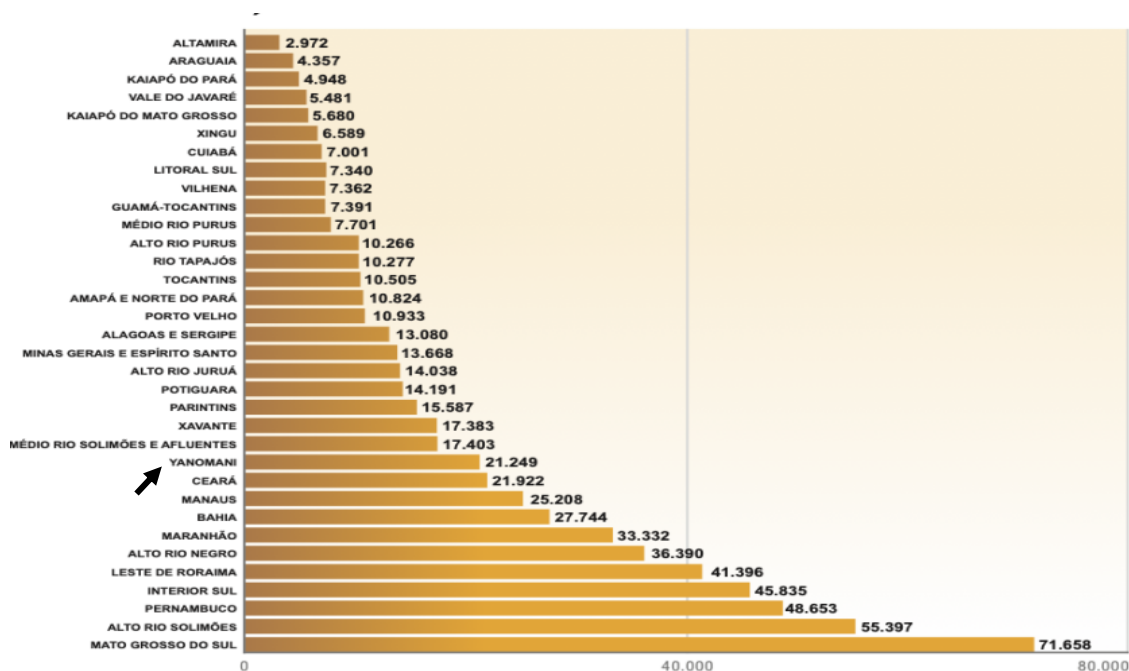


Figura 1.10 População indígena cadastrada por DSEI. O DSEI Yanomami (seta) ocupa o 11º, lugar dentre os 34 existentes no Brasil (Fonte: SIASI/SESAI – 2013).

#### 1.4.2. Polo Base

Os Pólos-Base se constituem na primeira referência para os Agentes Indígenas de saúde (AIS) que atuam nas aldeias. Podem estar localizados numa comunidade indígena ou num município de referência, neste último caso correspondendo a uma unidade básica de saúde já existente na rede de serviço daquele município. São o equivalente às Unidades Básicas de Saúde na Estratégia de Saúde da Família e contam com atuação de Equipe Multidisciplinar de Saúde Indígena (EMSI), composta principalmente por Médico, Enfermeiro, Dentista e Auxiliar de Enfermagem.

Neste contexto de dificuldade de acesso e a necessidade de assistência médica, a rede de serviço em saúde do DSEI-Yanomami, assim como em todos os DSEIs, está organizado na terra indígena Yanomami de forma hierarquizada, com a realização do

primeiro contato do usuário com o serviço de saúde na sua própria habitação (323 aldeias), onde os serviços básicos de saúde e atendimentos emergenciais são prestados pelos agentes indígenas de saúde (AIS) em conjunto com a equipe multidisciplinar de saúde indígena (EMSI). Todo paciente é então referenciado à sede do pólo-base (37 polos) que, como unidade de referência sanitária, constitui a base de atenção primária em campo. Há que se registrar que a construção destes pólos-base se fez a partir do agrupamento de comunidades que apresentavam, além de proximidades geográficas, uma maior afinidade com laços de convivência sócio-cultural previamente estabelecidas (Figura 1.11)



Figura 1.11. Organização da rede de serviços em saúde dos distritos sanitários especiais indígenas no Brasil..(Fonte: DSEI/SESAI/MS-2013)

As Características da População do DSEI-Yanomami são: Estão situado no extremo setentrional do Brasil, a terra indígena Yanomami possui alta precipitação média anual (>2.000 mm), com os meses mais secos entre agosto e março, e uma precipitação média de  $1.655 \pm 408$  mm/ano que ocorre no pico das chuvas durante o período de abril-agosto (70%), segundo o Instituto Nacional de Meteorologia. O território Yanomami, que



abrange oito municípios brasileiros nos estados de Roraima e Amazonas, está situado em ambos os lados da fronteira Brasil/Venezuela, na região interflúvio Orinoco-Amazonas. A reserva indígena Yanomami (homologada em 25/05/1992), que no Brasil cobre uma área de 96.650 Km<sup>2</sup> de floresta tropical (9.664.975,00 ha), é reconhecida por sua relevância quanto à biodiversidade amazônica. Os Yanomami são uma sociedade de caçadores/agricultores da floresta tropical do norte da Amazônia brasileira. Segundo o Departamento de Gestão da Saúde Indígena, Sistema de Informações de Atenção à Saúde Indígena, trata-se de uma população de 25.486 indígenas distribuídos em 323 aldeias, com duas etnias, a Yanomami e a Ye'kuana, constituindo um conjunto cultural e linguístico composto da mesma família – Yanomae, Yañimami, Sanima e Ninam.

O DSEI-Yanomami é responsável pela assistência à saúde da população indígena Yanomami que, em 2018, era constituído por 25.289 indígenas, segundo o Sistema de Informações de Atenção à Saúde Indígena/Secretaria Especial de Saúde Indígena do ministério da Saúde. Estruturado em três subdistritos localizados nos municípios de Barcelos, Santa Isabel do Rio Negro e São Gabriel da Cachoeira, localizados no estado do Amazonas, o DSEI Yanomami tem 37 polos-base, todos localizados dentro da terra indígena Yanomam. Destes 37 polos, 23 se localizam no estado de Roraima e 14 no estado do Amazonas, atendendo 323 aldeias (DSEI 2016).

No Quadro 1.4 se encontram listados os 37 polos base do DSEI Yanomami, com a sua distribuição geopolítica no território brasileiro com a inclusão dos municípios e estados aonde se encontram localizados, enquanto que na figura 10 é possível observar a localização espacial da reserva indígena, a partir das imagens do satélite *Landsat*.

O território indígena dos Yanomami ocupa uma extensa região montanhosa na fronteira com a Venezuela, numa área contínua de 9.419.108 hectares. A terra indígena Yanomami, cujo território majoritariamente está coberto por densa floresta tropical úmida, foi homologada em 25 de maio de 1992. Parte de seu território se encontra nos estados de Roraima e Amazonas, abrangendo mais especificamente os municípios de Alto Alegre, Amajari, Caracarai, Iracema e Mucajai em Roraima e São Gabriel da Cachoeira, Santa Isabel do Rio Negro e Barcelos no estado do Amazonas.

Quadro 1.4. Lista dos 37 polos base do Distrito Sanitário Especial Indígena Yanomami com sua localização, segundo estado e município no Brasil.

POLO BASE	MUNICÍPIO	POLO BASICO	MUNICÍPIO
1.Alto Catrimani	Mucajá/RR	20. Tootobi	Barcelos/AM
2.Apiaú	Mucajá/RR	21.Uraricoera	Alto Alegre/RR
3. Aracá	Barcelos/AM	22.Walkás	Alto Alegre/RR
4.Arthaú	Alto Alegre/RR	23.Waphuta	Alto Alegre/RR
5.Auaris	Amajari/RR	24.Alto Padauri	S.I. do Rio Negro/AM
6.Baixo Mucajá	Alto Alegre/RR	25.Médio Padauri	S.I. do Rio Negro/AM
7.Balawaú	Barcelos/AM	26.Marauá	S.I. do Rio Negro/AM
8.Demini	Barcelos/AM	27.Ajuricaba	S.I. do Rio Negro/AM
9.Ericó	Amajari/RR	28. Cachoeira de Aracá	Barcelos/AM
10.Hakoma	Alto Alegre/RR	29.Missão Catrimani	Caracará/RR
11.Haxiú	Alto Alegre/RR	30.Baixo Catrimani	Caracará/RR
12.Hamoxi	Iracema/RR	31.Ajarani	Caracará/RR
13. Kaianaú(exPaapiú)	Iracema/RR	32.Xitel	Alto Alegre /RR
14.Maloca Paapiú	Iracema/RR	33.Maturacá	S.G. da Cachoeira/AM
15. Marari	Barcelos/AM	34.Maiá	S.I. do Rio Negro/AM
16.Novo Demini	Barcelos/AM	35.Inambu	S.G. da Cachoeira/AM
17.Parafuri	Alto Alegre/RR	36.Alto Mucajaú	Alto Alegre /RR
18 Saúba	Amajari/RR	37.Palimú	Alto Alegre /RR
19. Surucucu	Alto Alegre /RR		

O território indígena dos Yanomami ocupa uma extensa região montanhosa na fronteira com a Venezuela, numa área contínua de 9.419.108 hectares. A terra indígena Yanomami, cujo território majoritariamente está coberto por densa floresta tropical úmida, foi homologada em 25 de maio de 1992. Parte de seu território se encontra nos estados de Roraima e Amazonas, abrangendo mais especificamente os municípios de Alto Alegre, Amajari, Caracará, Iracema e Mucajá em Roraima e São Gabriel da Cachoeira, Santa Isabel do Rio Negro e Barcelos no estado do Amazonas.



Figura 1.12 Localização espacial da Reserva indígena Yanomami, no Brasil. Área da terra indígena Yanomami no Brasil, contorno em vermelho vista de satélite Fonte: Miranda, Coutinho (2004)

Considerando a extensão do território dos Yanomami e a dificuldade de acesso, a maioria do transporte da população indígena do DSEI-Yanomami é realizada por via aérea em pequenas aeronaves até a sede dos polos base e pelo transporte fluvial predominante no estado do Amazonas, enquanto que para os polos de São Gabriel, Ajarani e Apiau o transporte é realizado por via terrestre e fluvial, comprovando a logística de grande complexidade para o transporte dos indígenas dos 37 polos do DSEI-Yanomami.

Nas figuras 1.12 e 1.13 são apresentados os mapas das rotas aéreas e fluviais, esta última, a mais utilizada na região, onde os rios Negro, Demini, Uraricuera, Rio Branco e Catrimani interligam os municípios dos estados do Amazonas e Roraima que fazem parte do território dos Yanomamis.

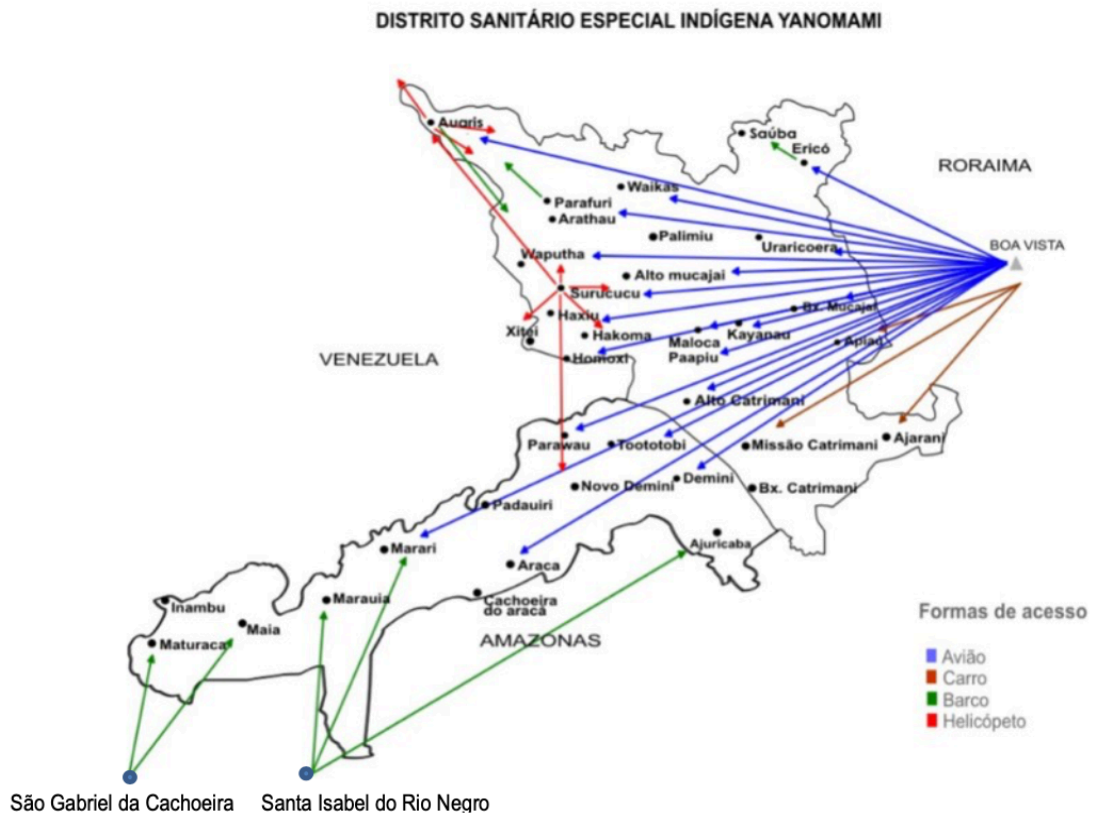


Figura 1.13. Mapa das rotas predominantemente aéreas que são seguidas para a remoção de pacientes indígenas. Para essas remoções o DSEI Yanomami conta com uma rede de hospitais de referência em várias cidades. (Fonte: Setor de epidemiologia /estatística DSEI-Y, 14/05/2010)

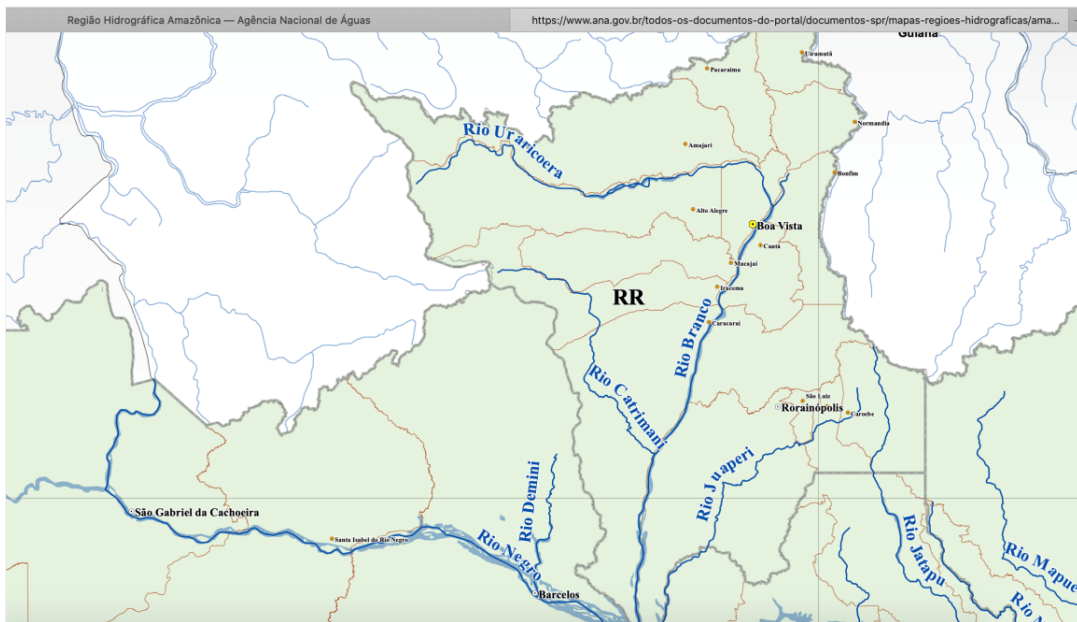


Figura 1.14 Mapa de vias Fluviais, onde se realiza o meio de transporte mais usada na região (Fonte: Agência Nacional de Águas, 2019. [www.ana.gov.br/todos-os-documentos-do-portal/documentos-spr/mapas-regioes-hidrograficas/amazonia](https://www.ana.gov.br/todos-os-documentos-do-portal/documentos-spr/mapas-regioes-hidrograficas/amazonia))

Quanto à rede de hospitais de referência para atendimento da população indígena do DSEI Yanomami, existem quatro unidades, uma em Rondônia e três no estado do Amazonas como discriminado abaixo:

- 1) Unidades de referência em Boa Vista (Roraima)
  - ✓ Casa de Saúde do Índio (DSEI Yanomami);
  - ✓ Hospital Materno Infantil Nossa Senhora de Nazareth;
  - ✓ Hospital Geral de Roraima;
  - ✓ Hospital Coronel Mota;
  - ✓ Hospital da Criança Santo Antônio.

- 2) Unidades de referência em São Gabriel da Cachoeira (Amazonas)
  - ✓ Casa de Saúde do Índio (DSEI Alto Rio Negro);
  - ✓ Hospital de Guarnição de São Gabriel da Cachoeira;
  - ✓ Casa de Saúde do Índio (DSEI Manaus);
  - ✓ Unidades Hospitalares de Manaus.

3) Unidades de referência em Santa Isabel do Rio Negro (Amazonas):

- ✓ Hospital de Santa Isabel do Rio Negro;
- ✓ Casa de Saúde do Índio (DSEI Manaus);
- ✓ Unidades Hospitalares de Manaus.

4) Unidades de referência em Barcelos (Amazonas):

- ✓ Unidade Mista de Saúde de Barcelos;
- ✓ Casa de Saúde do Índio (DSEI Manaus);
- ✓ Unidades Hospitalares de Manaus.

Os pacientes indígenas acidentados por animais peçonhentos são recebidos inicialmente nos polos base e só são removidos para as unidades de referências quando tem indicação médica e/ou quando não há disponibilidade de soros antiofídicos.

### **1.5. Soro Antiofídico**

Considerando que para os acidentes ofídicos, diferentemente de uma série de agravos que acometem a população humana mundial, existe tratamento altamente eficaz para prevenir ou reverter a maioria dos efeitos do veneno das serpentes, a OMS inclui os os soros antiofídicos na lista de medicamentos essenciais que devem fazer parte de qualquer sistema de atenção primária de saúde em locais onde ocorram acidentes ofídicos.

Sabe-se que é estratégico e fundamental que soros antiofídicos estejam disponíveis e sejam acessíveis para todas as regiões do Brasil, tendo em vista que o tempo entre o acidente e seu uso é determinante para o desfecho. Os soros antiofídicos são produzidos atualmente, no mundo, por cerca de 46 laboratórios públicos e privados, todos públicos (WHO 2010). Atualmente são produzidos no Brasil cinco tipos diferentes de soros antiofídicos, além dos soros hiperimunes contra aranhas, escorpião e lagarta (Figura 1.15) pelos seguintes laboratórios: Instituto Vital Brazil; Fundação Ezequiel Dias; Instituto Butantan e pelo Centro de Produção e Pesquisa de imunobiológicos

SERPENTES	ESCORPIÕES	ARANHAS	LAGARTAS
<b>SAB - Soro Antibotrópico (pentavalente)</b> – acidente por jararaca (antigo soro antibotrópico)	<b>SAEsc - Soro Antiescorpiônico</b> – acidente por escorpião do gênero <i>Tityus</i>	<b>SAA - Soro Antiaracnídico (Loxosceles, Phoneutria e Tityus)</b> (antigo soro antiaracnídico) (antigo soro antiaracnídico/escorpiônico)	<b>SALon - Soro Antilonômico</b> – acidente por lagarta do gênero <i>Lonomia</i>
<b>SABL – Soro Antibotrópico (pentavalente) e antilaquético</b> – acidente por jararaca ou surucucu-pico-de-jaca (antigo soro antibotrópico-laquético)	<b>SAA - Soro Antiaracnídico (Loxosceles, Phoneutria e Tityus)</b> (antigo soro antiaracnídico) (antigo soro antiaracnídico/escorpiônico)	<b>SALox - Soro Antiloxoscélico (trivalente)</b> (antigo soro antiloxoscélico)	
<b>SABC - Soro Antibotrópico (pentavalente) e anticrotálico</b> – acidente por jararaca ou cascavel (antigo soro antibotrópico-crotálico)			
<b>SAC - Soro Anticrotálico</b> – acidente por cascavel			
<b>SAEla - Soro Antielaídico</b> – acidente por coral verdadeira			

Figura 1.15 Relação dos soros antivenenos produzidos no Brasil e seus respectivos Laboratórios produtores.(Fonte: MS/SVS/2017)

Os soros são produzidos a partir de solução de imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas de plasma de equídeos hiperimunizados contra o veneno correspondente. Apesar de em alguns países os soros serem liofilizados, no Brasil os soros, para uso em humanos, são na forma farmacêutica líquida que devem permanecer na temperatura de  $5,0 \pm 3,0^\circ\text{C}$  durante o processo de transferência e armazenagem (ANVISA 2019). Conceitualmente, a liofilização de soros visa garantir maior estabilidade, porém, durante este procedimento industrial os anticorpos antivenenos sofrem modificações físicas e químicas que podem causar alterações irreversíveis impactando negativamente na sua atividade neutralizante (Sarciaux 1999, Dart et al. 2001, Herrera et al. 2017). Estudos mostram que os anticorpos antivenenos liofilizados conservam sua capacidade neutralizante, mas na maioria das formulações, apresentam desestabilização quando incubadas a  $40^\circ\text{C}$  por seis meses, ressaltando a necessidade de desenvolvimento de formulações mais estáveis (ANVISA 2019, Segura et al. 2012). Outra importante questão no uso de soros liofilizados é o tempo de reconstituição de seu líofilo, que pode levar de 25 a 45 minutos para a dissolução completa, impactando diretamente no tempo da aplicação do soro e, conseqüentemente, no desfecho do caso (León et al. 2014, Gutiérrez et al. 2008). Há carência de estudos onde demonstrem a termoestabilidade dos soros na forma líquida em temperatura ambiente.

Os soros produzidos no Brasil são fornecidos na forma de medicamento líquido, em ampolas e frasco-ampolas de vidro e, desta forma, se preconiza que permaneçam sob refrigeração constante de 2 a 8°C, com uma validade de três anos. Considerando o estágio de desenvolvimento da produção de medicamentos biológicos, e da biotecnologia, no Brasil e no mundo, não há nada que justifique a falta dos soros antiofídicos no país, tanto sob o ponto de vista da sua qualidade quanto da quantidade para uso seguro e eficaz, em tempo hábil, nos atendimentos dos casos de envenenamentos por serpentes peçonhentas pelo SUS, em todo o território nacional, principalmente, nas áreas indígenas remotas do Brasil.

### **1.5.1. Vital Brazil, Ofidismo e Soroterapia**

Soros antiofídicos é um medicamento criado há mais de 125 anos. Desenvolvida em 1894, a soroterapia antiveneno permanece, na sua essência, a mesma até os dias de hoje. No entanto, neste período de mais de um século, houve melhorias tecnológicas nos processos de produção, bem como novos protocolos de controle de qualidade/regulatórias, objetivando segurança e eficácia no seu uso (Gutiérrez et al. 2012). Atualmente, existem algumas diferenças nos processos produtivos entre os produtores mundiais de soros, principalmente no que diz respeito à fonte de obtenção do plasma animal (cavalos, lhamas, camelos etc.); também nas fases de digestão enzimática; fracionamento por sulfato de amônia e/ou ácido caprílico e à apresentação do produto final, que pode ser líquido ou liofilizado.

A descoberta da soroterapia do tétano e da difteria teve imenso impacto e influenciou diretamente a busca de outros processos semelhantes para várias doenças e também para o envenenamento por serpentes peçonhentas. Três pesquisadores iniciaram a soroterapia antiofídica, em 1894 - Albert Calmette, Césaire Phisalix e Gabriel Bertrand, que foram influenciados diretamente pelos trabalhos de Behring e Kitasato (Lalloo e Theakston 2003) Nesta época, Phisalix e Bertrand trabalhavam nos estudos sobre envenenamento ofídico e conseguiram imunizar animais contra venenos de cobras, produzindo soro antiofídico no Museu de História Natural de Paris (Bochner 2016, Squaiella-Baptistão 2018).



. Calmette começou a se interessar pelo veneno das serpentes em 1892, quando trabalhava na criação do Instituto Pasteur na Indochina (colônia francesa). Ele retornou a Paris em 1893, onde prosseguiu seus estudos, no Instituto Pasteur, sob a supervisão de Émile Roux, que, na época, estava fortemente envolvido com o estudo de doenças transmissíveis e com a pesquisa da soroterapia. Fundado em 1887 e inaugurado em 1888, o Instituto Pasteur tornou-se imediatamente referência mundial em pesquisas médicas experimentais.

Os trabalhos de Calmette adquiriram maior visibilidade do que o de Phisalix e Bertrand, tanto por sua estratégia de divulgação das suas pesquisas como também pela produção e comercialização do soro antiofídico pelo Instituto Pasteur. Tanto Calmette como Phisalix e Bertrand acreditavam que o soro proposto seria eficiente para qualquer tipo de envenenamento por serpentes. No entanto, Vital Brazil constatou, descreveu e comprovou que para cada veneno é preciso um antígeno específico. Na verdade, o primeiro soro antiofídico produzido por Calmette, na França, só era eficaz para o envenenamento causado pela naja, gênero de serpente encontrada em parte da Ásia e na África. A descoberta do cientista brasileiro foi um divisor de águas nesta área e os resultados científicos e técnicos de suas pesquisas passaram a ser adotados mundialmente na produção de soros antivenenos (Bochner 2016). A partir de 1896 e após uma série de experimentos, Vital Brazil confirmou que a especificidade dos soros antiofídicos estava relacionada ao gênero das serpentes. A descoberta de Vital Brazil rompeu paradigmas e estabeleceu um novo conceito na imunologia, pela primeira vez a Medicina tinha um produto realmente eficaz no tratamento de acidentes causados por serpentes peçonhentas. Com seu pioneirismo, criou as bases da imunologia mundial (Bochner e Struchiner 2003). Em agosto de 1901 os primeiros lotes de soros antiofídicos começavam a ser distribuídos no Brasil, produzidos nas precárias instalações do Instituto Butantan, recém fundado pelo próprio Vital Brazil. Era o início da produção de um medicamento 100% nacional, específico e estratégico e que, até hoje, é usado no tratamento de acidentados por animais peçonhentos no Brasil e salvando centenas de milhares de vidas. Dezoito anos depois, em 1919, na cidade de Niterói/RJ, Vital Brazil funda o Instituto Vital Brazil, outro importante laboratório público (Brazil 2001).

Na década de 1980, do Programa Nacional de Autossuficiência em Imunobiológicos, no Ministério da Saúde, foi provocada por uma séria crise na oferta

de soros antiofídicos, em decorrência da suspensão, irresponsável, das atividades da empresa multinacional Syntex do Brasil, que era responsável por 90% da produção nacional de soros antiofídicos. Esta suspensão levou ao desabastecimento em todo o país, com grande impacto na saúde pública, inclusive com registros de óbitos por falta de soros (Ibañez et al 2007).

### **1.5.2. Termoestabilidade**

O teste de estabilidade de medicamentos é utilizado, no mundo todo, para avaliar a formação de produto de degradação, perda de potência, perda de atividade de excipiente como ação conservante antimicrobiana e antioxidante e após o lote ser liberado para venda à 15 a 30°C. Para efeitos regulatórios e de registro de medicamentos, o termo “temperatura ambiente” faz referência à temperatura entre 15 e 30°C (ANVISA 2019).

Estudos de termoestabilidade são realizados para determinar a estabilidade dos soros antiofídicos quando um novo produto é lançado no mercado ou há mudanças de processo ou uma nova formulação é desenvolvida. Estes estudos são essenciais para definir o prazo de validade do produto e têm como objetivo provar que o soro permanece estável e eficaz até a data de sua validade. Estudos de termoestabilidade são um conjunto complexo de procedimentos que envolvem custo, tempo e experiência consideráveis (Alvim e Clemente 1998).

Em geral, a maioria das preparações de soros antiofídicos líquido tem um prazo de validade de três anos, quando armazenado refrigerado de 2 a 8°C; enquanto os soros liofilizados têm prazo de validade de até cinco anos, quando mantido ao abrigo da luz em “temperatura ambiente”. No entanto, é essencial que os fabricantes determinem a estabilidade real de cada formulação de soro sob condições apropriadas usando metodologias validadas. Também é recomendável que os fabricantes realizem estudos de estabilidade para avaliar a possibilidade de que suas preparações possam ser armazenadas a 30°C (Williams 2019, Gutiérrez et al. 2008).

Segundo as diretrizes da OMS, para a produção, controle e regulação de imunoglobulinas de soros antiofídicos, o comitê de peritos em normatização biológica sugere que as políticas de distribuição para programas nacionais de vacinação adotem, também, o transporte e armazenamento de antivenenos, já que exigem cadeia de frio (WHO, 2016). Atualmente, aproximadamente 45 laboratórios públicos e privados

fabricam antivenenos de serpentes no mundo. Os soros antiofídicos para o acidente de serpente devem ser eficazes na neutralização de todos os componentes tóxicos dos venenos, seguros e com reduzido ou inexistente efeito adverso. Além disso, devem permanecer estáveis nas condições em que serão transferidos e armazenados, pois a instabilidade leva a uma perda de eficácia (perda de potência), aumento de efeitos adversos e agregação de proteínas. Desta forma, a estabilidade dos soros é um problema particular em algumas partes do mundo, como na África e no norte do Brasil, onde a temperatura e a umidade são altas e que nem sempre é possível garantir uma cadeia de frio e um armazenamento refrigerado adequados.

### **1.5.3. Produção e Distribuição dos Soros Antiofídicos no Brasil**

Muitos poucos países têm capacidade de produzir soros antiofídicos e fatores diversos têm contribuído para uma produção reduzida, associada com um elevado custo financeiro. Dentre eles, se destacam (i) a incapacidade de avaliar a qualidade da produção de antiveneno no contexto da especificidade e variabilidade regional dos venenos das espécies de serpentes peçonhentas; (ii) a inexistência de capacidade regulatória para o controle dos soros antiofídicos nos países onde o acidente ofídico é endêmico, (iii) falta de dados confiáveis sobre os acidentes que dificultam a estimativa das necessidades e (iv) uma política de distribuição ineficiente (Gutiérrez 2019, WHO 2010a).

No Brasil, o Ministério da Saúde adquire soros antiofídicos de quatro laboratórios nacionais: Instituto Vital Brazil (IVB); Instituto Butantan (IB); Fundação Ezequiel Dias (FUNED) e do Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos (CPPI), com distribuição gratuita para os polos de atendimento do SUS, em todo o Brasil. O Instituto Vital Brazil, localizado no município de Niterói, Rio de Janeiro, é atualmente responsável por um terço da demanda nacional de soros antiofídicos, antirrábico, antitetânico; antiescorpiônico; com uma produção anual de 300.000 ampolas.

Com a redução da capacidade de produção, devido a necessidade de adequações as normativas da ANVISA, levou a uma redução de 50% do quantitativo entregue ao Ministério da Saúde, o que culminou com a emissão da Nota Informativa número 25 da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, em 2016. Nesta nota são apresentadas as novas indicações de tratamento soroterápico, com

redução do número de ampolas do soro para tratamento dos acidentes por serpentes do gênero *Bothrops*.

A distribuição dos quantitativos de cada tipo de soro antiveneno é estabelecida de número de notificações que o MS recebe anualmente.

O tratamento com o soro é gratuito e disponível apenas na rede pública de saúde (SUS), o que merece destaque, tendo em vista que, embora seja um tratamento caro, está ao alcance de todos os acidentados, inclusive os menos favorecidos financeiramente. Em nenhum lugar do mundo o soro é distribuído gratuitamente e o tratamento é disponibilizado com tanta facilidade como no Brasil. A capacidade de produção nacional de soros está projetada para atender 100% da demanda brasileira, para uso humano, e todos os lotes produzidos são controlados pelo Ministério da Saúde, mais precisamente pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da FIOCRUZ, para que seja comprovada sua excelência. No entanto, uma questão a ser resolvida atualmente pelo Sistema Nacional de Atenção aos Acidentados por Animais Peçonhentos é a disponibilidade do medicamento em todo o território nacional, principalmente em regiões remotas e áreas indígenas.

## 2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESES

Os acidentes com serpentes peçonhentas, recentemente incluídos como agravos negligenciados pela OMS, representam sério problema de saúde pública em diversas regiões da África, Ásia e da América Latina, onde afetam predominantemente as camadas mais pobres da população que habitam áreas rurais remotas.

No Brasil, o envenenamento por serpentes ocorre em mais de 20.000 mil casos por ano, com uma letalidade na população geral em torno de 0,48%, taxa que se apresenta seis vezes mais elevada entre os indígenas (0,77%) (Brochner e Stuchiner 2003). Estas estimativas, entretanto, podem estar aquém da realidade, principalmente nas regiões do norte e do centro oeste do Brasil, em especial na região amazônica, em decorrência da dificuldade de acesso da população ribeirinha e indígena aos centros de saúde para atendimento médico, em uma região onde sabidamente há a maior incidência de acidentes ofídicos por habitante, a maioria causada pela espécie *Bothrops atrox* (Waldez e Vogt 2009).

Sabe-se que a ocorrência dos acidentes ofídicos está associada a diversos fatores socioambientais, mas, especificamente, em relação à região amazônica, a uma maior exposição da população à mata nativa e, conseqüentemente, a serpentes peçonhentas, com frequência em áreas remotas e de difícil acesso aos serviços de saúde, um fator determinante para um desfecho clínico desfavorável dos acidentados, considerando a necessidade de soroterapia precoce com vista a reduzir a letalidade e a ocorrência de sequelas, muitas vezes incapacitantes e geralmente invisíveis para o sistema de saúde.

Neste contexto é pertinente registrar o estudo que no período de 2007 a 2012 dos 9.191 acidentes registrados, numa taxa de incidência de 52,8 casos/100.000 habitantes por ano, os autores encontram um risco de evoluir para o óbito associado a pacientes na faixa etária maior que 64 anos e com o tempo de atendimento médico superior a seis horas após o acidente (Feitosa et al, 2015)

Ainda na região amazônica, considerando os poucos trabalhos sobre o tema, merecem destacar os estudos epidemiológicos sobre acidentes ofídicos nos estados do Acre, Amapá, Amazonas e Roraima (Borges *et al.* 1999; Lima *et al.* 2009, Moreno *et al.* 2005, Nascimento 2000, Waldez e Vogt 2010), mas em nenhum deles é especificamente um estudo sobre a população indígena.

Quanto à população indígena, existem poucos estudos, com destaque para o trabalho desenvolvido no estado do Acre por Silva e colaboradores (2020), no qual os

autores confirmam a falta de conhecimento de medidas preventivas e de primeiros socorros no acidente ofídico. É de conhecimento de que os estudos epidemiológicos dos acidentes por serpentes peçonhentas em áreas indígenas podem contribuir substancialmente para elaboração de ações que viabilizem uma intervenção sistêmica com treinamento dos profissionais para o controle e manejo de animais peçonhentos e um atendimento adequado aos acidentados em áreas indígenas no Norte do Brasil. Somada a essa realidade está, também, a falta de estudos de termoestabilidade de soros.

Quanto ao tratamento, partindo da premissa de que a forma mais eficaz de neutralização do veneno da serpente é a administração do soro antiofídico específico, assim, é essencial e estratégico que este imunobiológico esteja disponível, acessível e em quantidade suficiente em locais oportunos com o objetivo de reduzir o tempo entre o acidente e a soroterapia. Com a preocupação em relação à eficácia do tratamento em decorrência da impossibilidade de distribuição de soros antiofídicos de forma ampla em regiões de difícil acesso, em especial pela falta de uma cadeia de frio adequada, estudos que avaliem a potência, a pureza e a termoestabilidade dos soros antiofídicos em temperatura ambiente poderão contribuir para a melhoria do atendimento de pacientes acidentados por serpentes peçonhentas em áreas remotas como nas áreas indígenas da região amazônica.

Diante do exposto, justifica-se o desenvolvimento do presente estudo, considerando que além da região amazônica concentrar a maior densidade de ofídios das Américas, com um alto índice de acidentes com estes animais peçonhentos com altas taxa de letalidade, existem poucos estudos sobre a incidência de acidentes ofídicos em áreas indígenas (Freitas et al. 2019). Em adição, a partir da análise da termoestabilidade do soro será possível obter informações que poderão oferecer condições de tratamento a pacientes em remotas regiões, com a mesma eficiência e segurança.

## **2.2 – Hipóteses:**

(i) A letalidade dos acidentes ofídicos na população indígena Yanomami é maior do que na população geral do Brasil;

(ii) A diferença das taxas de mortalidades entre as populações indígenas e o restante da população brasileira está relacionada ao tempo entre a ocorrência do acidente e a aplicação do soro.

(iii) Os soros antiofídicos apresentam estabilidade quando mantidos a  $30.0 \pm 2.0$  °C por 12 meses.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Analisar os dados epidemiológicos e os fatores que impactam nos agravos dos acidentes ofídicos em indígenas residentes nas aldeias sob a influência do DSEI–YANOMAMI e avaliar a termoestabilidade dos soros antiofídicos, na apresentação líquida, do Instituto Vital Brazil.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

**3.2.1** Conhecer o perfil clínico e epidemiológico dos acidentes ofídicos na população indígena Yanomami na região amazônica brasileira;

**3.2.2** Descrever a frequência, a distribuição e a sazonalidade dos acidentes ofídicos na população Yanomami, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2017;

**3.2.3** Identificar os gêneros de serpentes envolvidos com maior prevalência de acidentes ofídicos na população Yanomami;

**3.2.4** Avaliar a potência e a pureza de soros antiofídicos produzidos pelo Instituto Vital Brazil, além da termoestabilidade a  $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$  por 12 meses, após dois anos de armazenagem a uma temperatura de 2 a  $8^{\circ}\text{C}$ .

**3.2.5** Propor atitudes que possam reduzir a magnitude e o impacto desses agravos, incluindo a geração de material informativo sobre acidente ofídico específico para a população indígena.



## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. MATERIAIS**

#### **4.1.1. Boletins Epidemiológicos - DSEI Yanomami**

Para esta etapa do estudo foram utilizados dados secundários, sem identificação individual, que se encontram disponíveis nos boletins epidemiológicos do Distrito Sanitário Especial Indígena-Yanomami ( DSEI Yanomami), e que foram encaminhados para no Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN), durante o período de janeiro de 2014 a dezembro de 2017. Assim, o estudo que contou com o apoio do DSEI-Yanomami (Anexo1), não precisou ser submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa, conforme resolução 466/2012

#### **4.1.2. Animais de Laboratório**

Nos estudos de potência e pirogênio, desenvolvido no Instituto Vital Brazil sobre a avaliação da termoestabilidade dos soros antiofídicos, foram utilizados 1.900 camundongos Suíço albino (*Mus musculus*) convencionais de 17 a 22 g, e 81 coelhos brancos (*Oryctolagus cuniculus*) de 1,5 a 2,5 kg, oriundos do biotério do IVB e foi realizado com aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto Vital Brazil (protocolo número 11/2016 /Anexo 2).

#### **4.1.3. Venenos de Referência e Amostras de Soros**

Venenos de referência utilizados nos estudos foram obtidos a partir de lotes do Instituto Nacional de Controle e Qualidade (INCQS/Fiocruz/MS). Todos os procedimentos foram realizados dentro das normas técnicas e de ética no uso de animais estabelecidas (CEUA/IVB registrado sob o nº 11/2016).

Entre junho de 2016 e março de 2018 foram testadas amostras retidas de lotes comerciais, produzidos pelo Instituto Vital Brazil, ampolas de 10 ml, de quatro tipos de soros antiofídicos: (a) soro antibotrópico (SAB), dos lotes 145102D; 145103D; 145105D e 145106C; (b) soro anticrotálico (SAC), lotes 145202A; 145202D e 145201G; (c) soro antibotrópico/Crotálico (SAB/C), Lote 145401F e (d) soro antibotrópico/laquético (SAB/L) lote 145901E.

## 4.2. Métodos

### 4.2.1. Estudo epidemiológico com dados secundários

A fonte de dados foram os boletins sobre os acidentes por animais peçonhentos que foram encaminhados ao SINAN pelo Distrito Sanitário Especial Indígena–Yanomami (DSEI-Yanomami), com sede no município de Boa Vista/Roraima, durante o período de janeiro de 2014 a dezembro de 2017.

Todas as variáveis disponíveis, sem qualquer identificação individual, foram incluídas no presente estudo visando à construção de uma série temporal dos casos notificados de acidente ofídico no DSEI-Yanomami (2014 a 2017), com análise de prevalência, incidência e padrões sazonais, utilizando medidas de frequência para variáveis categóricas e de tendência central e dispersão para variáveis numéricas.

Os seguintes dados secundários foram avaliados: (i) idade (anos); (ii) sexo (masculino, feminino, ignorado);(iii) data do acidente (mês do ano/sazonalidade); (iv) município de ocorrência do acidente (Alto Alegre, Amajari, Caracaraí, Iracema, Mucajaí, São Gabriel da Cachoeira, Santa Isabel do Rio Negro e Barcelos), (v) polo base de ocorrência do acidente; (vi) tempo decorrido picada/atendimento em horas; (vii) local da picada (região anatômica da picada) como cabeça, braço, antebraço, mão, dedo da mão, tronco, coxa, perna, pé, dedo do pé e ignorado; (viii) tipo de acidente (gêneros da serpente: botrópico, laquético, crotálico, elapídico, serpente não peçonhenta, ignorado); (ix).classificação do caso (leve, moderado, grave, ignorado); (x) utilização de soro antiofídico (sim, não, ignorado); (xi)número de ampolas de soro utilizadas/ (xi) evolução do caso (cura, óbito por acidentes por animais peçonhentos, óbitos por outras causas, ignorado) e (xii) observações.

#### **4.2.2. Termoestabilidade**

As amostras foram testadas em intervalos predeterminados de 0; 24; 30 e 36 meses após fabricação, de tal forma que a partir do 24º mês todas as amostras foram mantidas a uma temperatura de  $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ , a partir de um plano de amostragem capaz de cobrir todos os parâmetros químicos, físicos e biológicos exigidos para análise do produto final de medicamento injetáveis estéreis (Sarciaux et al. 1999). As condições de armazenamento foram baseadas em zona climática IV;  $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$  (ANVISA 2019b), após dois anos em temperatura de prateleira indicada na bula,  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$  (WHO 2015, Chaloner-Larsson 1997).

As análises do estudo da termoestabilidade dos soros foram realizadas nos laboratórios da Gerência de Controle do Instituto Vital Brazil (Centro de Pesquisas, Produtos Químicos e Biológicos). Todos os procedimentos seguiram os protocolos de procedimento operacional padrão do Instituto Vital Brazil que se encontram nos Anexos 3, 4 e 5., considerando que todos os procedimentos de produção são padrão GMP/BPF (*Good Manufacturing Practices/Boas Práticas de Fabricação*) e os ensaios obrigatoriamente atenderam à legislação para produção de imunobiológicos (ANVISA 2019, WHO 2008).

##### **4.2.2.1 Teste de Potência**

Para o teste de potência das frações botrópica, crotálica e laquélica foram utilizados 50 camundongos de 18 a 22 g usando o método de dosagem “in vivo” com dose neutralizante efetiva 50% (DE 50%), que protege animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa de veneno referência, considerando a especificidade de cada soro antiofídico (Figura 4.1). Os resultados foram expressos em mg/ml para potência (Anexo 6).

#### 4.2.2.2. Teste de pirogênio

O teste pirogênio foi realizado, utilizando 81 coelhos com mais de 1.5 Kg, de acordo com o procedimento operacional sob o número DCB.C:033/BI do Instituto Vital Brazil (Figura 4.2, Anexo 7)

#### 4.2.2.3. pH e outros parâmetros físico-químicos

Os testes foram realizados de acordo com a norma da ABNT, por determinação do pH com eletrodos de vidro para soluções aquosas (ANVISA 2019, ANVISA 2019b) e para a quantificação do nitrogênio total, nitrogênio não proteico e nitrogênio proteico foi utilizado o método de Kjeldahl descrito na forma de semi-microtécnica para a determinação de nitrogênio em substâncias lábeis (ANVISA 2019).

Todos os procedimentos de produção são padrão GMP/BPF (*Good Manufacturing Practices/Boas Práticas de Fabricação*) e os ensaios atenderam a legislação para produção de imunobiológicos (ANVISA 2019, WHO 2008).



Figura 4.1. Fotos das instalações do IVB onde se realizou as análises de potência dos soros, mostrando a estante ventilada e o momento de pesagem dos animais.



Figura 4.2. Imagens dos laboratórios onde os testes de pirogênio foram realizados em coelhos, no Instituto Vital Brazil.

Outros parâmetros considerados susceptíveis às alterações durante o armazenamento a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$  e que poderiam influenciar na qualidade, segurança e eficácia dos soros também foram avaliados como fenol; proteína; nitrogênio total; nitrogênio proteico; nitrogênio não proteico, cujos resultados foram expressos em grama por cento (g%). Os critérios de aceitação foram fixados seguindo especificações farmacopeicas e recomendações do ICH e OMS (ANVISA 2019, WHO 2015).

### 4.3. Estatística

Para a análise estatística das amostras de nove lotes de soros antiofídicos (SAB; SAC; SAB/C; SAB/L) que foram incluídos no estudo da potência foi utilizado o Método Probit, uma análise de regressão em ensaios de dose-resposta, em que a susceptibilidade de cada indivíduo é considerada como uma variável aleatória com distribuição normal.

A avaliação da termoestabilidade dos soros foi realizada por meio das análises de potência neutralizantes de venenos de referências em amostras dos lotes de soros antiofídicos (IVB), utilizando testes de comparação de médias não-paramétricas, nos tempos zero, 24, 30 e 36 meses. Nos tempos Zero a 24 meses (2 anos) amostras foram armazenadas em temperatura de  $5,0 \pm 3,0^\circ\text{C}$  e de 24,30 e 36 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ .

Por fim, visando descrever o perfil dos soros, informações sobre o pH; fenol; proteína total; nitrogênio total; proteico e não proteico; aspecto e pirogênio foram transferidas para planilha Excel, onde foram tabuladas e analisadas quanto às medidas de

frequência para variáveis categóricas e medidas de tendência central e dispersão para variáveis numéricas. Medidas estatísticas por variáveis como médias aritméticas e desvio padrão também foram utilizadas. O teste de hipóteses foi baseado no coeficiente de determinação R<sup>2</sup>.

Todas as variáveis disponíveis descritas de dados secundários, sem qualquer identificação individual, foram incluídas no presente estudo visando à construção de uma série dos casos notificados de acidente ofídico no DSEI-Yanomami (2014 a 2017), com análise de prevalência, incidência e padrões sazonais, utilizando medidas de frequência para variáveis categóricas e de tendência central e dispersão para variáveis numéricas.

Foram realizadas avaliação dos seguintes dados: sexo do paciente, idade do paciente, aldeia, polo base de ocorrência, mês do acidente, gênero da serpente, tempo entre acidente e atendimento, gravidade, local da picada, soroterapia utilizada e evolução do caso. Teste de qui-quadrado ou teste de Fisher foram utilizados nos cruzamentos com variáveis categóricas e o teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para testar a relação da gravidade com variáveis numéricas.

Adicionalmente mapas foram confeccionados visando à espacialização das notificações em ambiente SIG (Sistema de Informações Geográficas – software QGIS), por polo base, com a identificação de fatores determinantes dos padrões gerados.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Dados Secundários - DSEI Yanomami

De 1º de janeiro de 2014 a 31 de dezembro de 2017 foram notificados 827 casos de acidentes por animais peçonhentos e, destes, 687 casos foram causados por serpentes, com uma média anual de 171,75 acidentes ofídicos. Em relação à sazonalidade, se observa na Figura 5.1 que a distribuição dos acidentes ocorreu ao longo de todos os meses do ano, com aumento de acidentes no período de março a setembro, com 67% em 2014; 65% em 2015; 78% em 2016 e 63% em 2017. O mês de julho de 2015 foi o mês com maior ocorrência, 3,72% de todos os acidentes por serpentes peçonhentas, seguido pelo mês de maio de 2015. (figura 5.1)

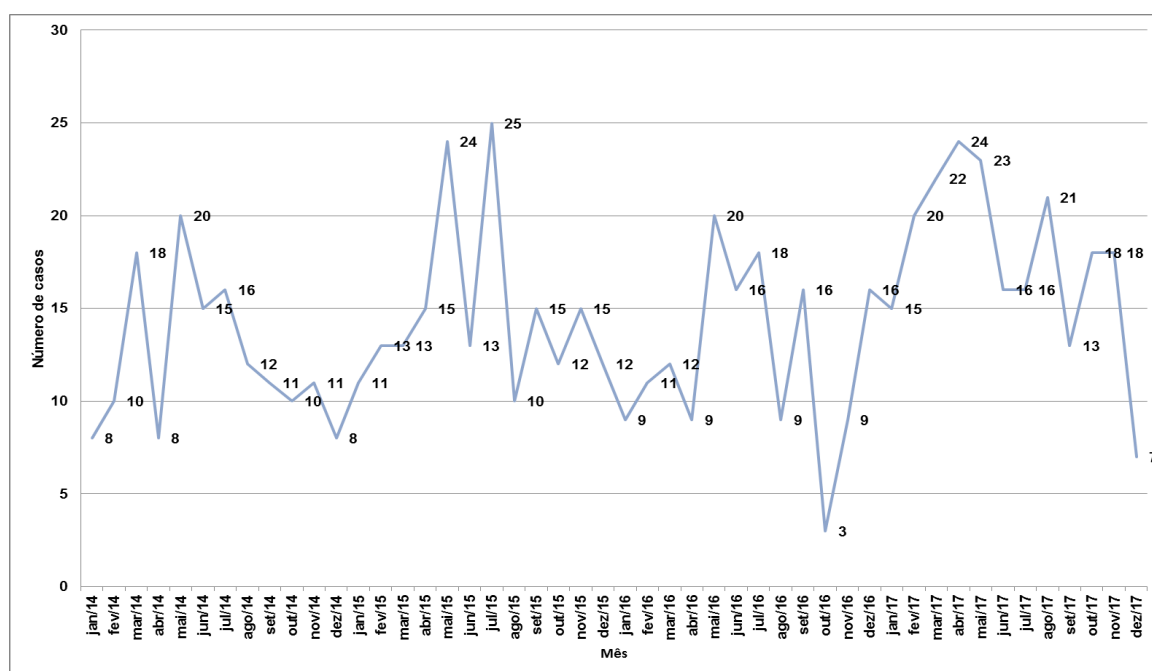


Figura 5.1 Distribuição dos acidentes por serpentes peçonhentas no DSEI Yanomami por mês de ocorrência no período de 2014 a 2017.

O número de casos de acidentes ofídicos registrados no ano de 2014 foi 147 acidentes (21,43%), com incidência acumulada de 585,4 casos por cem mil habitantes e sem ocorrência de óbito, enquanto que em 2015 foram registrados 178 acidentes (25,95%)

com dois óbitos, indicando uma incidência de 708,8 casos por cem mil habitantes e uma taxa de letalidade de 1,12%. No seguinte, em 2016, ocorreram 148 acidentes com três óbitos, atingindo a incidência de 589,39 casos por cem mil e letalidade de 2,02%. Já em 2017 foram registrados 213 casos (31,05%) com uma incidência de 848,2 casos por cem mil habitantes e taxa de letalidade de 0,46%. Dos seis óbitos notificados nos 48 meses de estudo, cinco (83,3%) ocorreram no período de agosto de 2015 a agosto de 2016, enquanto em 2017, apesar do maior número de casos, foi registrado apenas um óbito (Figura 5.2).

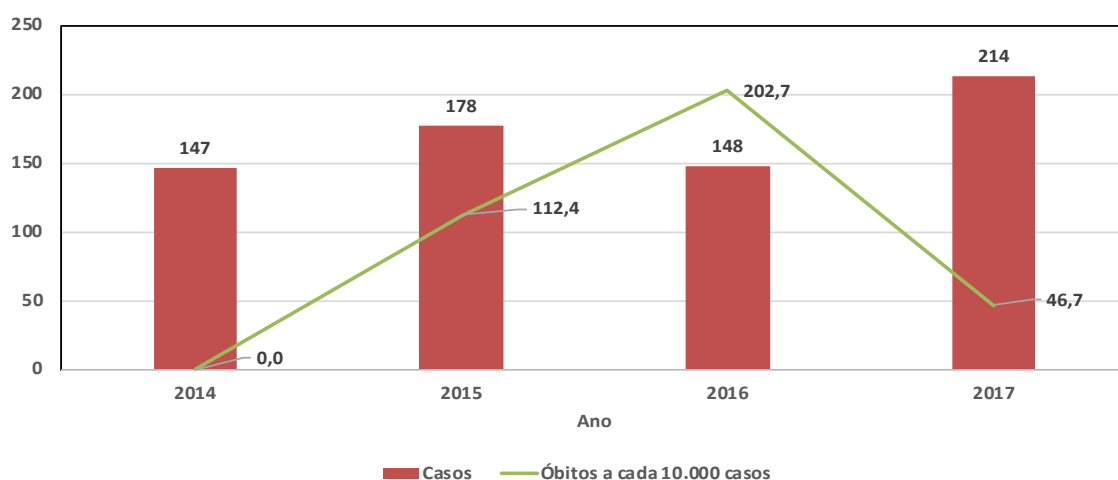


Figura 5.2 Distribuição dos casos de Acidentes por serpentes peçonhentas e óbitos no DSEI Yanomami, por ano, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2017.

Quanto ao número de casos de acidentes por serpentes peçonhentas na população indígena do DSEI-Y, por faixa etária e sexo, pode ser observado na Figura 3.3 que o sexo com maior número de acidentes foi o masculino, 449 casos, com uma média anual de 112,25 casos, representando 65,4% de todos os acidentes por serpentes peçonhentas ocorridos no período avaliado. Um total de 237 acidentes foi notificado no sexo feminino, com uma média anual de 59,25 casos, representando 34,5% de todos os casos. O maior número de acidentes foi observado na faixa etária de 06 a 30 anos (63,03%) com maior percentagem em indígenas de 11 a 15 anos (17,6%) de ambos os sexos, com média anual de 171,75 casos notificados. Os indivíduos menos acometidos pertenciam a faixa etária de 56 a 60 anos, com 3,5% do total de casos.



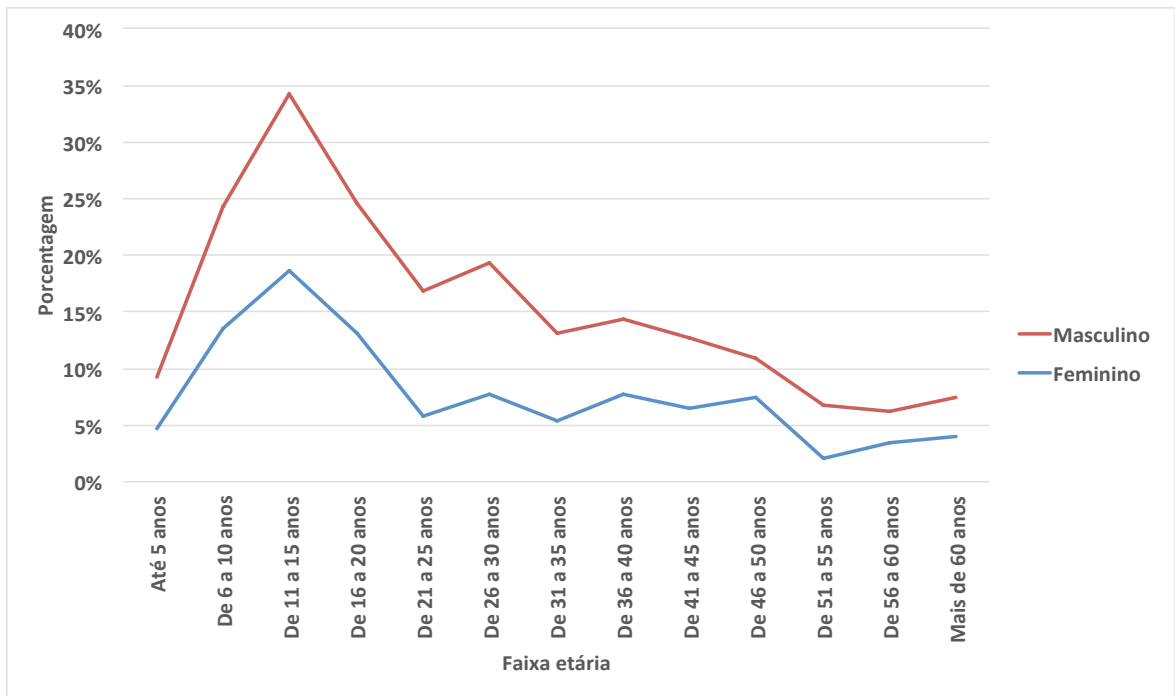


Figura 5.3 Distribuição dos acidentes por serpentes peçonhentas no DSEI Yanomami por faixa etária e sexo no período de 2014 a 2017.

Em relação aos municípios de ocorrência que fazem parte do DSEI Yanomami (Figura 5.4), 523 (76%) dos acidentes ofídicos ocorreram nos municípios do estado de Roraima (RR) e 165 (24%) no estado do Amazonas (AM), são estes: (Alto Alegre (RR) que abriga doze polos base (32,4%); Barcelos (AM) dez (27%); Amajari(RR) três (8,1%); (Iracema(RR) três (8,1%); Santa Izabel do Rio Negro (AM) três (8,1%); Caracarái (RR) três (8,1%); Mucajaí(RR) dois (5,4%) e São Gabriel da Cachoeira (AM) um (2,7%).

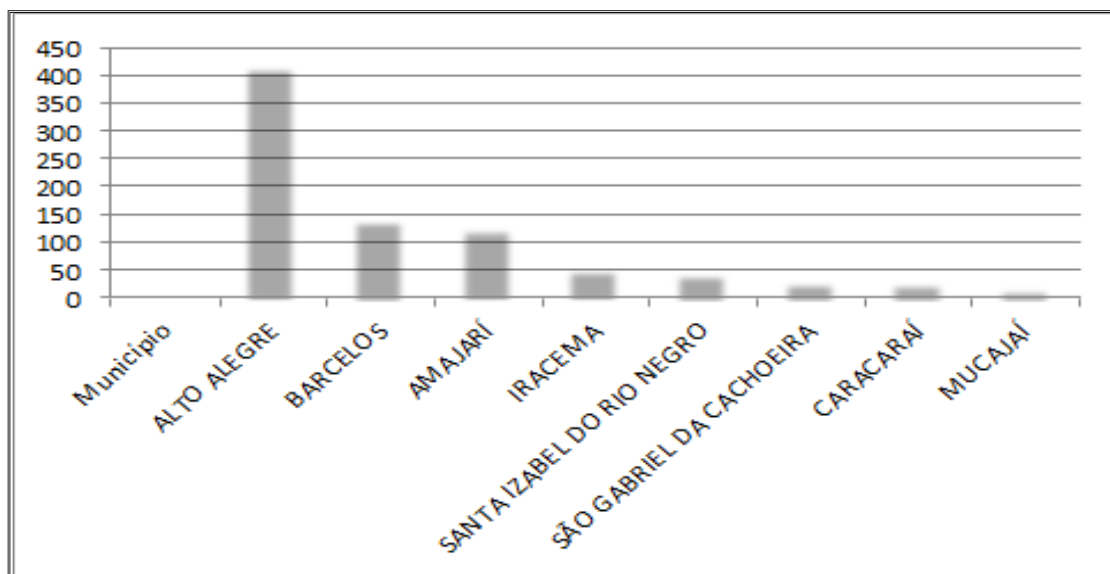


Figura 5.4 Distribuição dos acidentes por serpentes peçonhentas notificados nos municípios que fazem parte do DSEI Yanomami e que apresentaram maior número de casos durante o período de 2014 a 2017.

Quanto aos polos, dos 687 casos ocorridos nos 35 dos 37 polos base do DSEI Yanomami, Surucucu foi o polo com maior número de acidentes ofídicos notificados, com 93 (13,5 %) do total de casos confirmados: 14 casos em 2014, 26, em 2015, 23, em 2016 e 30 acidentes ofídicos em 2017 (Anexos 7 e 8). O polo base Surucucu fica no município de Alto Alegre assim como os polos base de Hakoma, Haxiu, Parafuri e Waputha, cuja ocorrência de acidentes ofídicos foi também elevada (Figuras 3.5, 3.6 e 3.7). Assim, em Alto Alegre, com 12 polos base, um município que tem uma população de 8.181 indígenas Yanomami (35,81%), foram notificados 370 de um total de 687 (53,9%) casos de acidentes ofídicos durante o período de 2014 a 2017. A incidência observada foi de 01 acidente ofídico/93 Indígenas; seguido de Mucajaí com 1/105; Iracema com 1/117; Barcelos com 1/137; Amajarí 1/185; Caracarái 1/212; Santa Isabel do Rio Negro 1/405 e São Gabriel da Cachoeira 1/497.

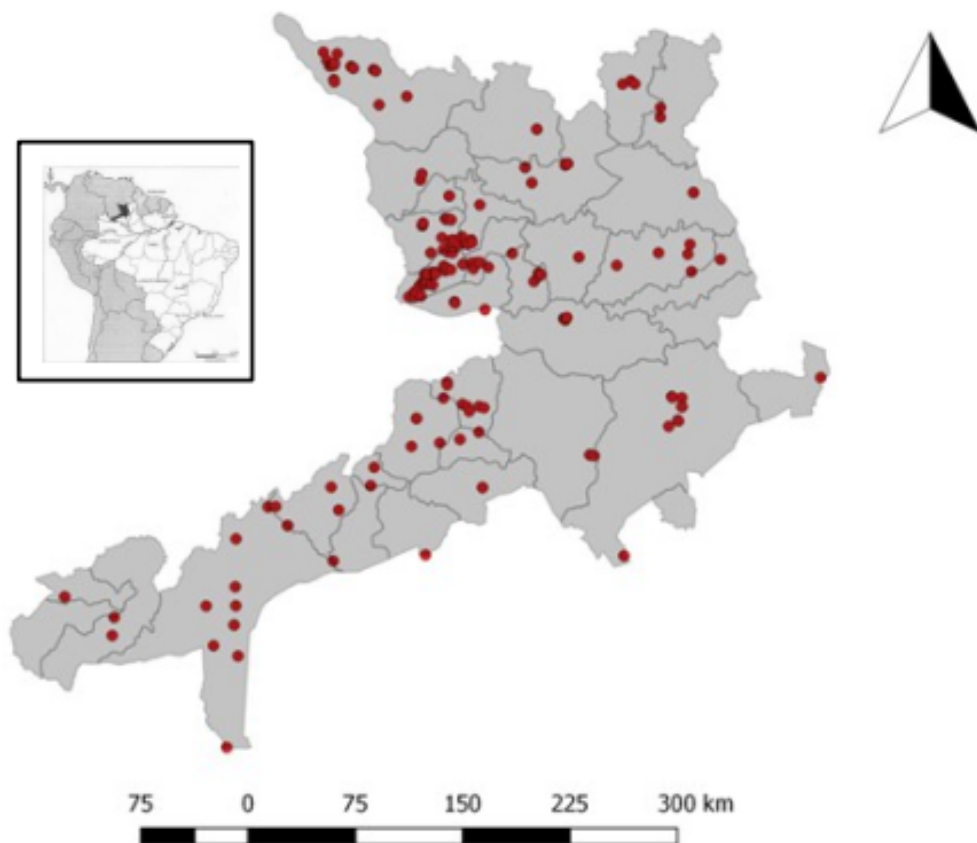


Figura 5.5 Distribuição dos casos de acidentes ofídicos notificados no DSEI Yanomami durante o período de 2014 a 2017. Nota-se uma maior concentração de casos na área do município de Alto Alegre.

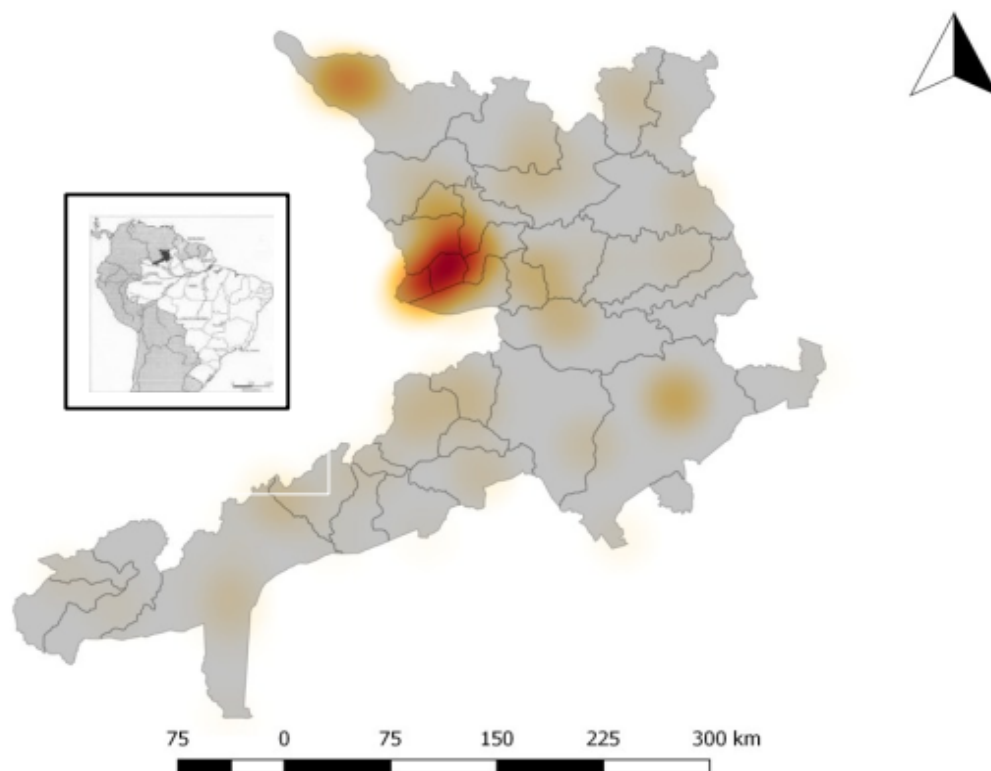


Figura 5.6 Distribuição dos casos de acidentes ofídicos no DSEI Yanomami, a partir da análise de Kernel mostrando o “hot-spot” no município de Alto Alegre, durante o período de 2014 a 2017.

Dos 687 casos de acidentes ofídicos notificados no DSEI Yanomami, o gênero *Bothrops* foi o responsável pela quase totalidade dos registros, com 636 casos (92,7%) durante o período de janeiro de 2014 a dezembro de 2017 (Figura 5.7). Acidentes com serpentes não peçonhentas foram identificados em 18 casos, representando 2,6%, seguidos pelos acidentes com os gêneros *Micrurus* com 07 casos (1%); *Crotalus* com 06 casos (0,9%) e *Lachesis* com 05 casos (0,7%), além de 15 casos classificados como ignorado (2,2 %).

Quanto ao local da picada da serpente, 58,8% dos indígenas tiveram o acidente no pé, percentual que se eleva para 87,2%, com a inclusão do “pé”, “perna” e “dedo do pé”, caracterizando o local da picada no membro inferior, como demonstrado na Tabela 5.1. A Tabela 5.2 apresenta a classificação de gravidade do acidente ofídico, com 359 (55,2%) casos considerados leves, 179 (26,6%) moderados e 99 (14,7%) como graves.

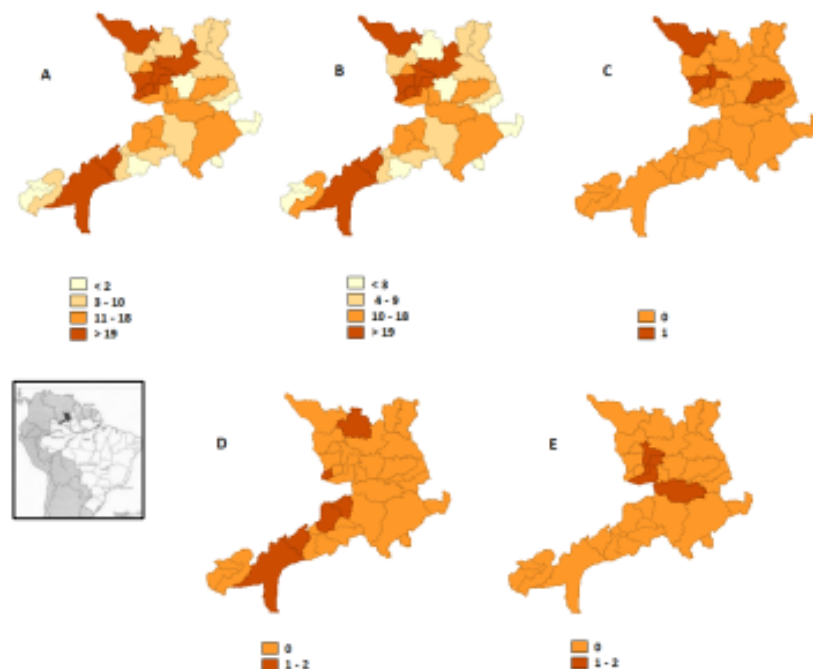


Figura 5.7 Acidentes ofídicos notificados no DSEI Yanomami segundo tipo de acidente por serpente e localização durante o período de 2014 a 2017. No painel **A)** Número total de acidentes pelos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*; **B)** acidentes por *Bothrops*; **C)** acidentes por *Crotalus*; **D)** acidentes por *Micrurus*; **E)** acidentes por *Lachesis*.

O atendimento médico dos acidentados do DSEI Yaomami foi realizado em menos de 6 horas em 62,2% dos casos, com 46,3% atendidos até 3 horas (Tabela 5.2). Em 12,9% dos acidentados o atendimento ocorreu com 24 h ou mais. A soroterapia específica foi administrada a 643 (93,6%) dos 687 acidentes ofídicos registrados; 644 obtiveram a cura (93,7%) e seis evoluíram para o óbito (0,9%). Embora o maior número de casos de acidente ofídico tenha ocorrido em 2017, a taxa de letalidade mais elevada, 2,4% (3 casos), foi observada em 2016, contra uma taxa de letalidade média de 1%.

Tabela 5.1 Distribuição dos acidentes ofídicos notificados DSEI Yanomami, segundo o local da picada, no período de 2014 a 2017.

Local da picada	Número de acidentados	Porcentagem
Pé	404	58,8
Perna	120	17,5
Dedo do pé	75	10,9
Dedo da mão	19	2,8
Mão	24	3,5
Coxa	10	1,5
Tronco	8	1,2
Cabeça	5	0,7
Braço	5	0,7
Ante-braço	5	0,7
Nádega	2	0,3
Tronco e pé	1	0,1
Tronco/glúteo	1	0,1
Sem informação	8	1,2

Tabela 5.2 Distribuição dos acidentes por serpentes do DSEI Yanomami, por sexo, gravidade, tempo de atendimento e evolução (2014-2017).

Características dos acidentados	Picada por serpente (n=687)	
	n	%
<b>Ano da notificação</b>		
2014	147	21,4
2015	178	25,9
2016	148	21,5
2017	214	31,1
<b>Gênero</b>		
Serpente peçonhenta	654	95,2
Bothrops	636	92,7
Crotalus	6	0,9
Micrurus	7	1,0
Lachesis	5	0,7
Serpente não peçonhenta	18	2,6
Ignorado	15	2,2
<b>Tempo até o atendimento</b>		
0-1h	172	25,0
1-3h	146	21,3
0-3h	318	46,3
3-6h	109	15,9
0-6h	427	62,2
6-12h	82	11,9
12-24h	89	13,0
24h+	62	9,0
Ignorado	27	3,9
<b>Gravidade</b>		
Leve	379	55,2
Moderado	183	26,6
Grave	101	14,7
Ignorado	24	3,5
<b>Evolução</b>		
Cura	644	93,7
Óbito	6	0,9
Cura com seqüela	0	0,0
Ignorado	37	5,4
<b>Sexo</b>		
Masculino	449	65,4
Feminino	237	34,5
Não informado	1	0,1

A maioria dos acidentes por serpentes peçonhentas no DSEI Yanomami evoluiu para cura (tabela 5.3), com cinco casos fatais que foram por acidente botrópico e um por acidente elapídico. Dois outros óbitos notificados não foram relacionados ao acidente ofídico em si, mas a outra etiologia. Há que se registrar que cinco (83,3%) dos seis casos fatais ocorreram entre os meses de agosto de 2015 a agosto de 2016.

A Figura 5.8 demonstra que acidentes ofídicos classificados como graves ocorreram mais frequentemente com o gênero *Micrurus*, com seis dos sete casos notificados na população indígena do DSEI Yanomami, entre 2014 e 2017. Os casos leves predominaram com 379 registros (55,2%), seguidos de 183 moderados (26,6%) e 101 graves (14,7%). Observou-se ainda, que 15 (2,2%) das notificações não foram preenchidas corretamente quanto ao gênero da serpente peçonhenta envolvida nos acidentes, sendo, portanto, classificadas como ignorado/branco.

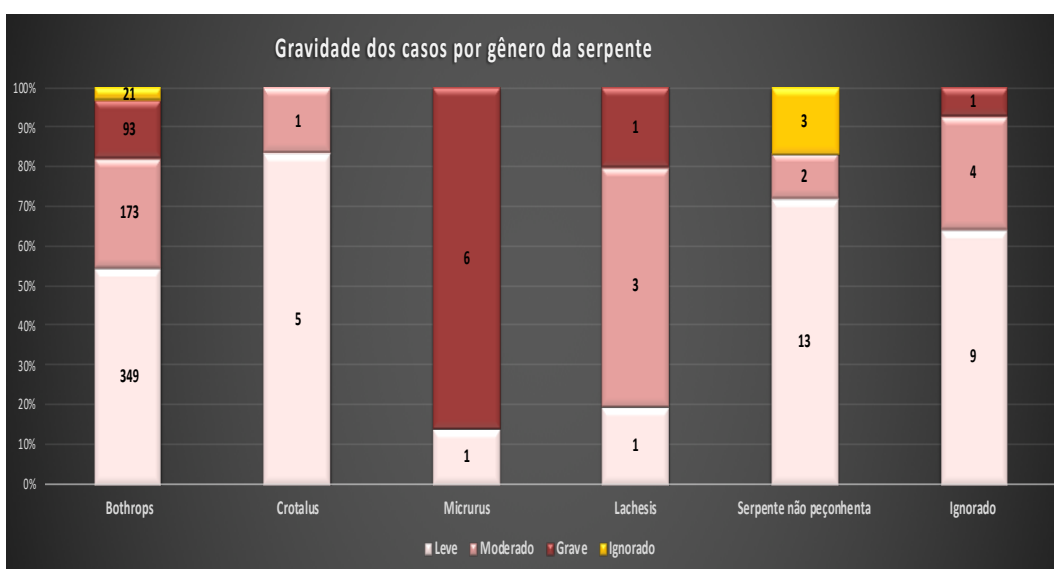


Figura 5.8. Gravidade dos casos de acidentes ofídicos no DSEI Yanomami por gênero de serpente durante o período de janeiro de 2014 a dezembro de 2017.

Os soros antiofídicos foram utilizados em 643 (93,6%) dos 687 indígenas acidentados do DSEI Yanomami, como demonstrado na Tabela 5.5. O soro antibotrópico foi administrado em 472 casos, com uma média de 5,3 ampolas por pessoa, enquanto o soro antibotrópico/laquétrico foi utilizado em 100 casos, com média de 5,3 ampolas por tratamento. O soro antibotrópico/crotálico em 62 casos com média de 4,7 ampolas. O soro anticrotálico administrado em 04 paciente com média de 3,3 ampolas e o soro antielapídico foi administrado em cinco pacientes, com uma média de 10 ampolas por tratamento.

Tabela 5.3 Soroterapia em acidentados por serpentes peçonhentas do DSEI Yanomami, durante o período de 2014 a 2017

Soroterapia	Número de acidentados tratados	%
Antibotrópico (SAB)	472	68,7
Média (DP) – 5,3 ampolas por pessoa (2,9)		
Antibotrópico-laquéutico (SABL)	100	14,6
Média (DP) – 5,3 ampolas por pessoa (2,9)		
Antibotrópico-Crotálico (SABC)	62	9,0
Média (DP) – 4,7 ampolas por pessoa (2,6)		
Anticrotálico (SAC)	4	0,6
Média (DP) – 3,3 ampolas por pessoa (1,5)		
Antielaídico (SAE)	5	0,7
Média (DP) – 10,0 ampolas por pessoa (0,0)		

DP- Desvio padrão

Ainda dentro deste estudo etnopolacional qualitativo e em atendimento ao objetivo específico 3.2.5, foi elaborado um material informativo sem texto, eliminando a barreira da língua, à população indígena sobre os procedimentos que não devem ser realizados em um paciente que tenha sido picado por uma serpente peçonhenta

## 5.2. Termoestabilidade

### 5.2.1. Teste e Potência

Na Figura 5.9 é apresentada a avaliação da potência dos quatro lotes de soro monovalente antibotrópico, considerando os tempos 0, 24, 30 e 36 meses. De acordo com a Tabela 5.4 é possível observar que os valores da potência (mg/ml), à temperatura de  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ , nos tempos 24, 30 e 36 meses, estavam acima do mínimo de 5,0 mg/ml (Sarciaux 1999). Nos tempos Zero a 24 meses as amostras dos soros foram armazenadas em temperatura de  $5,0 \pm 3,0^\circ\text{C}$ .



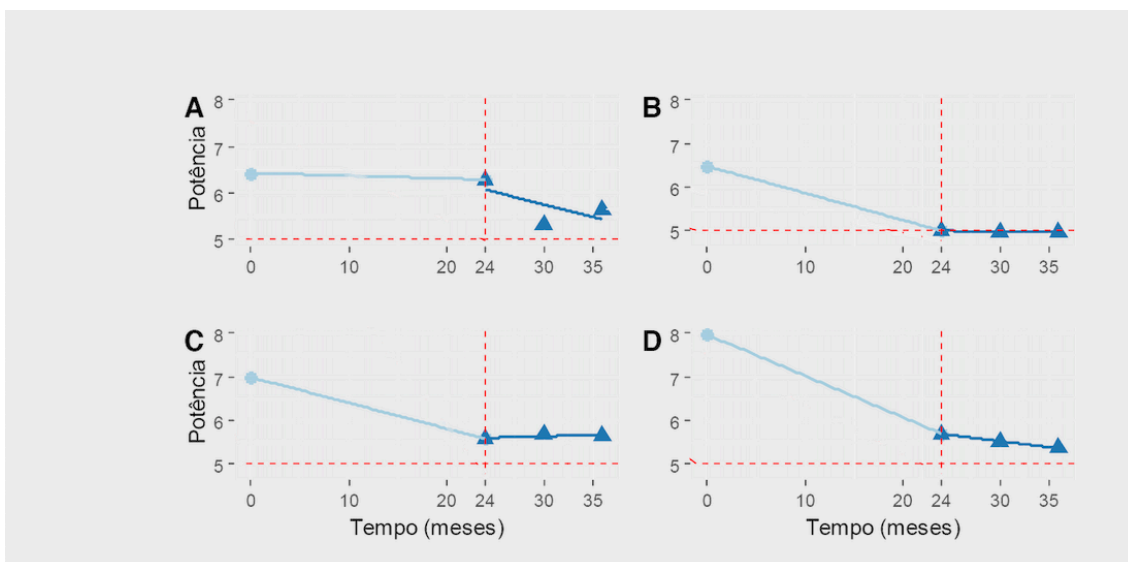


Figura 5.9. Avaliação da potência dos quatro lotes do soro antiofídico, nos tempos 0, 24, 30 e 36 meses, (A) SAB145102D, (B) SAB145103D, (C) SAB145105D, (D) SAB145196C. Nos tempos 24; 30 e 36 meses foram mantidos a  $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$  e nos tempos Zero a 24 meses em temperatura de  $5,0\pm 3,0^{\circ}\text{C}$ .

Podemos observar que há uma queda de potência entre os tempos zero e 24 meses (período de 2 anos) quando as amostras foram armazenadas em temperatura de  $5,0\pm 3,0^{\circ}\text{C}$ , ou seja, em geladeira. Fato explicado pelas variações em testes biológicos, onde as variáveis “veneno” e “animais de laboratório” podem interferir nos resultados em, até, 50 %.

Tabela 5.4 Análise da potência da fração botrópica dos soros monovalentes.

TEMPO (MESES)	LOTES DOS SOROS			
	Lote A	Lote B	Lote C	Lote D
	SAB 145102 D	SAB 145103 D	SAB 145105 D	SAB 145106 C
24	6,29	5,00	5,58	5,70
30	5,32	4,98	5,68	5,51
36	5,65	4,96	5,65	5,37
Média	5,75	4,98	5,64	5,53
DP	0,49	0,02	0,05	0,17
CV%	8,57	0,40	0,91	3,00

Avaliação da potência (mg/ml) a temperatura de  $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ . DP(desvio padrão) CV(coeficiente de variação), SAB – soro antiofídico.

Os resultados da avaliação da potência dos três lotes do soro monovalente antiofídico se encontram apresentados na Figura 5.10, onde é possível verificar que a variação da fração crotálica ficou entre 1,43 e 2,79 mg/ml (Tabela 5.5; Figura 5.10).

Tabela 5.5. Análise da potência dos três lotes do soro monovalente anticrotálico.

TEMPO (MESES)	LOTES DOS SOROS		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3
	SAC 145202 A	SAC 145202 D	SAC 155201 G
24	2,02	2,79	1,78
30	1,43	1,43	2,38
36	1,52	1,68	2,11
Média	1,66	1,97	2,09
DP	0,32	0,72	0,30
CV%	19,19	36,81	14,38

Potência (mg/ml) do soro monovalente crotálico, nos tempos 24; 30 e 36 meses a  $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ . DP(desvio padrão) CV(coeficiente de variação) SAC- soro anticrotálico.

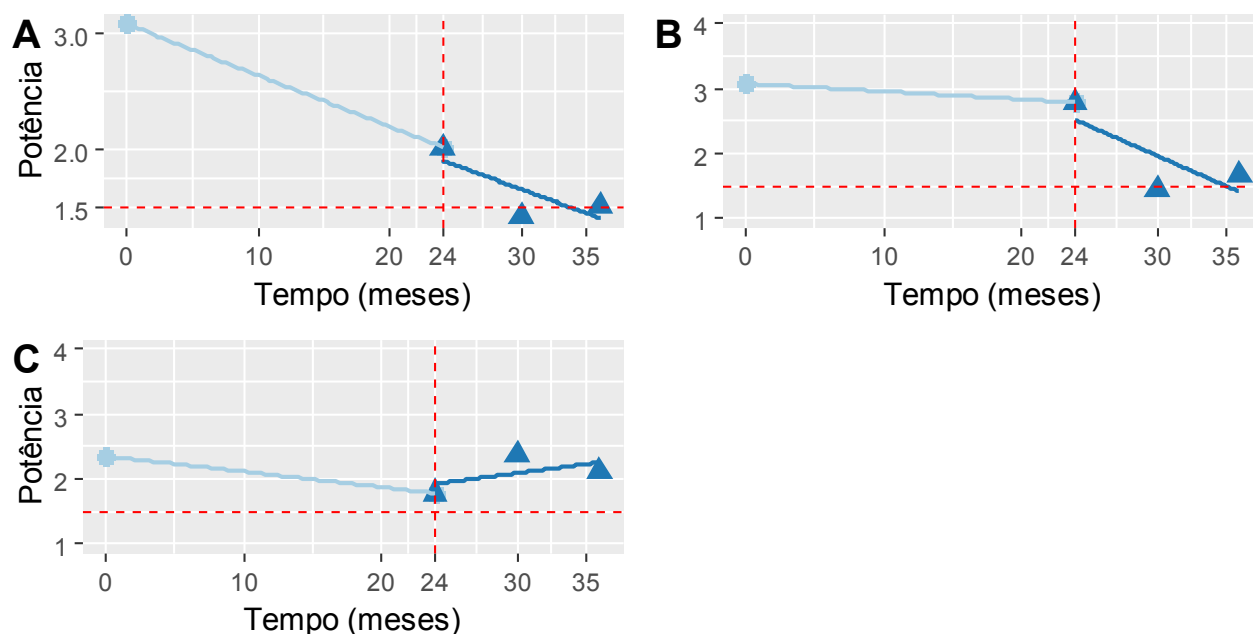


Figura 5.10 Avaliação da potência dos três lotes do soro anticrotálico, nos tempos zero, 24, 30 e 36. (A) SAC145202A, (B)145202D, (C)SAC145201G. Nos tempos 24; 30 e 36 meses foram mantidos a  $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$  e nos tempos Zero a 24 meses em temperatura de  $5,0\pm 3,0^{\circ}\text{C}$ .

Quanto ao soro duplo antibotrópico/anticrotálico, foi possível verificar que o lote analisado SAB/C 145401F apresentou uma variação de 4,35 a 6,14 mg/ml na fração

botrópica e uma variação de 1,40 e 2,56 mg/ml da fração crotálica, nos tempos zero, 24 meses, 30 meses e 36 meses. Embora 4,35 mg/ml, no tempo de 30 e 36 meses, esteja abaixo do critério de aceitação de 5,0 mg/ml para a fração botrópica, o valor se encontra muito próximo ao determinado pela ANVISA (2019).

Tabela 5.6. Análise da potência da fração botrópica, dos dois soros duplos antibotrópico/anticrotálico (SAB/C) e antibotrópico/laquétrico.

TEMPO (MESES)	Lote 1	Lote 2
	SAB/C 145401 F	SAB/L 145901 E
24	5,50	9,62
30	4,35	8,28
36	4,35	8,93
Média	4,73	8,94
DP	0,66	0,67
CV%	14,03	7,49

Potência (mg/ml) dos soros duplos antibotrópico/anticrotálico e antibotrópico/laquétrico, nos tempos 24; 30 e 36 meses foram mantidos a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ . DP (Desvio Padrão) CV (Coeficiente de variação).

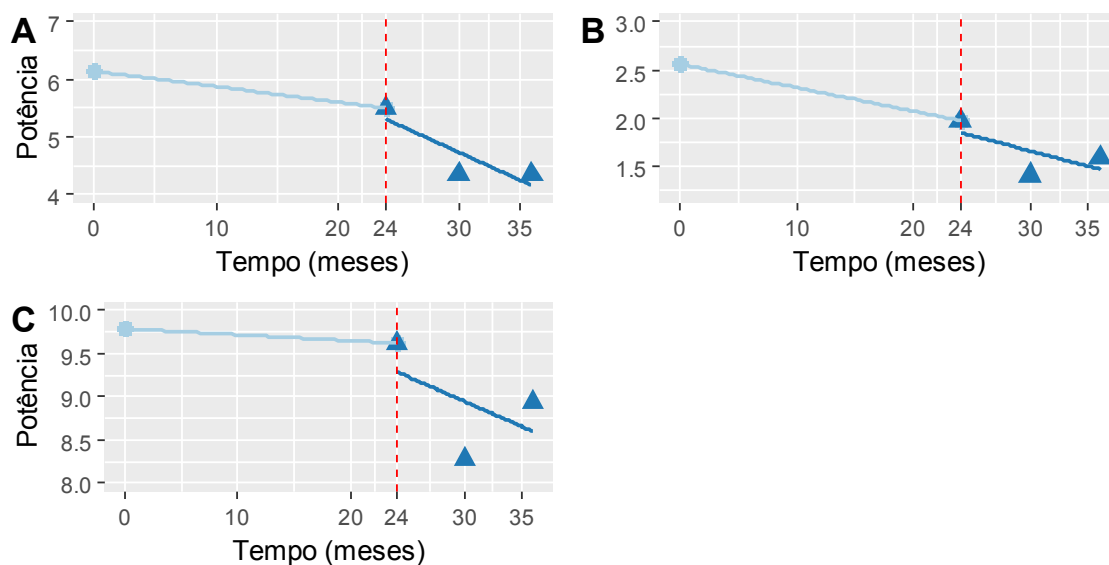


Figura 5.11. Avaliação da potência do soro Antibotrópico/Anticrotálico do lote SAB/C 145401F: (A) Fração botrópica e (B) Fração crotálica. (C) Fração botrópica do soro antibotrópico/antilaquétrico, lote SAB/L 145901E. Nos tempos 24; 30 e 36 meses foram mantidos a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$  e nos tempos Zero a 24 meses em temperatura de  $5,0 \pm 3,0^\circ\text{C}$ .

## 5.2.2 Parâmetros Químicos e Físico-Químicos

Quanto aos parâmetros químicos e físico-químicos, os resultados obtidos com a análise dos quatro lotes do soro antibotrópico, apresentados na Figura 5.12, também ficaram dentro dos limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (ANVISA 2019).

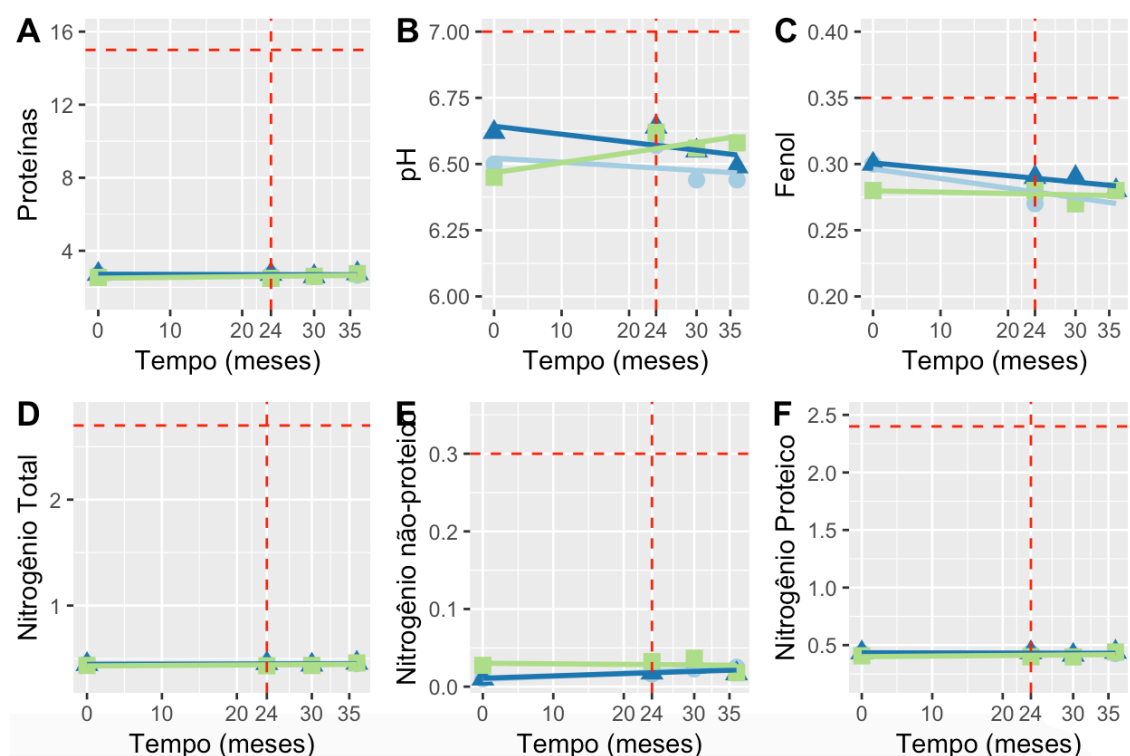


Figura 5.12 Avaliação dos fatores físico-químicos dos três lotes do soro antibotrópico (linha azul SAB145103D; linha verde SAB155102D e linha azul clara SAB155105D) testados nos tempos zero, 24, 30 e 36 meses. A linha pontilhada no eixo y representa o limite superior aceitável. Nos tempos 24; 30 e 36 meses foram mantidos a  $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$  e nos tempos Zero a 24 meses em temperatura de  $5,0\pm 3,0^{\circ}\text{C}$ .

### 5.2.2.1. Determinação de pH

Podemos observar nas figuras 5.12 item B e 5.13 que todos os resultados ficaram entre 6 e 7 (6,75 e 6,45) limites inferior e superior.

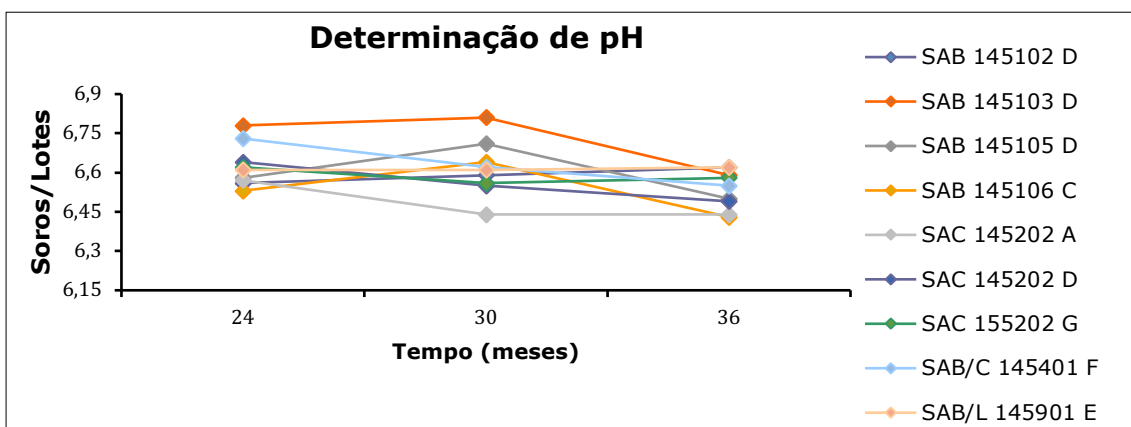


Figura 5.13. Avaliação do pH nos lotes dos soros antitoxinogênico (SAB), antitoxinogênico (SAC), antitoxinogênico/antitoxinogênico (SAB/C) e antitoxinogênico/antitoxinogênico (SAB/L) que foram testados nos tempos 24, 30 e 36 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ .

### 5.2.2.2. Proteína

Os soros monovalentes apresentam concentração de proteínas menor que os soros duplos, devido ao próprio processo de fabricação que exige a mistura de dois soros em uma única ampola. A análise de proteína dos soros monovalentes (SAB e SAC) assim como os soros duplos (SAB/C e SAB/L) apresentaram resultados abaixo dos 15 g% estabelecido como limite superior (ANVISA 2019), variando de 1,95 a 5,28 g%, nos tempos 24, 30 e 36 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ . (Figuras 5.14 e 5.15).

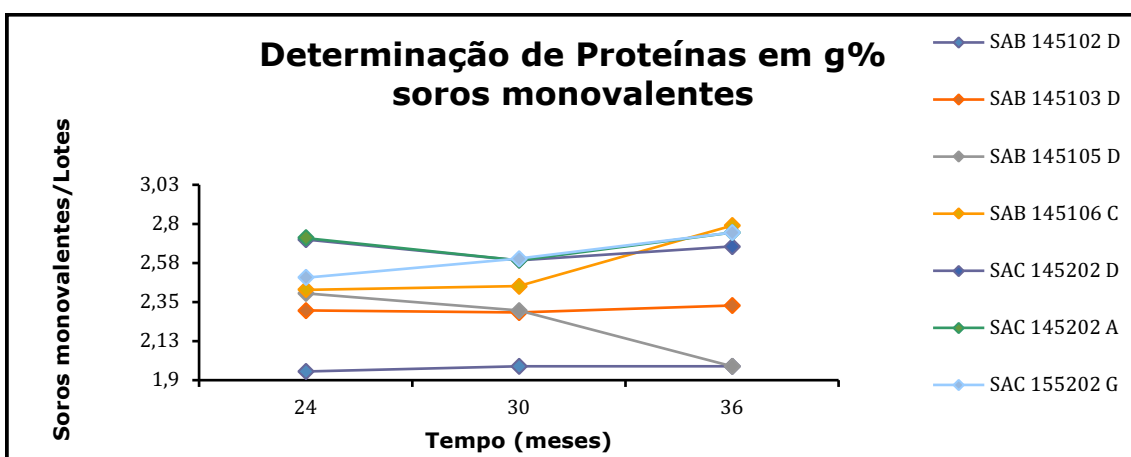


Figura 5.14 Determinação de proteína em g% do soro monovalente antitoxinogênico (SAB) e do soro antitoxinogênico (SAC), nos tempos 24, 30 e 36 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ .

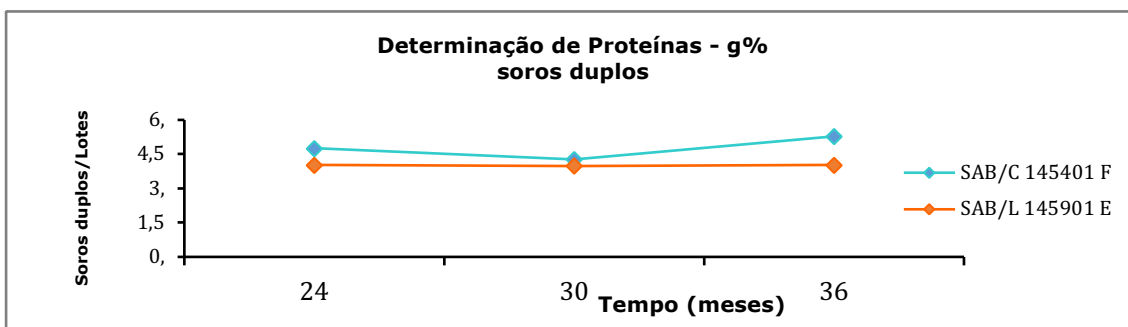


Figura 5.15 Determinação de proteína em g% dos soros duplos antiofídicos – soro antibotrópico/anticrotálico (SAB/C) e soro antibotrópico/antilaquéutico (SAB/L), nos tempos 24, 30 e 36 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ .

### 5.2.2.3. Nitrogênio Total

Nos resultados obtidos com a análise do Nitrogênio total os resultados variaram entre 0,329 a 0,4567 g% para os soros monovalentes e entre 0,6751 a 0,9073 g % para soros duplos (Figuras 5.16 e 5.17).

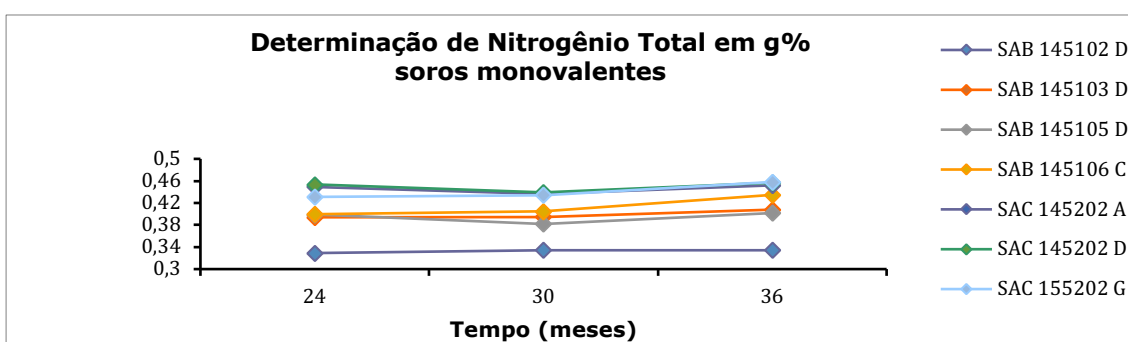


Figura 5.16. Determinação de Nitrogênio total em g% dos soros antiofídicos monovalentes nos tempos 24, 30 e 36 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ . SAB- soro antibotrópico; SAC- soro anticrotálico; SAB/C – soro antibotrópico/anticrotálico e SAB/L- soro antibotrópico/antilaquéutico.

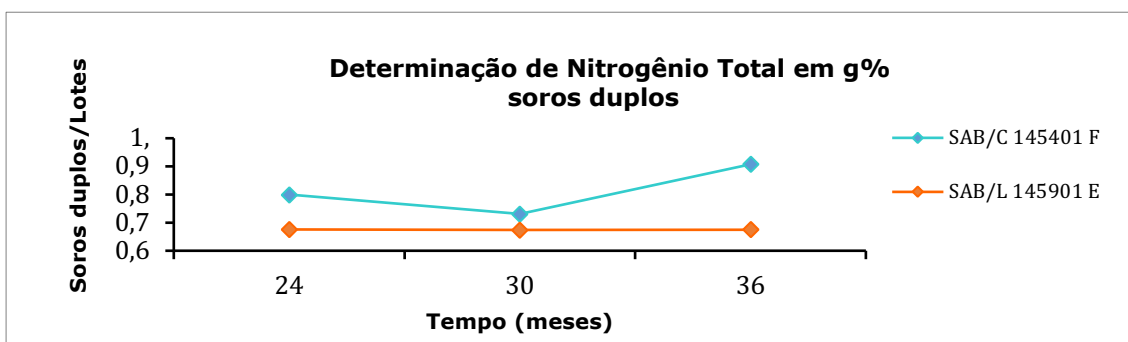


Figura 5.17 Determinação de Nitrogênio total em g% dos soros antiofídicos duplos nos tempos 24, 30 e 36 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ . SAB/C – soro antibotrópico/anticrotático e SAB/L- soro antibotrópico/antilaquético.

#### 5.2.2.4. Nitrogênio não proteico

Os resultados para os ensaios de Nitrogênio não proteico, tanto para soros monovalentes quanto os duplos, apresentaram resultados inferiores ao critério de aceitação estabelecido, cujo máximo é de 0,30 g% (ANVISA 2019), variando entre 0,0123 a 0,0366 g% para soros monovalentes e de 0,0245 a 0,0619 g%. (Figuras 5.18 e 5.19). Há um resultado referente ao lote SAB 145105D de 0,0842 g% .

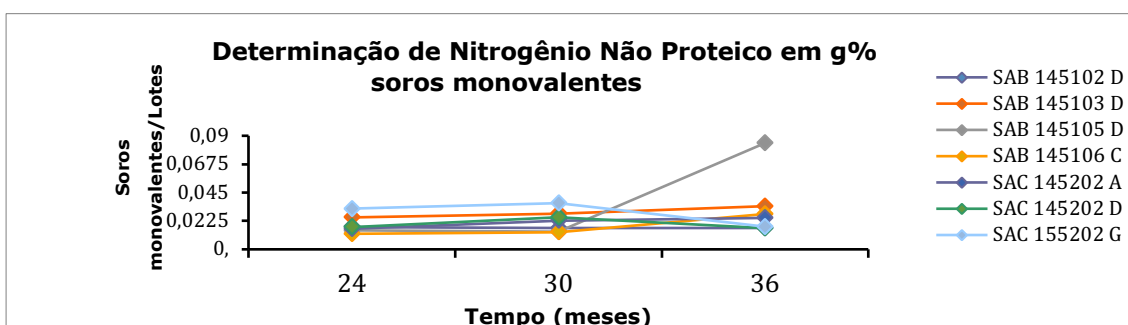


Figura 5.18 Determinação de Nitrogênio não proteico em g% dos soros antiofídicos monovalentes nos tempos 24, 30 e 36 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ . SAB- soro antibotrópico; SAC- soro anticrotático. Podemos observar que o lote SAB 155105D apresentou um resultado muito elevado (fora da curva) e que foi atribuído a erro na análise.

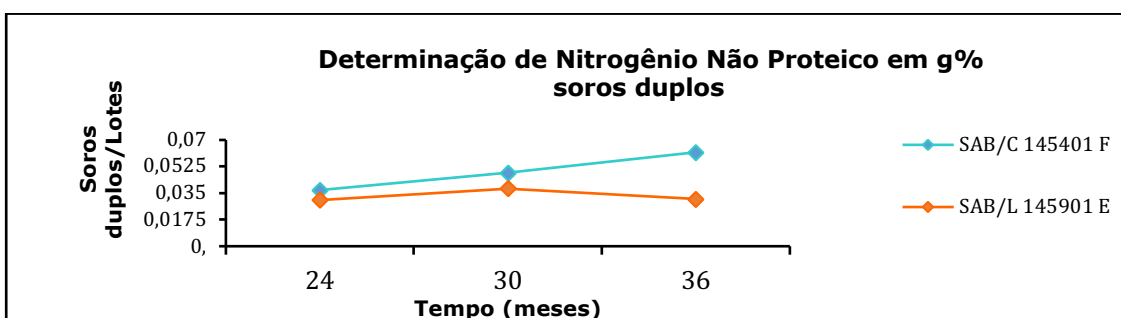


Figura 5.19 Determinação de Nitrogênio não proteico em g% dos soros antiofídicos duplos nos tempos 24, 30 e 36 meses a 30,0±2,0°C. SAB/C – soro antibotrópico/anticrotálico e SAB/L- soro antibotrópico/antilaquético.

### 5.2.2.5. Nitrogênio proteico

Para resultados de Nitrogênio proteico, a Farmacopeia Brasileira define que os resultado das análises devem ser obtidos a partir da subtração entre o resultado na análise do Nitrogênio total e do Nitrogênio não protéico (Figuras 5.20 e 5.21).

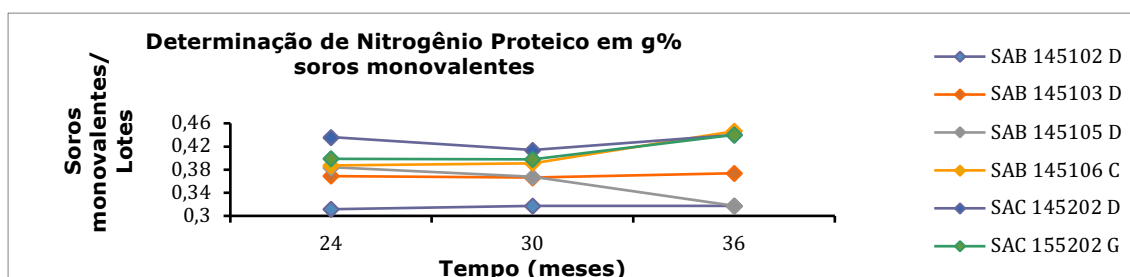


Figura 5.20. Determinação de Nitrogênio proteico em g% dos soros antiofídicos monovalentes nos tempos 24, 30 e 36 meses a 30,0±2,0°C. SAB- soro antibotrópico; SAC- soro anticrotálico.

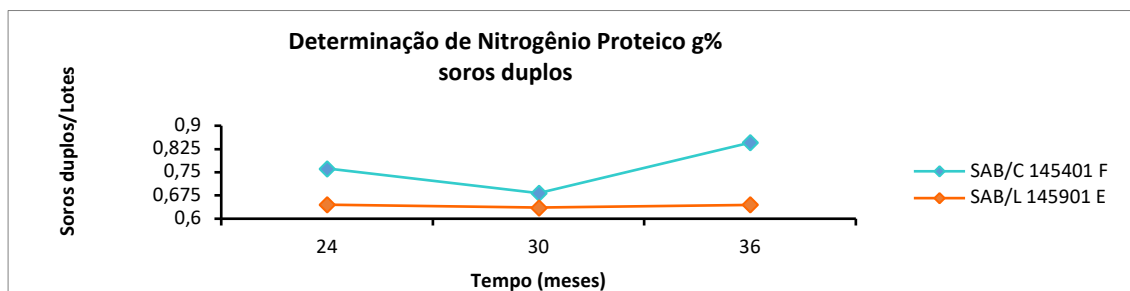


Figura 5.21. Determinação de Nitrogênio proteico em g% dos soros antiofídicos duplos nos tempos 24, 30 e 36 meses a 30,0±2,0°C. SAB/C – soro antibotrópico/anticrotálico e SAB/L- soro antibotrópico/antilaquético.

### 5.2.2.6. Fenol

Todos os resultados encontrados ficaram abaixo do especificado pela Farmacopéia brasileira (ANVISA 2019), de no máximo 0,35 g% (Figura 5.22).



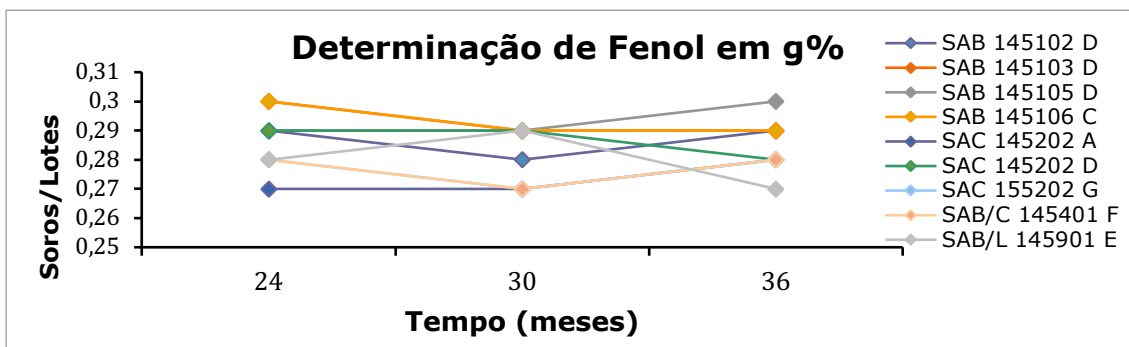


Figura 5.22. Determinação do Fenol em g% dos soros antiofídicos monovalentes e duplos nos tempos 24, 30 e 36 meses a  $30,0\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ . SAB- soro antiofídico; SAC- soro antiofídico; SAB/C- Soro antiofídico/antiofídico e SAB/L- Soro antiofídico/antiofídico.

## 6. DISCUSSÃO

O modelo brasileiro de atenção aos acidentados por animais peçonhentos é referência global de política pública exitosa e um dos seus principais alicerces é a garantia de acesso gratuito a soros hiperimunes de alta qualidade produzidos por uma rede de laboratórios públicos e disponibilizado aos estados e aos municípios pelo Ministério da Saúde (Gutiérrez, 2006).

No entanto, em relação especificamente aos acidentes por serpentes, apesar da referência exitosa no enfrentamento de um importante e negligenciado problema de saúde pública, fica evidente a escassez de pesquisas sobre acidentes ofídicos no Bioma Amazônico, região onde ocorre a maior incidência de casos por habitante no Brasil e onde são encontrados os quatro principais gêneros de importância para a saúde pública *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis* e *Micrurus* (dos Santos et al. 1995; Roriz et al. 2018).

O presente estudo sobre acidente por serpentes peçonhentas na população indígena Yanomami e a termoestabilidade dos soros antiofídicos teve como objetivo dar visibilidade a um agravado, reconhecido como doença negligenciada pela OMS, que acomete populações vulneráveis que, por habitar áreas remotas e de difícil acesso na região amazônica, necessita de melhores condições de atendimento médico aos acidentados por animais peçonhentos, considerando que o tempo entre o acidente e a aplicação da soroterapia é determinante para o desfecho. A hipótese inicial de que a letalidade dos acidentes ofídicos na população indígena Yanomami é maior do que na

população geral do Brasil; onde se observa que a diferença das taxas de mortalidades está relacionada ao tempo entre a ocorrência do acidente e a aplicação do soro.

Este estudo foi desenvolvido em consonância com a missão do Instituto Vital Brazil de “*Contribuir para a promoção da saúde por meio de pesquisa, difusão de conhecimento científico e fabricação de produtos, com ética e responsabilidade social e ambiental.*” e os resultados obtidos serão discutidos a seguir em duas secções separadamente: (i) estudo sobre os dados secundários (DATASUS) e (ii) estudo sobre termoestabilidade.

### **6.1. Estudo com Dados Secundários do DATASUS/DSEI Yanomami**

No Brasil, a primeira iniciativa de busca por informações sistematizadas sobre acidentes com animais peçonhentos teve início nos trabalhos pioneiros do Dr. Vital Brazil Mineiro da Campanha ainda em 1901. Trabalhando com fazendeiros do interior do país, por troca de serpentes por soro antiofídico, sua principal ferramenta e coleta de dados era o “*Boletim para observação de acidente ofídico*”, enviado junto com ampolas de soro e que, depois de preenchido, era devolvido ao Instituto Butantan e seus dados analisados (Brazil 2001, Bochner e Struchiner, 2003).

No presente estudo foi possível demonstrar, durante o período de janeiro de 2014 a dezembro de 2017, que os acidentes por serpentes no DSEI-Yanomami se apresentaram distribuídos ao longo de todos os meses do ano, com maior prevalência de casos entre os meses de março a setembro. Esses resultados podem ser explicados pela maior atividade dos animais durante os meses com elevada pluviosidade nesta região, que apresenta uma alta precipitação média anual (>2.000 mm). Desta forma, o aumento do índice pluviométrico leva ao transbordamento dos leitos de rios, igarapés e açudes evento que faz com que as serpentes procurem terra firme, aumentando consequentemente, assim, a possibilidade de encontro com a população humana (Martins e Oliveira, 1998; Bernarde e Abe 2006).

Oliveira e Martins (2001) reforçam também esta assertiva em seu estudo, ao sugerirem que a intensificação dos envenenamentos é uma consequência dos padrões de atividade tanto da população quanto das serpentes nos períodos de enchentes na região. De fato, é preciso considerar que este desalojamento das serpentes causado pelas enchentes está associado também com o período de reprodução destes animais e a ação

antropogênica, fatores que também podem explicar o aumento da frequência de acidentes ofídicos durante o período de maior pluviosidade.

Considerando a taxa de incidência por acidentes ofídicos no Brasil que foi de 12,9/100.000 hab., 13,3/100.000 hab., 12,9/100.000 hab. e 13,8/100.000 hab., respectivamente nos anos de 2014, 2015, 2016 e 2017, impressiona a elevada incidência observada na população do DSEI Yanomami que variou de 848,2/100.000 hab. em 2017 a 589,39/100.000 em 2016. Estes resultados se devem principalmente a maior exposição da população indígena a atividades em ambiente natural silvestre (floresta amazônica).

Há que se considerar que ocorrência dos acidentes com serpentes pode ser evitada tomando pequenos cuidados como: evitar o depósito de lixo orgânico próximo das aldeias, afastando pequenos mamíferos que possam servir de atrativo para as serpentes e manter a vegetação sempre baixa, reduzindo as áreas de abrigo para estes animais. Embora sejam orientações que muitas vezes não possam ser aplicadas ao indígena, é necessária uma abordagem educativa no tocante aos cuidados em realizar atividades em locais de riscos visando à proteção por meio do uso de equipamentos de proteção individual, sempre que possível, com a finalidade de reduzir os índices por estes acidentes e promover a proteção à saúde indígena, principalmente nas regiões de maior incidência de acidente ofídico.

Não obstante, também é preciso considerar a importância de se capacitar os profissionais da saúde para possibilitar uma melhor compreensão da relação entre as diversas variáveis vinculadas às serpentes peçonhentas existentes em nível regional assim como a gravidade destes acidentes. Desta forma, o conhecimento da epidemiologia dos acidentes ofídicos possibilitará a formulação de estratégias de prevenção, intervenção e tratamento deste tipo de acidente, respeitando as especificidades ecoepidemiológicas e socioculturais de cada região e de cada população.

Neste contexto, o estudo demonstrou que, semelhante ao que ocorre em todo território nacional, além do grande percentual de dados ignorados ou em branco, existem falhas quanto ao preenchimento das fichas de notificação e a terapia instituída nos acidentados por serpentes peçonhenta na população indígena estudada. Assim, fica evidente que medidas precisam ser instituídas a fim de melhorar a qualidade do atendimento e preenchimento das informações, visto que se trata de um problema de saúde pública e de notificação obrigatória. É preciso também, com vistas a uma melhor distribuição dos soros antiofídicos, tanto na quantidade quanto no tipo de soro, que uma

notificação correta dos acidentes ofídicos seja realizada, fato que, associado aos dados de distribuição geográfica das serpentes, além dos clínico-epidemiológicos dos acidentes, poderá auxiliar na melhoria do planejamento das ações preventivas para a redução do número de casos e da letalidade.

Em relação dos municípios de ocorrência, os maiores números de casos de acidentes ofídicos foram identificados, de uma forma geral, nos polos sede situados no município de Alto Alegre em Roraima, com destaque para o polo sede Surucucu. É possível especular que um índio de Alto Alegre tem 5,4 vezes mais possibilidade de ser picado por serpente peçonhenta que um indígena do município de São Gabriel da Cachoeira, por exemplo. Este resultado ratifica a publicação de Nascimento em 2000 que, ao avaliar os aspectos epidemiológicos dos acidentes ofídicos em Roraima, observou que Alto Alegre era responsável por 49% dos casos notificados no referido estado e destacou que a maioria dos acidentes ocorreu provavelmente do contato do indígena com as serpentes na mata (Nascimento, 2000).

Ainda em relação ao Alto Alegre, é preciso registrar que alguns dos poucos acidentes causados por *Micrurus* e *Lachesis* também foram notificados nos polos sede deste município, apontando para a necessidade de maior vigilância e orientações para a população indígena local, considerando a maior morbidade e mortalidade dos acidentes com estes dois gêneros de serpentes.

Embora o polo sede Surucucu tenha apresentado o maior número de acidentes ofídicos, todas as regiões avaliadas do DSEI-Yanomami apresentaram fatores determinantes para ocorrência de acidentes ofídicos. Na região Norte, onde se encontra o território indígena Yanomami, o clima é equatorial e a vegetação é de floresta amazônica, apresentando algumas manchas de cerrado. Neste complexo cenário, os gêneros das serpentes peçonhentas *Bothrops*, *Lachesis* e *Micrurus* vivem exclusivamente em áreas florestais, enquanto o gênero *Crotalus* habita áreas abertas, fato que justifica a baixa incidência de acidentes com *Crotalus* nesta região (Almeida-Santos e Orsi 2002, Bastos et al. 2005).

Como esperado, houve predomínio considerável de acidentes ofídicos provocados por serpentes do gênero *Bothrops*, um grupo de serpentes que apresenta uma ampla distribuição geográfica, preferencialmente em ambientes úmidos como as áreas de florestas tropicais, margens de rios e locais onde há proliferação de roedores. Estes resultados coincidem com os publicados por outros autores (Almeida-Santos 2005,

Moraes 2008), embora mais recentemente Santos e colaboradores tenham reportado a ocorrência crescente de acidente crotálico na interface do Bioma da Floresta Amazônica com a savana do Bioma do Cerrado (Alves et al 2018, Feitosa et al 2015, da Silva et al 2017, 2018, Santos et al 2019).

O presente estudo mostrou que os acidentes ocorreram predominantemente nos indígenas na faixa etária de 06 a 30 anos, com baixa frequência em indivíduos acima de 60 anos, o que pode indicar menor participação nos trabalhos de campo e a baixa expectativa de vida neste grupo populacional. Quanto ao sexo, observou-se o acometimento predominantemente do sexo masculino, independente do polo base de referência. Esses dados, em concordância com a situação do ofidismo em nível nacional, corroboram com resultados apresentados por autores que justifica a maior frequência do sexo masculino pelo envolvimento com atividades de campo e por não utilizarem equipamentos de proteção individual na região amazônica (Ribeiro e Jorge 1997, Borges et al. 1999, Nascimento 2000, Morenos et al. 2005, Mise et al. 2007 Graciano et al. 2013).

A maior parte dos acidentes ofídicos na população indígena do DSEI Yanomami atingiu o membro inferior, um resultado semelhante ao observado na população geral e em todas as unidades federativas (Moreno et al. 2005).

Quanto à classificação da gravidade dos casos, houve predomínio de acidentes por serpentes do gênero *Bothrops* classificados como leves. Sabe-se que a taxa de mortalidade está diretamente relacionada ao tempo decorrido entre a ocorrência do acidente e a aplicação do soro (Lima et al. 2009, Waldez e Vogt 2009). No presente estudo, o tempo entre o acidente e o atendimento prestado as vítimas, foi fundamental para reduzir as chances de aumentar a gravidade dos acidentes. Mesmo no município de Alto Alegre onde predominou os polos sede com maior ocorrência de acidentes, o tempo entre a picada e o atendimento na maioria dos casos foi menor que 6 horas, fato que certamente contribuiu, entre outros fatores, para redução da letalidade, apesar de não se ter qualquer informação quanto à presença de sequelas ou amputações.

Embora as taxas de letalidade encontradas neste estudo, de 0,46 em 2017 a 2,02 em 2016, possam ser consideradas baixas quando comparadas com taxas de outros agravos, é preciso contextualizar que, segundo o Ministério da Saúde, a letalidade por acidente ofídico na população geral se apresenta mais baixa. Quanto à maior taxa de letalidade em 2016, alguns fatores podem ter influenciado para o seu aumento como o local da ocorrência do acidente/tempo do atendimento dos acidentados, em que o

deslocamento por via fluvial e aérea de áreas remotas impossibilita a aplicação oportuna do soro específico. Outros fatores que precisam ser considerados é a falta ou indisponibilidade de soros específicos pela inexistência de uma rede de frio adequada para armazenamento dos soros e o uso da medicina tradicional, assim como de rituais praticados pelos Xamãs. Em relação a este último fator, é preciso registrar a interferência/intervenção dos Pajés (Xamãs) que influenciam diretamente no tempo de atendimento ao acidentado, na decisão de se aplicar ou não o soro, assim como na transferência do paciente para uma melhor assistência médica. São questões éticas e culturais que merecem reflexão e que exigem medidas estratégicas que visem reduzir a morbidade e a letalidade dos acidentes ofídicos nas populações indígenas aldeadas. Dados indicam que um indígena no município de Alto Alegre tem 5,4 vezes mais possibilidade de ser picado por serpente peçonhenta do que um indígena no município de São Gabriel da Cachoeira. (Anexo 7 acidentes ofídicos ocorridos em cada polo/ano).

Oportunamente é preciso registrar sobre uso de tratamentos alternativos, populares e da medicina tradicional que podem provocar um retardo na busca por tratamento médico, aumentando, conseqüentemente, a probabilidade de complicações clínicas. A grande maioria dessas práticas, como o uso de torniquete, incisões, ingestão de água com sal, colocação de material sobre o local da picada, por exemplo, não possuem respaldo científico, devendo ser desaconselhadas (Pierini et al. 1996). O acesso a serviços de saúde deve ser garantido às populações de localidades remotas, indígenas ou não, assegurando que as vítimas possam receber cuidados médicos em um tempo curto. (Fan et al. 2015). Diante da necessidade de se disponibilizar material informativo à população indígena sobre os procedimentos a serem seguidos em paciente que tenha sido picado por uma serpente peçonhenta, foi desenvolvido um folder sem texto, utilizando apenas imagens didáticas de fácil compreensão quanto às medidas preventivas e primeiros socorros, eliminando, assim, a barreira da língua (Anexo 9).

Os resultados observados neste estudo revelam um importante problema de saúde pública, reforçando a necessidade de mais levantamentos referentes aos acidentes ofídicos que envolva um número maior de DSEIs de diferentes regiões do Brasil. Há necessidade de desenvolvimento de estratégias de acesso ao tratamento médico especializado e, também, de ações de educação em saúde com a população indígena e, por fim, da necessidade do treinamento dos profissionais envolvidos no tratamento desse tipo de agravo.

Os dados disponibilizados pelo SINAN impossibilitam avaliar sobre a presença de sequelas e amputações relacionadas às complicações, principalmente dos acidentes botrópicos, reduzindo conseqüentemente a compreensão da real situação do ofidismo no Brasil e, em especial nas áreas indígenas. As sequelas permanentes e as amputações são incapacitantes e estigmatizantes, não contabilizadas nas estatísticas oficiais, podem se tornar um enorme problema para toda a comunidade indígena. Neste contexto, em concordância com o estudo desenvolvido no estado do Acre por Silva e colaboradores (2019), é necessário dar mais atenção e conhecimento ao indígena quanto às medidas preventivas e dos primeiros socorros no acidente ofídico. A ocorrência dos acidentes com serpentes pode ser evitada tomando pequenos cuidados como: (i) usar EPI em trabalhos de campo; (ii) evitar o depósito de lixo orgânico próximo das aldeias, (iii) afastar pequenos mamíferos que possam servir de alimentos para as serpentes, (iv) manter a vegetação sempre baixa ao redor das aldeias e (v) reduzir as áreas de abrigo para estes animais (da Silva et al 2019).

Por fim, diante dos poucos estudos recentes avaliando a situação epidemiológica dos acidentes por serpentes peçonhentas em áreas indígenas no norte do Brasil, espera-se que os resultados aqui apresentados possam, em conjunto com novos estudos, auxiliar na elaboração de estratégias que melhorem as condições de atendimento, com ações efetivas que garantam o direito de cidadania para os indígenas, com redução do número de notificações/óbitos/sequelas nessas populações negligenciadas do Brasil.

## **6.2 Termoestabilidade**

O impacto da exposição de lotes comerciais de soros antiofídicos (SAB; SAC; SAB/C e SAB/L) por 12 meses, a  $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ ; condições fora dos padrões estabelecidos nos seus rótulos, foi avaliado em resposta a dificuldade de se disponibilizar em tempo hábil os soros antiofídicos aos acidentados em áreas remotas onde nem sempre existe uma rede de frios para manutenção de imunobiológicos.

Na produção de soros, como em todo medicamento biológico, o controle de qualidade avalia se os produtos intermediários e finais estão em conformidades com as características físicas, químicas, microbiológicas e biológicas descritas nas diretrizes e monografias específicas (ANVISA 2019). O ensaio de potência “in vivo” é o “padrão ouro” na avaliação da eficácia dos soros antiofídicos no Brasil. Os resultados das análises

realizadas no presente estudo mostraram que todos os lotes testados mantiveram a potência mínima, dentro da variação estabelecida pela Farmacopeia Brasileira (ANVISA 2019).

Na determinação da potência dos soros com fração botrópica, a maioria dos resultados estava dentro do critério de aceitação, mínimo 5,0 mg/ml (Sarciaux 1999) com exceção do lote, SAB/C 145401F, (4,35 mg/ml), que se manteve muito próximo ao ponto de corte. Para potência dos soros com fração crotálica, também, a maioria estava dentro do critério de aceitação estabelecido (ANVISA 2019), mínimo de 1,5 mg/ml. Assim, o perfil da termoestabilidade dos soros, nas condições do estudo, não demonstrou alterações significativas em relação aos valores iniciais. Os resultados demonstraram que as potências das ações neutralizantes dos soros antiofídicos se mantiveram estáveis entre os diferentes tempos de observação, com pequenas variações para os soros monovalentes quanto para os soros duplos, mas dentro da variação estabelecida pela Farmacopeia

O presente estudo considerou para o ensaio de potência uma variabilidade analítica de no máximo 50% (ABNT 2014), em concordância com a OMS que estabelece que os ensaios com animais podem apresentar uma variabilidade de até 50%.

Em relação às outras análises realizadas - pH, fenol proteína e Nitrogênio -, os resultados de todas as amostras/lotos analisados ficaram dentro dos parâmetros aceitos pela Farmacopeia Brasileira (Cha 2001, WHO 2019).

Os resultados das análises realizadas do Fenol, o conservante químico amplamente utilizado na produção de soros, ficou dentro dos critérios estabelecidos (ANVISA 2019), que é de, no máximo, 0,35g%. Devido às suas ações bacteriostáticas e antifúngicas, a sua concentração deve permanecer estável, na faixa determinada pelas monografias de cada medicamento, pois, sendo uma substância hidrofóbica, promove desnaturação de proteínas. Assim, foi possível verificar que todos os lotes mantiveram satisfatoriamente as concentrações dentro dos padrões estabelecidos (Cha 2001, ABNT 2014, WHO 2019).

Quanto à análise de proteína, a Organização Mundial de Saúde estabelece que a concentração total de proteínas, nos soros heterólogos de origem equina, não deve exceder 10g/dl (38,52), sendo que na Farmacopeia Brasileira (ANVISA 2019), esse limite é de 15g/%. Todos os resultados de teor de proteína foram inferiores a 3g/%, permaneceram estáveis durante o período de estresse a  $30,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ , tanto os monovalentes quanto aos soros duplos. Não apresentaram alterações significativas do



valor inicial o que, segundo os critérios de RDC N° 50/2011 ANVISA, possibilita classificar os resultados como satisfatórios.

Para a análise de Nitrogênio total e do Nitrogênio proteico, tanto para os soros monovalentes quanto os duplos, os resultados também foram satisfatórios, já que não foram observadas alterações significativas em relação aos valores iniciais. Cabe ressaltar que o resultado do Nitrogênio total é utilizado para o cálculo do Nitrogênio protéico e que a Farmacopeia Brasileira não especifica um valor referência para Nitrogênio total (ANVISA 2019, da Silva 2017).

Em relação aos ensaios de Nitrogênio não proteico, os resultados se mostraram inferiores ao critério de aceitação máximo estabelecido de 0,30 g%. Importante destacar que no tempo 36 meses, do lote SAB 145105D (0,0842g%), caracterizou, notadamente, um valor discrepante, *outline*, que foi auditado e definido como erro da análise.

A avaliação dos resultados demonstra que os soros antiofídicos produzidos pelo Instituto Vital Brazil (IVB), na forma farmacêutica líquida, mantiveram sua estabilidade após armazenamento por 12 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ , isso após dois anos armazenados sob refrigeração de  $5 \pm 3^\circ\text{C}$ , ou seja, no último ano de sua validade, que é de três anos. Esses resultados podem impactar, de maneira muito positiva, no atendimento de acidentados em populações exposta a acidentes ofídicos que não têm acesso como deveria ao tratamento pela justificativa governamental da indisponibilidade de uma rede de frio.

Os soros antiofídicos, produzidos pelo IVB, podem dispensar, em condições especiais ( $15$  a  $30^\circ\text{C}$ ) com segurança e eficácia, a utilização da rede de frio a  $5 \pm 3^\circ\text{C}$ , por um ano; possibilitando um maior acesso e uso, em tempo menor, ao tratamento de acidentados por serpentes dos gêneros *Bothrops*; *Crotalus* e *Laquesis*, que necessitam de soros antiofídicos em locais distantes dos grandes centros, em áreas indígenas e rincões de difícil acesso e de deslocamento; contribuindo diretamente para a diminuição de mortos e sequelados, provocados por esse importante agravo negligenciado no Brasil.

Em adição, ao avaliar os resultados obtidos neste estudo, é possível demonstrar também a necessidade de se realizar estudos maiores e multicêntricos que envolvam outros fabricantes de soros nacionais, tendo em vista que o Ministério da Saúde do Brasil distribui soros dos três produtores para todo o território brasileiro.

Por fim, diante do exposto e fundamentado pelos resultados obtidos sobre acidente ofídico nos Yanomamis, além da geração de um material informativo sobre o atendimento do indígena acidentado (Anexo 9), alguns aspectos importantes relacionados ao tema

principal são apresentados abaixo, com o propósito de auxiliar no desenvolvimento de instrumentos e estratégias que possam garantir acesso ao tratamento adequado e oportuno às populações vulneráveis residentes em áreas remotas de difícil acesso, em especial às populações indígenas e de áreas rurais.

**(i) Garantia de acesso:**

-Considerar, entre os critérios para implantação de centros de referência para tratamento, os soros como medicamentos essenciais e acessíveis na primeira hora após a ocorrência do agravo, conforme orientação da OMS e do *Royal College of Emergency Medicine*;

-Reconhecer os óbitos por contato com animais peçonhentos como evento evitável e sua inclusão especificada na Lista de Mortes por Causas Evitáveis do SUS;

-Realizar a inclusão e priorização do critério de ocorrência de óbitos por contato com animais peçonhentos nas discussões para implantação dos centros de tratamento com soroterapia específica, especialmente em áreas indígenas e em municípios com grandes extensões territoriais a serem percorridas até o início do tratamento específico;

-Incorporar novas ferramentas de tecnologias da informação nos processos de controle e manejo dos estoques dos soros específicos nas etapas finais de sua disponibilização para acesso pela população;

-Fomentar e apoiar a produção periódica de venenos de referência, para harmonização de antígenos e padrões de dosagem de controle de qualidade dos soros produzidos pelos laboratórios oficiais.

**(ii) Fortalecimento da Informação e da Comunicação:**

-Disponibilizar, nos moldes do Sistema de Informação de Mortalidade e do Sistema de Informação Hospitalar/SUS e do banco de dados do SINAN pelo DATASUS;

-Implantar programas continuados e permanentes de formação e qualificação profissional para autonomia e apropriação, pelos profissionais de saúde municipais e dos DSEIs, de todas as etapas da manipulação dos Sistemas de Informação e atualização frequente no diagnóstico, classificação e conduta dos casos de acidentes com animais peçonhentos;

-Discutir com o MS e a SESAI junto ao MEC sobre a necessidade de inclusão nos conteúdos de formação de profissionais de saúde, dos assuntos voltados à atenção aos acidentes com animais peçonhentos;

-Reestruturar ou criar, com a participação dos profissionais de saúde e sistemas educacionais municipais e dos DSEIs, uma comunicação em saúde voltada aos acidentes com animais peçonhentos, contextualizada com a realidade local;

-Estimular junto ao sistema de ensino nacional, principalmente para áreas indígenas, a inclusão dos acidentes com animais peçonhentos como tema e assunto transversal nas atividades didáticas e pedagógicas;

-

### **(iii) Ações no Campo da Vigilância e dos Determinantes de Saúde:**

-Reforçar, junto às coordenações e comitês estaduais e municipais de Saúde e dos DSEIs, a obrigatoriedade da investigação dos óbitos, sequelas e incapacitações decorrentes de acidentes com animais peçonhentos, em especial naqueles casos em que se verifique o deslocamento intermunicipal dos acidentados;

-Estimular junto aos consórcios municipais de saúde, a implantação de programas municipais de vigilância aos acidentes com animais peçonhentos, com recursos, pessoal e infraestrutura adequados ao seu funcionamento permanente;

-Qualificar e capacitar os agentes de saúde sobre dos acidentes com animais peçonhentos para o monitoramento e vigilância das populações sinantrópicas desses animais e a ocorrência dos agravos;

-Criar mecanismos de verificação e de “barreiras sanitárias” voltados ao monitoramento da dispersão de espécies perigosas de animais peçonhentos;

-Avaliar, de forma ampla e interinstitucional, a aplicabilidade do modelo vigente de vigilância dos acidentes com animais peçonhentos, sob a ótica do contexto e capacidades reais dos sistemas de saúde municipais e dos DSEIs;

### **(iv) Ações no Campo do Atendimento ao acidentado:**

-Adotar como critério, para qualificação de concorrência em seleções públicas de instituições para apoio à gestão de unidades de saúde, a comprovação de qualificação e capacitação de seus recursos humanos nos diferentes aspectos de interesse para atenção

de qualidade aos agravos decorrentes de contato com animais peçonhentos, e a verificação periódica ao longo do contrato de serviços, da atualização desses profissionais;

-Implantar programas continuados e permanentes de formação e qualificação profissional para autonomia e apropriação, pelos profissionais de saúde municipais e dos DSEIs, de todas as ferramentas necessárias nas etapas de diagnóstico, classificação, monitoramento, intervenções e terapia dos casos de acidentes com animais peçonhentos;

-Estimular políticas para otimização dos fluxos e recursos necessários para o rápido deslocamento inter-hospitalar dos casos graves de acidentes com animais peçonhentos ou dos estoques de soros específicos;

#### **(v) Participação Popular:**

- Incluir os acidentes com animais peçonhentos, pelos Conselhos Tribais, como tema prioritário nas agendas e documentos normativos da saúde nos DSEIs onde os acidentes e óbitos sejam encarados como problema social relevantes;

-Qualificar e capacitar os agentes de Saúde Indígenas sobre os acidentes com animais peçonhentos;

-Incluir os canais para participação popular previstos no SUS (ouvidorias etc.) os acidentes com animais peçonhentos como tema para consultas e manifestações da população.

#### **(vi) Necessidade de Interdisciplinaridade:**

- Criar linhas de fomento para pesquisas sobre as dimensões sociais e culturais das populações expostas aos acidentes com animais peçonhentos e suas correlações com esses agravos;

- Criar linhas de fomento para pesquisas para desenvolvimento de intervenções seguras e sustentáveis, sobre os determinantes bioecológicos que favorecem a proliferação sinantrópica de animais peçonhentos perigosos;

-Incluir acidentes com animais peçonhentos como tema a ser considerado na articulação das agendas das Políticas Públicas das diferentes áreas de gestão;

-Considerar os determinantes sociais e ambientais da saúde nos planos diretores e no planejamento dos DSEIs onde os acidentes com animais peçonhentos sejam problema de Saúde.

**(vii) Ações referentes à logística dos acidentes por animais peçonhentos**

-Incluir o campo "cura com sequela" da ficha de notificação do SINAN para possibilitar o real dimensionamento do problema do ofidismo.

-Reestruturar os campos da ficha de notificação do SINAN, considerando que a fidedignidade dos dados se encontra comprometida. Assim, para exemplificar, na ficha, mais especificamente no campo 56 (Acidente Relacionado ao Trabalho), "2" significa "não", e no campo 57 (Evolução do Caso), "2" significa "óbito por acidentes por animais peçonhentos".

-Avaliar regularmente a distribuição quantitativa e qualitativa dos soros para acidentes por animais peçonhentos para os polos de atendimentos pelas secretarias de saúde em conjunto com instituições de pesquisa sobre epidemiologia de cada região. Observa-se nos últimos anos uma tendência ao aumento no número de notificações por todos os grupos de animais peçonhentos, principalmente os escorpiões e a ampliação da área de ocorrência de algumas espécies como a cascavel no estado do Rio de Janeiro.

-Redimensionar os pontos de atendimento, considerando, além da disponibilidade dos soros para municípios que justifiquem a aquisição com base nos dados epidemiológicos, a atual fase de desabastecimento de antivenenos com a consequente centralização dos pontos de atendimento soroterápico na maioria dos estados (alguns reduziram em mais de 50%).

-Realizar treinamentos regulares visando melhorar a capacitação no que se refere ao reconhecimento do acidente ou do próprio animal peçonhento (quando este é levado

junto ao acidentado) e a relação entre a gravidade do acidente e a administração de ampolas, auxiliando, assim, na melhor utilização do estoque nacional de soro.

- Melhorar a integração entre os responsáveis pela solicitação dos antivenenos nas unidades federativas e o Ministério da Saúde.

- Elaborar estratégias para atender pacientes de países vizinhos que fazem fronteira com Roraima, Amapá, Amazonas, Acre, Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, além de disponibilizar diretamente o antiveneno para estes países (Argentina, Uruguai, Paraguai, Peru, Venezuela, Colômbia, Bolívia, Guiana, Suriname, Guiana Francesa). Assim, faz-se necessária a elaboração de uma estratégia para abordagem dessa problemática, envolvendo venda/doação de soros a esses países e produção de soros que efetivamente neutralizem acidentes das principais espécies da América do Sul.

## **7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

### **7.1. CONCLUSÕES**

-Os acidentes por serpentes no DSEI-Yanomami se apresentaram distribuídos ao longo de todos os meses do período de estudo, com maior prevalência entre os meses de março a setembro. Esse padrão pode ser explicado pelo deslocamento das serpentes para terra firme durante os meses com elevada pluviosidade, fato que aumenta a possibilidade de encontro da população com estes animais;

-As taxas de incidências anuais de acidentes ofídicos observadas na população indígena Yanomami foram maiores que as da população geral e é possível concluir que este resultado se deve principalmente ao fato de que os Yanomami estão mais expostos a atividades em ambiente rural e silvestre;

- A pouca participação nos trabalhos de campo e a baixa expectativa de vida dos Yanomami podem justificar o fato de que os acidentes ocorreram predominantemente nos indígenas com idade entre 06 a 30 anos, com poucos casos em maiores de 60 anos;

-Semelhante ao observado na literatura com outras populações no Brasil e no mundo, a maioria dos acidentes ocorreu nos indígenas do sexo masculino com acometimento dos membros inferiores, apontando para a exposição no ambiente silvestre rural sem equipamento de proteção individual;

- As taxas de letalidade por acidente ofídico na população Yanomami foi maior do que a da população geral e este resultado pode ser explicado pela demora no atendimento do

acidentado seja pela dificuldade no deslocamento em áreas remotas, pela indisponibilidade de soro específico ou pelo uso de práticas tradicionais indígenas;

- Embora a taxa de letalidade tenha sido mais elevada do que a da população geral, neste estudo foi possível observar que o atendimento na maioria dos casos no DSEI Yanomami foi menor do que 6 horas, fato que pode justificar a letalidade reduzida;

- Semelhante à população geral no Brasil, a inexistência de informações sobre sequelas e amputações no banco de dados impossibilitaram avaliar a morbidade dos acidentes ofídicos no DSEI Yanomami;

- A maioria dos acidentes foi causada por serpente do gênero *Bothrops*, um resultado em consonância com a literatura e que foi classificada como leve. É possível concluir que este padrão observado foi consequência do tempo oportuno entre a ocorrência do acidente e a aplicação do soro;

- A maioria dos casos de acidentes ofídicos, não somente pelo gênero *Bothrops*, mas também por *Micrurus* e *Lachesis*, foi identificada nos polos sede situados no município de Alto Alegre em Roraima, resultado que reforça a necessidade de aumentar a atenção quanto às medidas de prevenção e controle neste município;

- A manutenção da estabilidade dos soros antiofídicos produzidos pelo Instituto Vital Brazil, após armazenamento por 12 meses a  $30,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ , aponta para a possibilidade de atendimento dos acidentados em áreas remotas de difícil acesso, sem rede de frios, como na região amazônica;

- Como os soros antiofídicos produzidos pelo IVB neste estudo mantiveram a sua termoestabilidade, é possível considerar a sua utilização, em condições especiais (15 a  $30^\circ\text{C}$ ) com segurança e eficácia, contribuindo diretamente, assim, para a diminuição de mortos e sequelados consequentes aos acidentes por serpentes peçonhentas;

- Faz-se necessário discutir a geração de instrumentos e estratégias tanto para a população, como material informativo, quanto para o sistema de saúde indígena, com vista a garantir



acesso ao tratamento adequado e oportuno das populações indígenas residentes em áreas remotas de difícil acesso.

## **7.2. PERSPECTIVAS**

- Realização de estudos maiores e multicêntricos sobre termoestabilidade do soro ofídico que envolvam outros fabricantes de soros nacionais, com o apoio do Ministério da Saúde do Brasil/OPAS;
- Discussão com o Ministério da Saúde sobre a aplicação de instrumentos que possam auxiliar na redução da letalidade por acidentes ofídicos assim como a inclusão dos dados sobre sequelas e amputações na ficha SINAN;
- Publicação dos dois artigos em revistas indexadas

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução nº. 301, de 21 de agosto de 2019. Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial da União** 22 ago 2019.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopéia Brasileira. 6. Ed. Brasília: ANVISA; 2019.

Almeida-Santos SM, Orsi AM. 2002. Ciclo Reprodutivo de *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae): morfologia e função do oviduto. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, 26(2).

Alves EC, Sachett JDAG, Sampaio VS, de Brito Sousa JD, de Oliveira SS, do Nascimento EF, Colombini M. 2018. Predicting acute renal failure in *Bothrops* snakebite patients in a tertiary reference center, Western Brazilian Amazon. **PloS one**, 13(8).

Alvim KC, & Clemente E. 1998. Estudo da termoestabilidade de peroxidases extraídas da polpa e casca de mexerica (*Citrus deliciosa*). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 20, 201-205.

Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 7353: soluções aquosas - determinação do pH com eletrodos de vidro, que revisa norma ABNT. Rio de Janeiro: ABNT; 2014.

Barraviera B. The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases (JVATiTD) from 1995 to 2007. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 13, n. 2, p. 428-429, 2007.

Bastos EGDM, de Araújo AF, & Silva HRD. 2005. Records of the rattlesnakes *Crotalus durissus terrificus* (Laurenti)(Serpentes, Viperidae) in the State of Rio de Janeiro, Brazil:

a possible case of invasion facilitated by deforestation. **Revista Brasileira de Zoologia**, 22(3), 812-815.

Bernarde PS. Serpentes Peçonhentas e acidentes ofídicos no Brasil. São Paulo: Anolis books; 2014.

Bernarde PS, Costa HC, Machado RA, São-Pedro VA. 2011. *Bothriopsis bilineata bilineata* (Wied, 1821) (Serpentes: Viperidae): New records in the states of Amazonas, Mato Grosso and Rondônia, northern Brazil. **Check List**, 7(3).

Bernarde PS, Abe AS. 2006. A snake community at Espigão do Oeste, Rondônia, southwestern Amazon, Brazil. **South American Journal of Herpetology**, 1(2), 102-113.

Bochner R. 2016. Paths to the discovery of antivenom serotherapy in France. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, 22(1), 20.

Bochner R, Struchiner CJ. 2003. Epidemiologia dos acidentes ofídicos nos últimos 100 anos no Brasil: uma revisão. **Cadernos de Saúde Pública**, 19, 07-16.

Bochner R, Fiszon JT, Machado C. 2014. A profile of snake bites in Brazil, 2001 to 2012. **Clinical Toxicology**, 4:1-7.

Borges CC, Sadahiro M, Santos MC. 1999. Epidemiological and clinical aspects of snake accidents in the municipalities of the State of Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 32: 637-646

Brazil LV. 2001. *Vital Brazil: vida e obra 1865-1950*. **Instituto Vital Brazil**.

Brooks TM, Mittermeier RA, da Fonseca GA, Gerlach J, Hoffmann M, Lamoreux JF, Rodrigues AS. 2006. Global biodiversity conservation priorities. **Science**, 313(5783), 58-61.

Cha J, Gilmor T, Lane P, Ranweiler JS. 2001. Stability studie. In: Ahuja S, Scypinski S, editors. Handbook of modern pharmaceutical analysis. [S.l.]: Elsevier, p. 445-483.

Chippaux JP. 1998. Snake-bites: appraisal of the global situation. **Bull World Health Organ**, 76(5):515–24

Chippaux JP. 2012. Epidemiological investigation on envenomation: from theory to practice. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, 18(4):446-450.

Chippaux JP; Massougbodji A; Habib AG; - 2019.- The WHO strategy for prevention and control of snakebite envenoming: a sub-saharan Africa plan. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 25

Costa HC, Bérnils RS. 2015. Répteis brasileiros: Lista de espécies 2015. **Herpetologia Brasileira**, 4(3):75-93.

da Silva AM, Colombini M, Moura-Da-Silva AM, De Souza RM, Monteiro WM, Bernarde OS. 2019. Ethno-Knowledge And Attitudes Regarding Snakebites In The Alto Juruá Region, Western Brazilian Amazonia. **Toxicon**, Dec 5;171:66-77. Doi: 10.1016/J.Toxicon.2019.10.238. Epub 2019 Oct 16

da Silva MI, Tavares AM, Sachett J, Sardinha J F, Zapparolli L, Santos MFG, Monteiro WM. 2017. Safety and efficacy of a freeze-dried trivalent antivenom for snakebites in the Brazilian Amazon: an open randomized controlled phase IIb clinical trial. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 11(11).

da Silva SA, de Almeida GSJ, Alcantara JA, Freire, M, Alecrim MDGC, Lacerda M, Monteiro WM. 2018. Snakebites as cause of deaths in the Western Brazilian Amazon: Why and who dies? Deaths from snakebites in the Amazon. **Toxicon**: official journal of the International Society on Toxinology, 145, 15.

Dart RC, Hill RE, Bogdan GM. 2001. Time to reconstitution: purified Fab antivenom vs. unpurified IgG antivenom. **Toxicon**, 39:729-731.

DSEI 2016 - Distritos Sanitários Especiais Indígenas. Yanomami. Brasília: Ministério da Saúde; 2016.

Dos-Santos MC, Martins M, Boechat AL, Sá-Neto RP, Oliveira ME. 1995. Serpentes de interesse médico da Amazônia. UA/SESU.

Fan HW, Monteiro WM, Moura da Silva AM, Tambourgi DV, Mendonça da Silva I, Sampaio VS, Santos MC, Sachett J, Ferreira LC, Kalil J, Lacerda M. 2015. Snakebites and scorpion stings in the Brazilian Amazon: identifying research priorities for a largely neglected problem. **PLoS Negl Trop Dis**, 9(5).

Feitosa EL, Sampaio VS, Salinas JL, Queiroz AM, da Silva IM, Gomes AA, Sachett J, Siqueira AM, Ferreira LC, Dos Santos MC, Lacerda M, Monteiro W. 2015. Older Age and Time to Medical Assistance Are Associated with Severity and Mortality of Snakebites in the Brazilian Amazon: A Case-Control Study. **PLoS One**. Jul 13;10(7):e0132237.

Feitosa ES, Sampaio V, Sachett J, Castro DBD, Noronha MDDN, Lozano JLL, Monteiro WM. 2015a. Snakebites as a largely neglected problem in the Brazilian Amazon: highlights of the epidemiological trends in the State of Amazonas. **Rev Soc Bras Med Trop**, 48: 34-41.

Ferreira ME, Matsuo T, Souza RK. 2011. Demographic characteristics and mortality among indigenous peoples in Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Cadernos de Saúde pública**, 27(12), 2327-2339.

Freitas AD, Feitosa CA, Lima AD. 2019. Acidentes por serpentes peçonhentas (Squamata; Reptilia) em indígenas no Brasil. **Revista Ouricuri**, 9(1):013026.

Graciano SDA, Coelho MJ, Teixeira AO, Silva JCSD, Pereira SRM, Fernandes RTP. 2013. Perfil epidemiológico dos acidentes ofídicos em homens. **Revista de Enfermagem Referência**, (10):89-98.

Gutiérrez JM. 2008. Antivenenos en Iberoamerica: fortalecimiento de las tecnologías para producción y control de calidad en laboratorios públicos de la región. **Proyecto CYTED 206AC0281**.

Gutiérrez JM. 2019. Global availability of antivenoms: The relevance of public manufacturing laboratories: received. *Toxicon*, 11(5).

Gutiérrez JM. 2012. Improving antivenom availability and accessibility: Science, technology, and beyond. *Toxicon*, 60(4), 676-687.

Gutierrez JM, Calvete JJ, Habib AG, Harrison RA, Williams DJ, Warrell DA. 2017. Snakebite envenoming. **Nat Rev Dis Primers**, 3:1–19.

Gutiérrez JM, Theakston RDG, Warrell DA. 2006. Confronting the neglected problem of snake bite envenoming: the need for a global partnership. **PLoS Medicine**, 3(6): e150.

Hardy LD. 2006. Alternatives in the field management of venomous snakebite. In: Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. **São Paulo: Sarvier**. p.402-416.

Herrera M, Segura Á, Sánchez A, Vargas M, Villalta M, León G. 2017. Freeze-dried EchiTAB+ ICP antivenom formulated with sucrose is more resistant to thermal stress than the liquid formulation stabilized with sorbitol. *Toxicon*, 133:123-126.

Ibañez N, Wen FH, Fernandes SC. 2007. A autosuficiência na produção de imunobiológicos e a criação Centro de Biotecnologia do Instituto Butantan. **Cadernos de História da Ciência**, 3(1), 9-34.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [homepage na internet]. Censo demográfico 2010. [acesso em 27 nov 2019]. Disponível em: [www.censo2010.ibge.gov.br](http://www.censo2010.ibge.gov.br)

Laloo DG, Theakston RDG. 2003. Snake antivenoms: antivenoms. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 41(3), 277-290.

León MG, Segura RÁ, Gómez AA, Hernández BA, Navarro AD, Villalta AM, ... & Gutiérrez JM. Industrial Production and Quality Control of Snake Antivenoms. 2014.

Lima ACSF, Campos CEC, Ribeiro JR. 2009. Epidemiological profile of snake poisoning accidents in the State of Amapá. **Rev Soc Bras Med Trop**. 42:329-35.

Machado C, Lemos ERSD. 2016. Ofidismo no estado do Rio de Janeiro, Brasil, no período de 2007–2013. **Revista Eletrônica Estácio Saúde**, 5(2), 67-77.

Magalhães SFV, Peixoto HN, Moura N, Monteiro WM, de Oliveira MRF. 2019. Snakebite envenomation in the Brazilian Amazon: a descriptive study. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, 133(3): 143-151.

Martins SB, Bolon I, Chappuis F, Ray N, Alcoba G, Ochoa C, ... e Castañeda RR. 2019. Snakebite and its impact in rural communities: The need for a One Health approach. **PLoS neglected tropical diseases**, 13(9).

Melgarejo AR. 2003. Serpentes peçonhentas do Brasil. Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes, 33-61.

Melo EC. 2018. Perfil epidemiológico dos acidentes ofídicos no Estado de Roraima de 2013 a 2016. Boa Vista. Dissertação [Mestrado em Ciências da Saúde] – **Universidade Federal de Roraima**.

Melo PA, Homsí-Brandeburgo, MI, Giglio JR e Suarez-Kurtz G. 1993. Antagonism of the myotoxic effects of Bothrops jararacussu venom and bothropstoxin by polyanions. **Toxicon**, 31(3), 285-291.

Mise, Y. F., Lira-da-Silva, R. M., & Carvalho, F. M. (2007). Envenenamento por serpentes do gênero Bothrops no Estado da Bahia: aspectos epidemiológicos e clínicos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40(5), 569-573.

Miranda EE, Coutinho AC. 2004. Brasil visto do espaço. Imagens do sateelite Landsat 7. Campinas: EMBRAPA Disponível em <<http://cdbrasil.cnpem.embrapa.br>

Moreno E, Queiroz-Andrade M, Lira-da-Silva RM. 2005. Clinical and epidemiological characteristics of snakebites in Rio Branco, Acre. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 38: 15-21

Moura VM, Mourão RHV, Santos MCD. 2015. Acidentes ofídicos na Região Norte do Brasil eo uso de espécies vegetais como tratamento alternativo e complementar à soroterapia. **Scientia Amazonia**. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/snakebite-envenoming> acesso em 04/02/2020)

Nascimento, S.P. 2000. Epidemiological characteristics of snakebites in the State of Roraima, Brazil, 1992-1998. **Cadernos de Saúde Pública**, 16: 271-6

Pereira, AJCG. 2017. Serpentes e acidentes ofídicos na zona rural do município de Tefé, Amazonas: Aspectos socioeconômicos, epidemiológicos e ecológicos. Trabalho de conclusão de curso- Universidade do Estado da Amazônia.

Pierini SV, Warrell DA, De Paulo A, Theakston, RDG. 1996. High incidence of bites and stings by snakes and other animals among rubber tappers and Amazonian Indians of the Juruá Valley, Acre State, Brazil. **Toxicon**, 34(2), 225-236

Pyrogen test. In: United States Pharmacopeia. USP 37NF 32. **Rockville: United States Pharmacopeia Convention**, 2014a.



Ribeiro LA, Jorge MT. 1997. Acidente por serpentes do gênero Bothrops: série de 3.139 casos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 30(6), 475-480.

Roriz KRPS, Zaqueo KD, Setubal SS, Katsuragawa TH, Silva RRD, Fernandes CFC, Zuliani J.P. 2018. Epidemiological study of snakebite cases in Brazilian Western Amazonia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 51(3), 338-346.

Santos LRH, Sousa DBJ, Alcântara AJ, de Almeida JGS, Soares VBT, Saraiva I, Bernarde PS, Freire SVM, Cardoso de Melo G, Maia PH, Oliveira RM7, Sampaio V, Monteiro WM. 2019. Rattlesnakes bites in the brazillian Amazon: clinical epidemiology, spatial distribution and ecological determinants. **Acta Trop**, Mar;191:69-76. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.12.030

Sarciaux JM, Mansour S, Hageman MJ, Nail SL. 1999. Effects of buffer composition and processing conditions on aggregation of bovine IgG during freeze-drying. **J. Pharm. Sci**, 88(12):1354–1361.

Secretaria Especial de Saúde Indígena. Relatório de Gestão do Exercício de 2016. Brasília: **Ministério da Saúde**; 2017.

Segura A, Herrera M, Villalta M, Vargas M, Gutiérrez JM, León G. 2012. Assessment of snake antivenom purity by comparing physicochemical and immunochemical methods. **Biologicals**, 1-5.

Silva, A.M.; Colombini, M. Moura-da-Silva, A.M.; Souza, R.D., Monteiro, W.M.; Bernarde, P.S. 2020. Epidemiological and clinical aspects of snakebites in the upper Juruá River region, western Brazilian Amazonia. *Acta Amazonica*.

Sistema de Informação de Agravos de notificação [homepage na internet]. Acidentes por animais peçonhentos [acesso em 27 nov 2019]. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/animaisbr.def>

Vieira de CMV, 2018. Tese de doutorado; Escorpionismo no Brasil com ênfase no Rio de Janeiro: subsidiando políticas públicas para a população exposta. ICICT/FIOCRUZ.

Waldez, F., Vogt, R. C. 2009. Ecological and epidemiological aspects of snakebites in riverside communities of the lower Purus River, Amazonas, Brazil. **Acta Amazonica**, 39: 681-692

Williams HF, Layfield HJ, Vallance T, Patel K, Bicknell AB, Trim SA, Vaiyapuri S. 2019. The urgent need to develop novel strategies for the diagnosis and treatment of snakebites. **Toxins**, 11(6), 363.

World Health Organization. Specifications for pharmaceutical preparations: 42nd report. Geneva: World Health Organization; 2008. **WHO Technical Report Series**, No. 948.

World Health Organization. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: first WHO report on neglected tropical diseases. Geneva: World Health Organization; 2010

World Health Organization. Guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins. **Geneva: World Health Organization; 2010a.**

World Health Organization. Venomous snake and antivenoms search interface. **Geneva: World Health Organization; 2010b.**

World Health Organization. Guidelines on good manufacturing practices: validation, appendix 7: non sterile process validation. **Geneva: World Health Organization; 2015.** (Série de Relatórios Técnicos da OMS, No. 992).

World Health Organization. Guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins. **Geneva: World Health Organization; 2016.**

World Health Organization [homepage na internet]. Antivenom. [acesso em 2 dez 2019]. Disponível em: <https://www.who.int/snakebites/antivenoms/en/>.

World Health Organization [homepage na internet]. List of Antivenoms. [acesso em 2 dez 2019]. Disponível em: <http://apps.who.int/bloodproducts/snakeantivenoms/databas>.

World Health Organization [homepage na internet]. Snakebite envenoming: a strategy for prevention and control: executive summary [acesso em 27 nov 2019]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/312195>.

## 9. ANEXOS

### 9.1. ANEXO 1 Termo de Compromisso DSEI Yanomami

#### TERMO DE COMPROMISSO E RESPONSABILIDADE

Pelo presente termo de compromisso, a Dra. Elba Regina Sampaio de Lemos (CPF 56125194787), chefe do **Laboratório de Hantavírus e Rickettsioses (LHR), Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ**, confirma o desenvolvimento de TESE de doutorado:” **FATORES QUE INFLUENCIAM NOS AGRAVOS POR ANIMAIS PECONHENTOS EM ÁREAS INDÍGENAS DO NORTE DO BRASIL- DSEI YANOMAMI**”, de Luís Eduardo Ribeiro da Cunha (CPF 561.277.907.00) aluno de doutorado em Medicina Tropical/IOC/FIOCRUZ; e a Dra. Andreia da Costa Formiga (CPF 909.439.291-72), DSEI-YANOMAMI. Estabelecem que, com o desenvolvimento do projeto, concordam com:

- a) Execução do projeto de pesquisa intitulado :” **FATORES QUE INFLUENCIAM OS AGRAVOS POR ANIMAIS PECONHENTOS EM ÁREAS INDÍGENAS DO NORTE DO BRASIL**”;
- b) Colaborar com orientação, suporte técnico científico na área de estudo;
- c) Utilizar o material, com informações epidemiológicas, recebido exclusivamente para o fim acordado e não utilizar os resultados para divulgação ou publicação de qualquer natureza sem comunicação e aprovação prévia de todos, além de se comprometerem que nenhum dado será divulgado até a data de 31/12/2018. Salvo com a concordância dos três.
- d) Comunicar-se com os colaboradores antes da submissão de artigos, resumos de congresso ou publicações/divulgação de qualquer natureza oriundas da presente cooperação, a fim de revisar o conteúdo, agradecimentos e instituições financiadoras e possíveis taxas de publicação;
- e) Informar aos parceiros, quando solicitado, sobre o desenvolvimento dos trabalhos com o material compartilhado, fornecendo resultados científicos na sua forma parcial ou final. A utilização dos resultados nos relatórios citados deve ser acordada entre as partes.
- f) Encaminhar as informações epidemiológicas, dados técnicos referente à logística de deslocamento de pacientes e ao uso de medicina tradicional que tenha relação com o agravo em estudo, para os participantes deste estudo, durante o período de duração do projeto;

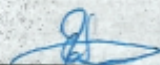


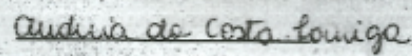
g) Não encaminhar dados/informes para novos/outros projetos nas mesmas áreas temáticas dos projetos de cooperação;

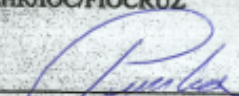
A Dra. Elba R. Sampaio de Lemos (Laboratório de Hantavírus e Rickettsioses/IOC/FIOCRUZ); a Dra. Andreia da Costa Formiga (DSEI Yanomami) e o doutorando Luís Eduardo Ribeiro da Cunha( IVB ) se comprometem a cumprir o presente "Termo de Compromisso e Responsabilidade" em todos os seus itens e condições.

Data de início da cooperação: Junho de 2016.

Vigência: dezembro de 2018.

  
\_\_\_\_\_  
Elba R. Sampaio de Lemos  
LHR/IOC/FIOCRUZ

  
\_\_\_\_\_  
Andreia da Costa Formiga  
DSEI -YANOMAMI

  
\_\_\_\_\_  
Luís Eduardo Ribeiro da Cunha  
Aluno doutorado  
MJ/IOC/FIOCRUZ

## 9.2. ANEXO 2 Autorização da CEUA



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA Vital Brazil

### AUTORIZAÇÃO PARA A REALIZAÇÃO DE ATIVIDADES DE ENSINO OU PESQUISA CIENTÍFICA


Certificamos que a proposta intitulada "Fatores que impactam os agravos por acidentes ofídicos em áreas indígenas do norte do Brasil", registrada com o nº 011/2016, sob a responsabilidade de Luis Eduardo Ribeiro da Cunha – que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-VITAL BRAZIL) DO INSTITUTO VITAL BRAZIL.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa
Vigência de autorização	10/2018
Espécie/linhagem/raça	Mus musculus (camundongo albino suíço)/ Coelhos (albinos)
Nº de animais	1.900 Mus musculus (camundongo albino suíço)/ 81 Coelhos (albinos)
Peso/idade	17-22g Mus musculus (camundongo albino suíço)/ 1,5-2,5G (30 a 45 dias) Coelhos (albinos)
Sexo	M+F
Origem	Biotério IVB

Niterói, 21 de Dezembro de 2016

Claudio Matúrcio Vieira de Souza – CEUA Vital Brazil



	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCQ.C: 007/IB
		Aprovada 1ª edição: 11/2012 Edição nº: 004
	<b>Soro Ampolado</b>	Aprovado: 10/2018
		Próxima revisão: 10/2021 Página: 2/15
Este documento substitui: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed.003)		

**4.1.7 – Nitrogênio e Proteínas:** Máximo 0,30 g% de nitrogênio não protéico. Máximo 15% g% de proteínas. <sup>(1)</sup>  
<sup>(2)</sup>

#### 4.2 – Testes

##### 4.2.1 – Aspecto <sup>(1)</sup>

###### 4.2.1.1 – Materiais Necessários

**A1** – 3 tubos de ensaio;

**A2** – Solução de ácido clorídrico diluída (1:100);

**A3** – Solução de ácido clorídrico diluída (2:100);

**A4** – Solução de ácido clorídrico diluída (4:100);

**A5** – Solução de nitrato de prata 0,1 M;

**A6** – 3 pipetas graduadas de 5 mL;

**A7** – 1 pipeta graduada de 1 mL.

**4.2.1.2 – Técnica:** Pipetar para três tubos de ensaio de mesmo diâmetro, respectivamente, 5 mL de solução de ácido clorídrico diluída (1:100), 5 mL de solução de ácido clorídrico diluída (2:100) e 5 mL de solução de ácido clorídrico diluída (4:100). Adicionar em cada tubo 0,5 mL de solução de nitrato de prata 0,1 M e homogeneizar. Essas soluções correspondem a levemente turva, opalescente e turva, respectivamente, e são usadas como padrão. Pipetar, com o auxílio de pipeta graduada, 5,5 mL de amostra de soro em um tubo de ensaio de mesmo diâmetro. Comparar os padrões obtidos, observando-se os tubos em eixo vertical contra uma superfície escura. A amostra testada deve ser límpida ou levemente turva.

##### 4.2.2 – pH <sup>(2)</sup> <sup>(4)</sup>

###### 4.2.2.1 – Materiais Necessários

**A1** – Béquer de 25 mL;

**A2** – Pipeta graduada de 10 mL;

**A3** – Potenciômetro HACH (Patrimônio nº: 11280).

**4.2.2.2 – Técnica:** Transferir para béquer de 25 mL cerca de 10 mL da amostra e determinar o pH a 25 °C, Ver IT Potenciômetro HACH, NºDCQ.C: 030/EQ, na sua edição vigente.

**NOTA:** A determinação do pH deverá ser realizada separadamente em cada sublote.


##### 4.2.3 – Sólidos Totais <sup>(2)</sup> <sup>(5)</sup>

###### 4.2.3.1 – Materiais Necessários

**A1** – Pesa-filtro;

Elaborado por: _____ (rubricar)	Revisado por: _____ (rubricar)	Examinado por GQ.P: _____ (rubricar)	Aprovado por GQ.P: _____ (rubricar)
---------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------------	-------------------------------------------



	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCQ.C: 007/IB
	<b>Soro Ampolado</b>	Aprovada 1ª edição: 11/2012 Edição nº: 004 Aprovado: 10/2018 Próxima revisão: 10/2021 Página: 3/15

Este documento substitui: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed.003)

**A2** – Pipeta graduada de 5 mL;

**A3** – Dessecador;

**A4** – Estufa a 105°C (Patrimônio nº: 15831);

**A5** – Balança analítica (Patrimônio nº: 12686);

**A6** – Capela de exaustão;

**A7** – Banho-maria;

**A8** – Garra.

**4.2.3.2 – Técnica:** colocar o pesa-filtro com a tampa entreaberta em estufa a 105 °C por cerca de 1 hora. Retirar o pesa-filtro da estufa e colocar em dessecador por cerca de 30 minutos. Retirar o pesa-filtro do dessecador, pesar em balança analítica e anotar o peso. Com uma pipeta graduada, adicionar ao pesa-filtro 5,0 mL da amostra, tampar o pesa-filtro, pesar e anotar o peso. Em capela de exaustão, levar o pesa-filtro destampado ao banho-maria e deixar a amostra evaporar até a secura. Colocar o pesa-filtro com a tampa aberta em estufa a 105°C durante 1 hora. Retirar o pesa-filtro da estufa e colocá-lo tampado em dessecador por cerca de 30 minutos, pesar e anotar o peso. Repetir o procedimento até peso constante.

**NOTA:** Não tocar no pesa-filtro sem proteção. Utilizar uma garra.

**4.2.3.3 – Cálculos:**

$$X = B - A$$

$$Y = \frac{C \times 100}{X}$$

**Onde:**

**X** = peso da amostra

**B** = peso do pesa-filtro + amostra

**A** = peso do pesa-filtro vazio

**Y** = porcentagem de sólidos totais

**C** = (peso do pesa filtro + amostra dessecada) – (peso do pesa filtro vazio)

**4.2.4 – Fenol** <sup>(2) (6)</sup>

**4.2.4.1 – Materiais Necessários**

**A1** – 5 pipetas graduadas de 5 mL;


**A2** – Balão volumétrico de 10 mL, 50 mL e 200 mL;

**A3** – Proveta de 50 mL;

**A4** – Bastão de vidro;

**A5** – 4 pipetas graduadas de 1 mL;

Elaborado por: _____ (rubricar)	Revisado por: _____ (rubricar)	Examinado por GQ.P: _____ (rubricar)	Aprovado por GQ.P: _____ (rubricar)
---------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------------	-------------------------------------------

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCQ.C: 007/IB
	<b>Soro Ampolado</b>	Aprovada 1ª edição: 11/2012 Edição nº: 004
		Aprovado: 10/2018
		Próxima revisão: 10/2021
		Página: 4/15

Este documento substitui: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed.003)

**A6** – 2 pipetas volumétricas de 1 mL;

**A7** – Fenol RA;

**A8** – Tampão borato pH 9,0;

**A9** – Solução de 4-aminoantipirina 0,1 %;

**A10** – Solução de ferricianeto de potássio 5 %;

**A11** – Espectrofotômetro (Patrimônio nº: 11375).

#### 4.2.4.2 – Preparo das Soluções:

##### A1 – Tampão Borato pH 9,0

**A1.1 – Solução A:** Em um béquer de 1000 mL, adicionar 12,37 g de ácido bórico e 400 mL de água destilada. Aquecer até completa dissolução do sal, esfriar e adicionar 14,91 g de cloreto de potássio. Homogeneizar até sua completa dissolução. Transferir para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com água destilada.

**A1.2 – Solução B – Hidróxido de Sódio 0,2 N:** Dissolver, em balão volumétrico de 1000 mL, 8 g de hidróxido de sódio em 500 mL de água destilada isenta de dióxido de carbono. Após total dissolução, completar o volume com água destilada isenta de dióxido de carbono.

**A1.3 – Tampão Borato pH 9,0:** em balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 250 mL de solução A, 104 mL de solução B e completar o volume com água destilada. Verificar o pH no potenciômetro.

**A1.4 – 4 - aminoantipirina 0,1 % (preparar no momento do uso):** em balão volumétrico de 100 mL, dissolver 0,1 g de 4-aminoantipirina em cerca de 50 mL de tampão borato pH 9,0. Após total dissolução, completar o volume com tampão borato pH 9,0.

**A2 – Ferricianeto de Potássio 5 % (SR) (preparar no momento do uso):** em balão volumétrico de 100 mL, dissolver 5 g de ferricianeto de potássio em cerca de 50 mL de água destilada. Após completa dissolução, completar o volume com água destilada.


**A3 – Preparo do Padrão:** Pesar exatamente cerca de 160 mg de fenol RA. Transferir para balão volumétrico de 200 mL, adicionar cerca de 50 mL de água destilada, agitar até completa dissolução do fenol e completar o volume com água destilada (solução padrão estoque). Pipetar com pipeta volumétrica 1 mL da solução padrão estoque, levar para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com água destilada (solução padrão diluída).

**A4 – Preparo da Amostra (fazer em triplicata):** Pipetar, com pipeta volumétrica, 1 mL da amostra, levar para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água destilada (solução amostra diluída).

**A5 – Técnica:** Pipetar, para frascos diferentes, com pipeta volumétrica, 1 mL da solução amostra diluída, 1 mL da solução padrão diluída e 1 mL de água destilada (ensaio em branco). A cada frasco adicionar 5 mL de água destilada, 5 mL de tampão borato pH 9,0, 5 mL de 4-aminoantipirina 0,1 % e 5 mL de ferricianeto de potássio 5 %. Deixar ao abrigo da luz durante 10 minutos. Determinar a absorbância em espectrofotômetro a 546 nm.

Elaborado por: _____ (rubricar)	Revisado por: _____ (rubricar)	Examinado por GQ.P: _____ (rubricar)	Aprovado por GQ.P: _____ (rubricar)
---------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------------	-------------------------------------------

Users\luiseduardo\Downloads\007 PA.doc

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCQ.C: 007/IB
	<b>Soro Ampolado</b>	Aprovada 1ª edição: 11/2012 Edição nº: 004 Aprovado: 10/2018 Próxima revisão: 10/2021 Página: 5/15

Este documento substitui: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed.003)

#### 4.2.4.3 – Cálculos:

$$\text{mg/mL} = \frac{\text{Abs A}}{\text{Abs P}} \times \frac{\text{Pd}}{200} \times \frac{\text{Tp}}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{50}{1}$$

$$\text{g\%} = \frac{\text{mg/mL}}{10}$$

Onde:

**Abs A** = Absorbância da amostra.

**Abs P** = Absorbância do padrão.

**Pd** = Peso do padrão.

**Tp** = Teor do padrão.

#### 4.2.5 – Sulfato de Amônio <sup>(2) (7)</sup>

##### 4.2.5.1 – Materiais Necessários

**A1** – Sulfato de amônio;

**A2** – Espátula;

**A3** – Funil;

**A4** – 3 Balões volumétricos de 100 mL;

**A5** – Proveta de 50 mL;

**A6** – 2 Pipetas graduadas de 1 mL;

**A7** – 2 Pipetas volumétricas de 10 mL;

**A8** – 2 Tubos de ensaio;

**A9** – Pipeta volumétrica de 1 mL;

**A10** – Reagente de Nessler.


##### 4.2.5.2 – Preparo das Soluções

**A1 – Reagente de Nessler:** Pesar cerca de 143 g de hidróxido de sódio e dissolver em 700 mL de água destilada. Dissolver 50 g de iodeto de mercúrio vermelho e 40 g de iodeto de potássio em 200 mL de água destilada. Misturar as soluções e completar o volume para 1000 mL. Deixar decantar e usar o sobrenadante.

**A2 – Preparo do Padrão:** Pesar exatamente 200 mg de sulfato de amônio. Transferir para balão volumétrico de 100 mL, adicionar cerca de 50 mL de água destilada, agitar até completa dissolução do sulfato de amônio e completar o volume com água destilada (solução padrão estoque). Transferir com pipeta volumétrica 1 mL de solução padrão estoque para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada (solução padrão diluída). Transferir com pipeta volumétrica uma alíquota de 10 mL da solução padrão diluída para tubo de ensaio 16 mm x 160 mm.

Elaborado por: _____ (rubricar)	Revisado por: _____ (rubricar)	Examinado por GQ.P: _____ (rubricar)	Aprovado por GQ.P: _____ (rubricar)
---------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------------	-------------------------------------------

A:\Users\luseduardo\Downloads\007 PA.doc

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCQ.C: 007/IB
	<b>Soro Ampolado</b>	Aprovada 1ª edição: 11/2012 Edição nº: 004 Aprovado: 10/2018 Próxima revisão: 10/2021 Página: 6/15

Este documento substitui: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed.003)

**A3 – Preparo da Amostra (fazer em duplicata):** Transferir com pipeta volumétrica 1 mL da amostra para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada (solução amostra diluída). Transferir com pipeta volumétrica uma alíquota de 10 mL da solução amostra diluída para tubo de ensaio de 16 mm x 160 mm.

**4.2.5.3 – Técnica:** Adicionar 1 mL de reagente de Nessler aos tubos com a amostra e o padrão. Comparar a cor da amostra com a cor do padrão. A intensidade da cor da amostra deve ser igual ou menor do que a intensidade da cor do padrão.

#### 4.2.6 – Cloreto de Sódio <sup>(8)</sup>

##### 4.2.6.1 – Materiais Necessários

**A1** – Pipeta volumétrica de 5 mL;

**A2** – Erlenmeyer de 125 mL;

**A3** – Proveta de 50 mL;

**A4** – Pipeta graduada de 1 mL;

**A5** – Espátula;

**A6** – Bureta;

**A7** – Balões volumétricos de 100 e 1000 mL;

**A8** – Carbonato de cálcio;

**A9** – Cromato de potássio SR;

**A10** – Nitrato de Prata 0,1N (SV).

##### 4.2.6.2 – Preparo das Soluções

**A1 – Nitrato de Prata 0,1 N (SV):** Em balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 17,5 g de nitrato de prata. Dissolver em cerca de 500 mL de água destilada e completar o volume. Padronizar conforme descrito na IT Soluções Volumétricas, NºDCQ.C: 017/XX, na sua edição vigente.

**A2 – Cromato de Potássio (SR):** Em balão volumétrico de 100 mL, dissolver 10 g de cromato de potássio em cerca de 50 mL de água destilada. Após total dissolução, completar o volume com água destilada.


**4.2.6.3 – Técnica:** Transferir com pipeta volumétrica 5 mL de amostra para erlenmeyer de 125 mL. Adicionar cerca de 50 mL de água destilada, 5 gotas de cromato de potássio SR e cerca de 0,5 g de carbonato de cálcio. Titular com nitrato de prata 0,1 N (SV).

##### 4.2.6.4 – Cálculos:

$$g\% = \frac{V \times f_c \times 0,005845 \times 100}{V_a}$$

Elaborado por: _____ (rubricar)	Revisado por: _____ (rubricar)	Examinado por GQ.P: _____ (rubricar)	Aprovado por GQ.P: _____ (rubricar)
---------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------------	-------------------------------------------

I:\Users\luiseduardo\Downloads\007 PA.doc

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCQ.C: 007/IB
	<b>Soro Ampolado</b>	Aprovada 1ª edição: 11/2012 Edição nº: 004 Aprovado: 10/2018 Próxima revisão: 10/2021 Página: 7/15

Este documento substitui: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed.003)

Onde:

V = volume gasto, em mL, da solução de nitrato de prata 0,1 N (SV) na titulação da amostra.

fc = fator de correção da solução de nitrato de prata 0,1 N (SV).

Va = volume da amostra em mL.

**4.2.7 – Nitrogênio e Proteínas:** Seguir PA Nitrogênio, Nº DCQ.C: 005/IB, na sua edição vigente.

#### 4.3 – Liberação de Resultados

**4.3.1 –** Finalizadas as análises química e microbiológica, os analistas do DCQ.C e DCB.C (Biologia e Microbiologia) devem registrar os resultados da análise do Soro Ampolado no Boletim de Análise do Soro Ampolado (no anexo referente ao soro ampolado testado).

**4.3.2 –** As chefias do DCQ.C e do DCB.C (Microbiologia) devem avaliar os resultados da análise do Soro Ampolado, datar, assinar e carimbar.

**4.3.3 –** O responsável pelo DCQ.C deve encaminhar o Boletim de Análise do Soro Ampolado para o CQ.C para avaliação, parecer (aprovado ou reprovado) e assinatura.

**NOTA:** A entrada da amostra para análise, bem como a liberação da análise devem seguir o POP NºGC.C: 030/XX, na sua edição vigente.


#### 5 – ANEXOS

ANEXO	TÍTULO	ARQUIVAMENTO	
		TEMPO	LOCAL
A	Boletim de Análise do soro antibotrópico Ampolado	5 Anos	FTP
B	Boletim de Análise do soro anticrotálico Ampolado	5 Anos	FTP
C	Boletim de Análise do soro antiescorpiônico Ampolado	5 Anos	FTP
D	Boletim de Análise do soro antilatrodéctico Ampolado	5 Anos	FTP
E	Boletim de Análise do soro antirrábico Ampolado	5 Anos	FTP
F	Boletim de Análise do soro antitetânico Ampolado	5 Anos	FTP
G	Boletim de Análise do soro antibotrópico/ anticrotálico Ampolado	5 Anos	FTP
H	Boletim de Análise do soro antibotrópico/ antilaquéctico Ampolado	5 Anos	FTP


Elaborado por: _____	Revisado por: _____	Examinado por GQ.P: _____	Aprovado por GQ.P: _____
(rubricar)	(rubricar)	(rubricar)	(rubricar)

\\Users\luiseduardo\Downloads\007 PA.doc



	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCQ.C: 007/IB
	<b>Soro Ampolado</b>	Aprovada 1ª edição: 11/2012 Edição nº: 004 Aprovado: 10/2018 Próxima revisão: 10/2021 Página: 8/15


Este documento substitui: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed.003)

				
<b>GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE</b>				
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE QUÍMICO (DCQ.C)</b>				
<b>BOLETIM DE ANÁLISE DO PRODUTO AMPOLADO</b>				
<b>CÓDIGO: 51</b>	<b>soro antibotrópico (pentavalente)</b> <small>(REGISTRO MS Nº: 1.0407.0004.001-2)</small>			
<b>LOTE:</b>	<b>FAB.:</b>	<b>VAL.:</b>		
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE QUÍMICO</b>				
Teste	Unidade	Especificação*	Protocolo	Resultado
Aspecto	---	Solução límpida, incolor a levemente amarelada e livre de partículas visíveis.	---	
pH	---	6,00 - 7,00	---	
Proteínas	g%	Máximo 15	---	
Cloreto de Sódio	g%	0,70 - 0,90	---	
Fenol	g%	Máximo 0,35	---	
Sólidos Totais	g%	Máximo 20	---	
Sulfato de Amônio	g%	Máximo 0,2	---	
Nitrogênio Total	g%	Máximo 2,7	---	
Nitrogênio não Protéico	g%	Máximo 0,3	---	
Nitrogênio Protéico	g%	Máximo 2,4	---	
Volume Médio	mL	10,60 - 10,80	---	
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE BIOLÓGICO</b>				
Teste	Unidade	Especificação*	Protocolo	Resultado
Potência	mg/mL	Mínimo 5,0		
Pirógeno	---	Apirógeno**		
Esterilidade	---	Estéril		
<b>Observações:</b> *Especificação Interna IVB (informativo) **Teste com 03 coelhos: nenhum animal deve apresentar temperatura $\geq 0,5^{\circ}\text{C}$ Reteste com 05 coelhos: somente 03 dos 08 animais poderão apresentar variação $\geq 0,5^{\circ}\text{C}$ e o $\Sigma 8$ deve ser $\leq 3,3^{\circ}\text{C}$ .				
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE BIOLÓGICO</b>		<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE QUÍMICO</b>		<b>GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE</b>
<b>BIOLOGIA</b>	<b>MICROBIOLOGIA</b>			<input type="checkbox"/> APROVADO <input type="checkbox"/> REPROVADO
_____ Analista	_____ Analista	_____ Analista		_____ Gerência
_____ Chefia	_____ Chefia	_____ Chefia		


REFERÊNCIA: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed. 004)

**Anexo A**

<b>Elaborado por:</b> _____ (rubricar)	<b>Revisado por:</b> _____ (rubricar)	<b>Examinado por GQ.P:</b> _____ (rubricar)	<b>Aprovado por GQ.P:</b> _____ (rubricar)
----------------------------------------------	---------------------------------------------	---------------------------------------------------	--------------------------------------------------

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCQ.C: 007/IB Aprovada 1ª edição: 11/2012 Edição nº: 004
	<b>Soro Ampolado</b>	Aprovado: 10/2018 Próxima revisão: 10/2021 Página: 9/15

Este documento substitui: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed.003)

		<b>GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE</b>		
		<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE QUÍMICO (DCQ.C)</b>		
<b>BOLETIM DE ANÁLISE DO PRODUTO AMPOLADO</b>				
<b>CÓDIGO: 52</b>	<b>soro anticrotático</b> (REGISTRO MS Nº: 1.0407.0008.001-8)			
<b>LOTE:</b>	<b>FAB.:</b>	<b>VAL.:</b>		
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE QUÍMICO</b>				
Teste	Unidade	Especificação*	Protocolo	Resultado
Aspecto	---	Solução límpida, incolor a levemente amarelada e livre de partículas visíveis.	---	
pH	---	6,00 - 7,00	---	
Proteínas	g%	Máximo 15	---	
Cloreto de Sódio	g%	0,70 - 0,90	---	
Fenol	g%	Máximo 0,35	---	
Sólidos Totais	g%	Máximo 20	---	
Sulfato de Amônio	g%	Máximo 0,2	---	
Nitrogênio Total	g%	Máximo 2,7	---	
Nitrogênio não Protéico	g%	Máximo 0,3	---	
Nitrogênio Protéico	g%	Máximo 2,4	---	
Volume Médio	mL	10,60 - 10,80	---	
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE BIOLÓGICO</b>				
Teste	Unidade	Especificação*	Protocolo	Resultado
Potência	mg/mL	Mínimo 1,5		
Pirgênio	---	Apirógeno**		
Esterilidade	---	Estéril		
<b>Observações:</b>				
*Especificação interna IVB (informativo)				
**Teste com 03 coelhos: nenhum animal deve apresentar temperatura $\geq 0,5^{\circ}\text{C}$				
Reteste com 05 coelhos: somente 03 dos 08 animais poderão apresentar variação $\geq 0,5^{\circ}\text{C}$ e o $\Sigma$ deve ser $\leq 3,3^{\circ}\text{C}$ .				
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE BIOLÓGICO</b>		<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE QUÍMICO</b>		<b>GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE</b>
<b>BIOLOGIA</b>	<b>MICROBIOLOGIA</b>			<input type="checkbox"/> APROVADO <input type="checkbox"/> REPROVADO
_____ Analista	_____ Analista	_____ Analista		_____ Gerência
_____ Chefia	_____ Chefia	_____ Chefia		


REFERÊNCIA: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed. 004)

Anexo B


<b>Elaborado por:</b> _____ (rubricar)	<b>Revisado por:</b> _____ (rubricar)	<b>Examinado por GQ.P:</b> _____ (rubricar)	<b>Aprovado por GQ.P:</b> _____ (rubricar)
----------------------------------------------	---------------------------------------------	---------------------------------------------------	--------------------------------------------------

I:\Users\Iuseduardo\Downloads\007 PA.doc



	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCQ.C: 007/IB
	<b>Soro Ampolado</b>	Aprovada 1ª edição: 11/2012 Edição nº: 004 Aprovado: 10/2018 Próxima revisão: 10/2021 Página: 14/15

Este documento substitui: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed.003)

		<b>GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE</b>		
		<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE QUÍMICO (DCQ.C)</b>		
<b>BOLETIM DE ANÁLISE DO PRODUTO AMPOLADO</b>				
<b>CÓDIGO: 54</b>	<b>soro antibotrópico (pentavalente) e anticrotálico</b> <small>(REGISTRO MS Nº: 1.0407.0099.001-6)</small>			
<b>LOTE:</b>	<b>FAB.:</b>	<b>VAL.:</b>		
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE QUÍMICO</b>				
Teste	Unidade	Especificação*	Protocolo	Resultado
Aspecto	---	Solução límpida, incolor a levemente amarelada e livre de partículas visíveis.	---	
pH	---	6,00 - 7,00	---	
Proteínas	g%	Máximo 15	---	
Cloreto de Sódio	g%	0,70 – 0,90	---	
Fenol	g%	Máximo 0,35	---	
Sólidos Totais	g%	Máximo 20	---	
Sulfato de Amônio	g%	Máximo 0,2	---	
Nitrogênio Total	g%	Máximo 2,7	---	
Nitrogênio não Protéico	g%	Máximo 0,3	---	
Nitrogênio Protéico	g%	Máximo 2,4	---	
Volume Médio	mL	10,60 – 10,80	---	
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE BIOLÓGICO</b>				
Teste	Unidade	Especificação*	Protocolo	Resultado
Potência	mg/mL	Fração botrópica = Mínimo 5,0 Fração crotálica = Mínimo 1,5		
Pirôgeno	---	Apirógeno**		
Esterilidade	---	Estéril		
<b>Observações:</b>				
*Especificação Interna IVB (informativo)				
**Teste com 03 coelhos: nenhum animal deve apresentar temperatura $\geq 0,5^{\circ}\text{C}$				
Reteste com 05 coelhos: somente 03 dos 08 animais poderão apresentar variação $\geq 0,5^{\circ}\text{C}$ e o $\Sigma 8$ deve ser $\leq 3,3^{\circ}\text{C}$ .				
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE BIOLÓGICO</b>		<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE QUÍMICO</b>		<b>GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE</b>
<b>BIOLOGIA</b>	<b>MICROBIOLOGIA</b>			<input type="checkbox"/> APROVADO <input type="checkbox"/> REPROVADO
_____/_____/_____ Analista	_____/_____/_____ Analista	_____/_____/_____ Analista		_____/_____/_____ Gerência
_____ Chefia	_____ Chefia	_____ Chefia		

REFERÊNCIA: PA NºDCQ.C: 007/IB (Ed. 004)


Anexo G

Elaborado por: _____ (rubricar)	Revisado por: _____ (rubricar)	Examinado por GQ.P: _____ (rubricar)	Aprovado por GQ.P: _____ (rubricar)
---------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------------	-------------------------------------------

Users\luisduardo\Downloads\007 PA.doc



## 9.4. ANEXO 4. POP\_Pirogênio

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCB.C: 033/BI
	<b>Teste de Pirogênio</b>	Aprovada 1ª edição: 06/2002 Edição nº: 007 Aprovado: 11/2017 Próxima revisão: 11/2020 Página: 1/5

Este documento substitui: PA NºDCB.C: 033/BI (Ed.006)

### 1 – REFERÊNCIAS

Farmacopeia Brasileira, 5ª Edição, 2010 - Volume 2, p.229 a 230. <sup>(1)</sup>

FREITAS, J. C.B.R. *A reutilização de coelhos submetidos ao teste de pirogênio com soros hiperimunes sujeitos à Vigilância Sanitária*. 2008. 77 f. Tese (Mestrado Profissional) – PPGVS/INCQS – FIOCRUZ, Rio de Janeiro. 2008. <sup>(2)</sup>

### 2 – SIGLAS

BI – Biologia  
 DCB.C – Departamento de Controle Biológico – Diretoria Científica  
 GQ.P – Garantia da Qualidade – Presidência

### 3 – DEFINIÇÕES

#### 3.1 – Teste de Pirogênio

Teste realizado com a finalidade de detectar a presença de substâncias (pirogênios) que possam causar variação de temperatura corpórea em coelhos.

#### 3.2 – Pirogênio

Agente que causa elevação de temperatura. Os pirogênios podem ser exógenos, se originando de fontes como bactérias, vírus, fungos, materiais antigênicos e alguns medicamentos, ou endógenos, produzidos pelo organismo em resposta às infecções.

### 4 – PROCEDIMENTO

#### NOTAS:


- a) Na realização do teste, a temperatura da sala deve estar a  $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- b) Nas fases de plasma, concentrado a granel e diluição experimental requisitar 50 mL de amostra.
- c) Na fase produto acabado ampolado utilizar um "pool" de ampolas de cada lote ou sublote(s) envasado(s). O "pool" é realizado com sete ampolas para soros com volume de 10 mL e doze ampolas para soros com volume de 2 e 5 mL. A amostragem das ampolas para o referido teste segue o POP de Amostragem de Ampolas de Soros Hiperimunes, **POP NºCQ.C: 007/XX**, na sua edição vigente.
- d) Em caso de reteste utilizar um "pool" com o dobro das amostras anteriores.

#### 4.1 – Materiais Necessários

##### 4.1.1 – Amostra do soro a ser analisado;

Data:	Data:	Data:	Data:
Elaborado por:	Revisado por:	Examinado por GQ.P:	Aprovado por GQ.P:
<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
(rubricar e carimbar)	(rubricar e carimbar)	(rubricar e carimbar)	(rubricar e carimbar)

I:\Users\luiseduardo\Downloads\033 PA.doc

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCB.C: 033/BI
	<b>Teste de Pirogênio</b>	Aprovada 1ª edição: 06/2002 Edição nº: 007 Aprovado: 11/2017 Próxima revisão: 11/2020 Página: 2/5

Este documento substitui PA NºDCB.C: 033/BI (Ed.006)

- 4.1.2 – Coelhos albinos, adultos e sadios, pesando no mínimo 1500 g;
- 4.1.3 – Seringas descartáveis de 3 mL com agulhas hipodérmicas 0,7 x 25 mm estéreis (código IVB 787);
- 4.1.4 – Analisador de Pirogênio ELLAB, Modelo APT 75 (Patrimônio Nº: 01510) (ver IT Analisador de Pirogênio ELLAB, Modelo APT 75 (nº patrimônio 01510), **IT NºDCB.C: 005/BI**, na sua edição vigente);
- 4.1.5 – Estufa de Incubação (Patrimônio nº: 12691) (ver IT Operação, Utilização e Limpeza da Estufa de Incubação - Nova Ética (Patrimônio nº: 12691), **IT NºDCB.C: 104/BI**, na sua edição vigente);
- 4.1.6 – Álcool etílico 70% (ver IT Álcool Etilico 70%, **IT NºDCB.C: 148/BI**, na sua edição vigente);
- 4.1.7 – Algodão Hidrófilo (código IVB 877);
- 4.1.8 – Carrinhos para contenção em aço inox com seis divisórias.
- 4.1.9 – Coletor para material perfurocortante (código IVB 764);
- 4.1.10 – Fita adesiva;
- 4.1.11 – Protocolo do Teste de Pirogênio (**Anexo A**).

**4.2 – Técnica:**


- 4.2.1 – Aquecer a amostra em estufa a 37 °C ± 2 °C, por aproximadamente uma hora.
- 4.2.2 – Colocar os coelhos, individualmente nas divisórias do carrinho de contenção de maneira que fiquem em postura natural de repouso.
- NOTA:** Considerar cada três animais um grupo que receberá um produto distinto.
- 4.2.3 – Introduzir o termoelemento no reto do animal, atingindo uma profundidade de aproximadamente 6 cm, fixando-o com fita adesiva na base da cauda.
- 4.2.4 – Aguardar por 1 hora para o início da inoculação dos animais monitorando as temperaturas registradas pelo analisador de pirogênio.

**NOTAS:**

- a) Não utilizar animais com temperatura superior a 39,8 °C e inferior a 38,5 °C.
- b) Usar no teste somente os animais cujas temperaturas não desviem mais de 1,0 °C um do outro num mesmo grupo de três animais.
- 4.2.5 – Passar um chumaço de algodão umedecido em álcool etílico 70% na orelha de cada coelho.
- 4.2.6 – Agitar as amostras ampoladas, em “Vortex” por ± 10 minutos antes da inoculação.
- 4.2.7 – Inocular o produto sob teste, através da veia marginal da orelha de cada animal, após uma hora de teste.

**NOTA:** Para soros hiperimunes, inocular 1,0 mL/kg de peso vivo.

Elaborado por: _____ (rubricar)	Revisado por: _____ (rubricar)	Examinado por GQ.P: _____ (rubricar)	Aprovado por GQ.P: _____ (rubricar)
---------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------------	-------------------------------------------

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCB.C: 033/BI
		Aprovada 1ª edição: 06/2002
	<b>Teste de Pirogênio</b>	Edição nº: 007
		Aprovado: 11/2017
		Próxima revisão: 11/2020
Página: 3/5		

Este documento substitui PA NºDCB.C: 033/BI (Ed.006)

**4.2.8** – Considerar como “TC1” a temperatura corpórea impressa pelo analisador 35 minutos após a colocação do termoelemento (Time 0:35).

**4.2.9** – Considerar como “TC2” a temperatura corpórea impressa pelo analisador 30 minutos após registro da “TC1” (Time 1:05).

**4.2.10** – Considerar a temperatura controle “TC” como sendo a média aritmética das duas temperaturas registradas:

$$TC = \frac{TC1 + TC2}{2}$$

**4.2.11** – Considerar as temperaturas corpóreas impressas na 1ª (Time 2:05), 2ª (Time 3:05) e 3ª (Time 4:05) hora após a inoculação.

**4.2.12** – Caso o equipamento não imprima a média de variação de temperatura, calcular as variações de temperaturas informadas pelo registrador gráfico do equipamento pela diferença entre a maior temperatura obtida após a administração do produto (citadas no **item 4.2.11**) e a temperatura controle “TC”.

### 4.3 – Avaliação dos Resultados

**4.3.1** – Para que o produto testado seja considerado como satisfatório, a seguinte condição deve ser obrigatoriamente preenchida:

#### 4.3.1.1 – Soros Hiperimunes

Nenhum animal deve apresentar um aumento de temperatura igual ou superior a 0,5 °C.

### 4.4 – Reteste

**4.4.1** – Se a condição exigida para o primeiro teste não for preenchida (**item 4.3.1.1**), um reteste deve ser realizado com a utilização de (05) cinco outros coelhos.

### 4.5 – Avaliação dos Resultados após Reteste

#### 4.5.1 – Soros Hiperimunes


No máximo (03) três dos (08) oito animais (3 do primeiro teste e 5 do reteste) podem apresentar variações individuais de temperatura igual ou superior a 0,5 °C. O somatório das variações individuais de temperatura dos animais não deve exceder a 3,3 °C.

**4.6** – Finalizado o teste, preencher o Protocolo do Teste de Pirogênio (**Anexo A**), para cada produto analisado e manter arquivado pelo período de cinco anos, junto com o registro gráfico emitido pelo equipamento.

**NOTA:** Anualmente, é realizado teste de sensibilidade das colônias dos coelhos frente a uma endotoxina referência utilizada em diluições seriadas de 1,0 ng/mL; 1,5 ng/mL e 2,0 ng/mL. Caso a diluição de 1,0 ng/mL já apresente resposta, não é necessária a inoculação das demais.

Elaborado por: _____ (rubricar)	Revisado por: _____ (rubricar)	Examinado por G.Q.P.: _____ (rubricar)	Aprovado por G.Q.P.: _____ (rubricar)
---------------------------------------	--------------------------------------	----------------------------------------------	---------------------------------------------

I:\Users\luiseduardo\Downloads\033 PA.doc


	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCB.C: 033/BI
		Aprovada 1ª edição: 06/2002
	<b>Teste de Pirogênio</b>	Edição nº: 007
		Aprovado: 11/2017
		Próxima revisão: 11/2020
Este documento substitui PA NºDCB.C: 033/BI (Ed.006)		Página: 4/5

## 5 – ANEXOS


ANEXO	TÍTULO	ARQUIVAMENTO	
		TEMPO	LOCAL
A	Protocolo do Teste de Pirogênio	5 anos	DCB.C/BI

Elaborado por: _____	Revisado por: _____	Examinado por GQ.P: _____	Aprovado por GQ.P: _____
(rubricar)	(rubricar)	(rubricar)	(rubricar)

./Users/luiseduardo/Downloads/033 PA.doc

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCB.C: 033/BI
		Aprovada 1ª edição: 06/2002
	<b>Teste de Pirogênio</b>	Edição nº: 007
		Aprovado: 11/2017
		Próxima revisão: 11/2020
		Página: 5/5

Este documento substitui PA NºDCB.C: 033/BI (Ed.006)

	<b>CONTROLE DA QUALIDADE</b>	
	<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE BIOLÓGICO (BIOLOGIA)</b>	
<b>Protocolo do Teste de Pirogênio</b>		
<b>Produto:</b>		
<b>Lote:</b>	<b>Frasco:</b>	
<b>Protocolo:</b>	<b>Data:</b>	
<b>Número do coelho</b>	<b>Peso (g)</b>	
<b>Resultado:</b>		
<b>Analista</b> (nome legível):		<b>Assinatura:</b>


REFERÊNCIA: PA NºDCB.C: 033/BI (Ed. 007)

**ANEXO A**

<b>Elaborado por:</b> _____	<b>Revisado por:</b> _____	<b>Examinado por GQ.P:</b> _____	<b>Aprovado por GQ.P:</b> _____
(rubricar)	(rubricar)	(rubricar)	(rubricar)

/Users/luiseduardo/Downloads/033 PA.doc

## 9.5. ANEXO 5. POTÊNCIA DOS SOROS ANTIPEÇONHENTOS

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCB.C: 042/BI
	<b>Potência de Soros Antipeçonhentos</b>	Aprovada 1ª edição: 11/2003
		Edição nº: 007
		Aprovado: 11/2017
		Próxima revisão: 11/2020
		Página: 1/4

Este documento substitui: PA NºDCB.C: 042/BI (Ed.006)

### 1 – REFERÊNCIAS

Farmacopeia Brasileira, 5ª Edição, 2010 - Volume 2, p.1289 a 1295. <sup>(1)</sup>

Portaria Nº 174, de 11 de novembro de 1996, publicada no DOU de 12/11/1996, Ministério da Saúde. <sup>(2)</sup>

### 2 – SIGLAS

BI – Biologia  
 DCB.C – Departamento de Controle Biológico – Diretoria Científica  
 DOU – Diário Oficial da União  
 GQ.P – Garantia da Qualidade – Presidência

### 3 – DEFINIÇÕES

#### 3.1 – Potência <sup>(1)</sup>

Prova de atividade dos soros específicos (antipeçonhentos) baseando-se em uma reação de soro neutralização "in vitro".

#### 3.2 – Soroneutralização <sup>(1)</sup>

Processo que determina a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50% - DE<sub>50</sub>) para proteger os camundongos albinos suíços contra os efeitos letais de uma dose fixa de veneno.

### 4 – PROCEDIMENTO

#### 4.1 – Materiais Necessários

4.1.1 – Amostra do soro a ser analisado;

4.1.2 – Veneno de Referência com DL<sub>50</sub> (dose letal 50%) conhecida;

4.1.3 – Solução salina 0,85% estéril (seguir IT Solução Salina 0,85%, IT NºDCB.C: 097/BI, na sua edição vigente);

4.1.4 – Estufa de Incubação (Patrimônio nº: 12691) (ver IT Operação, Utilização e Limpeza da Estufa de Incubação - Nova Ética (Patrimônio nº: 12691), IT NºDCB.C: 104/BI, na sua edição vigente);

4.1.5 – Tubos de ensaio esterilizados;

4.1.6 – Frascos estéreis de 10, 25 e 100 mL

4.1.7 – Seringas descartáveis de 3 mL com agulhas hipodérmicas 0,7 x 25 mm estéreis (código IVB 787);

<b>Data:</b>	<b>Data:</b>	<b>Data:</b>	<b>Data:</b>
<b>Elaborado por:</b>	<b>Revisado por:</b>	<b>Examinado por GQ.P:</b>	<b>Aprovado por GQ.P:</b>
(rubricar e carimbar)	(rubricar e carimbar)	(rubricar e carimbar)	(rubricar e carimbar)

I:\Users\Iuiseduardo\Downloads\042 PA.doc



	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCB.C: 042/BI
		Aprovada 1ª edição: 11/2003
	<b>Potência de Soros Antipeçonhentos</b>	Edição nº: 007
		Aprovado: 11/2017
		Próxima revisão: 11/2020
		Página: 2/4

Este documento substitui PA NºDCB.C: 042/BI (Ed.006)

**4.1.8** – Micropipetadores de 20-200 µL (Patrimônio nº: 12538), 100-1000 µL (Patrimônio nº: 07818), 0,5-5 mL (Patrimônio nº: 12724) e 1-10 mL (Patrimônio nº: 12723);

**4.1.9** – Ponteiras;

**4.1.10** – Parafilm;

**4.1.11** – Estante para tubos;

**4.1.12** – Agitador de tubos (Patrimônio nº: 11346);

**4.1.13** – Dispensador de material contaminado;

**4.1.14** – Camundongos albinos suíços de 18 a 22 g.

**4.1.15** – Caixa de polipropileno (30x19x12cm) com tampa de aço inoxidável e bebedouro para acondicionamento de camundongos;

**4.1.16** – Equipamento de proteção individual: luva descartável (código IVB 792), máscara descartável (código IVB 737), touca descartável (código IVB 741), avental descartável (código IVB 718) e óculos de proteção;

**4.1.17** – Coletor para material perfurocortante (código IVB 764);

**4.1.18** – Protocolo de Determinação da Potência de Soros Antipeçonhentos em Camundongos (**Anexo A**).

#### **4.2 – Técnica:**

**NOTA:** Na fase de soro ampolado é realizado um **POOL**, usando uma ampola de cada sublote.

**4.2.1** – Distribuir volumes decrescentes de soro sob teste através de diluições sucessivas, utilizando um fator de diluição constante, de 1,2 a 1,5, dependendo da análise, de maneira que o volume final seja idêntico em todos os tubos.

**4.2.2** – Calcular a dose efetiva intermediária (a 2ª dose): De onde eu tiro as informações:

$$DE_{50} = DL_{50} \times (5 - 1)/P$$

**Onde:**

**P** = potência rotulada do soro

**DL<sub>50</sub>** = dose letal 50% do lote do veneno trabalhado que foi anteriormente verificado (ver IT Dose Letal 50% de Veneno, **IT NºDCB.C: 041/BI**, na sua edição vigente).

**4.2.3** – As demais doses:

Acima – multiplicar pelo fator de diluição utilizado (**item 4.2.1**)


Abaixo – dividir pelo fator de diluição utilizado (**item 4.2.1**)

**NOTA:** O número de doses e o fator de diluição são determinados conforme a faixa de potência a ser pesquisada e a quantidade de veneno disponível para ser usado na dosagem.

**4.2.4** – Calcular o volume total de soro multiplicando-se a dose pelo número de camundongos a serem inoculados.

Elaborado por:  (rubricar)	Revisado por:  (rubricar)	Examinado por GQ.P:  (rubricar)	Aprovado por GQ.P:  (rubricar)
----------------------------------	---------------------------------	---------------------------------------	--------------------------------------

/Users/fulseduardo/Downloads/042 PA.doc

	<b>PROCEDIMENTO ANALÍTICO</b>	NºDCB.C: 042/BI
		Aprovada 1ª edição: 11/2003
	<b>Potência de Soros Antipeçonhentos</b>	Edição nº: 007
		Aprovado: 11/2017
		Próxima revisão: 11/2020
		Página: 3/4

Este documento substitui PA NºDCB.C: 042/BI (Ed.006)

**4.2.5** – Adicionar solução salina 0,85 % estéril de maneira que o volume final da solução seja idêntico em todos os tubos.

**4.2.6** – Distribuir nos tubos um volume fixo de veneno de modo que cada camundongo receba 5 DL<sub>50</sub> veneno (dose desafio).

**4.2.7** – Calcular o volume de veneno:

$$\text{Volume de Veneno} = 5 \times \text{DL}_{50} \text{ de veneno} \times \text{n}^{\circ} \text{ de camundongos}$$

**4.2.8** – Homogeneizar os tubos.

**4.2.9** – Incubar os tubos em estufa a 37 °C durante 60 minutos.

**4.2.10** – Após incubação, inocular, 0,5 mL por via intraperitoneal, de 10 camundongos albinos suíços para cada diluição.

**4.2.11** – Observar os animais até 48 horas, após a inoculação, e registrar o número de camundongos vivos em cada diluição no Protocolo de Determinação da Potência de Soros Antipeçonhentos em Camundongos (**Anexo A**).

**4.2.12** – Determinar a dose de soro (mg/mL) que protege 50% dos animais (dose efetiva 50%), pelo método Probit em computador.

**4.2.13** – Calcular a potência do soro, em mg/mL, segundo a expressão:

$$\text{Potência (mg/mL)} = \frac{T_v - 1}{DE_{50}} \times \text{DL}_{50} \text{ de Veneno Referência}$$

Onde:

T<sub>v</sub> = número de DL<sub>50</sub> de desafio

DE<sub>50</sub> = dose que protege 50% dos animais, calculada por Probit

DL<sub>50</sub> = dose de veneno referência que mata 50% dos animais

**NOTAS:**

a) A potência dos soros deve ser no mínimo 5 mg/mL para soro antibotrópico, 1,5 mg/mL para soro anticrotático, 3 mg/mL para soro antilaquéutico e 1,0 mg/mL para soro antiescorpiônico.

b) A faixa de resposta produzida (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada, formando a curva de regressão que deve apresentar relação linear.

c) Os limites de confiança não devem ser amplos, indicando melhor precisão do ensaio, quanto menores forem os seus limites.

## 5 – ANEXOS

ANEXO	TÍTULO	ARQUIVAMENTO	
		TEMPO	LOCAL
A	Protocolo de Determinação da Potência de Soros Antipeçonhentos em Camundongos	NA	NA


Elaborado por: _____ (rubricar)	Revisado por: _____ (rubricar)	Examinado por GQ.P: _____ (rubricar)	Aprovado por GQ.P: _____ (rubricar)
------------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------------------	----------------------------------------

I:\Users\luiseduardo\Downloads\042\_PA.doc





## 9.6. ANEXO 6 Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes

	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>	NºGC.C: 014/XX
		Aprovada 1ª edição: 12/2002
<b>Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes</b>		Edição nº: 005
		Aprovado: 09/2014
		Próxima revisão: 09/2017
		Página: 1/11

<b>SUMÁRIO</b>	<b>Páginas</b>
<b>1 – OBJETIVO</b>	1/11
<b>2 – CAMPO DE APLICAÇÃO</b>	1/11
<b>3 – REFERÊNCIAS</b>	1/11
<b>4 – SIGLAS</b>	1/11
<b>5 – DEFINIÇÕES</b>	2/11
<b>6 – RESPONSABILIDADES</b>	2/11
<b>7 – MATERIAIS NECESSÁRIOS</b>	2/11
<b>8 – PROCEDIMENTO</b>	2/11
<b>9 – ANEXOS</b>	5/11
<b>A – Especificações</b>	5/11
<b>B, C, D, E, F e G – Tabelas de Resultados</b>	6 a 11/11
<b>1 – OBJETIVO</b>	
Estabelecer procedimento para realização do teste de estabilidade dos soros hiperimunes produzidos pelo IVB.	
<b>2 – CAMPO DE APLICAÇÃO</b>	
Este POP destina-se à GC.C, ao DCB.C (Biologia e Microbiologia) e ao DCQ.C.	
<b>3 – REFERÊNCIAS</b>	
RDC Nº 50, de 20 de setembro de 2011 – ANVISA, republicada em 20 de maio de 2013. <sup>(1)</sup>	
Farmacopeia Brasileira, 5ª edição, volume II, p. 722. <sup>(2)</sup>	
Resolução RE nº 1, de 29 de julho de 2005. <sup>(3)</sup>	
WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins – 2010. <sup>(4)</sup>	
<b>4 – SIGLAS</b>	
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária	
BI – Biologia	
DCB.C – Departamento de Controle Biológico – Diretoria Científica	
DCQ.C – Departamento de Controle Químico – Diretoria Científica	
GC.C – Gerência de Controle da Qualidade – Diretoria Científica	
GQ.P – Garantia da Qualidade – Presidência	
IB – Imunobiológico	
IVB – Instituto Vital Brazil	
MB - Microbiologia	
PA – Procedimento Analítico	
POP – Procedimento Operacional Padrão	
RDC – Resolução da Diretoria Colegiada	

Elaborado por:	Revisado por:	Examinado por GQ.P:	Aprovado por:
_____	_____	_____	_____

/Users/luischardo/Desktop/TUDO DOUTORADO/doutorado tudo/014 XX ESTUDO DE ESTABILIDADE DE SOROS HIPERIMUNES (Ed 005).doc



## 5 – DEFINIÇÕES

### 5.1 – Estudo de Estabilidade Acelerado <sup>(1)</sup>

Estudo projetado para acelerar as degradações químicas, biológicas e/ou mudanças físicas, de um produto farmacêutico, em condições forçadas de armazenamento.

### 5.2 – Estudo de Estabilidade de Longa Duração <sup>(1)</sup>

Estudo projetado para avaliação das características físicas, químicas, biológicas e microbiológicas de um produto farmacêutico durante e, opcionalmente, depois do prazo de validade esperado. Os resultados são usados para estabelecer ou confirmar o prazo de validade estipulado e recomendar as condições de armazenamento.

### 5.3 – Estudo de Acompanhamento <sup>(1)</sup>

Estudo de estabilidade realizado para assegurar que o produto farmacêutico mantém suas características físicas, químicas, biológicas, e microbiológicas conforme os resultados obtidos nos estudos de estabilidade de longa duração.

### 5.4 – Soros Hiperimunes <sup>(2)</sup>

Preparações contendo imunoglobulinas purificadas, de origem animal, que neutralizam especificamente toxinas bacterianas, bactérias, vírus, ou componentes tóxicos de venenos de uma ou mais espécies de animais peçonhentos.

## 6 – RESPONSABILIDADES

É de responsabilidade dos analistas do DCB.C e DCQ.C e do responsável pela GC.C, o correto cumprimento deste POP, assim como sua revisão e atualização, quando necessário.

## 7 – MATERIAIS NECESSÁRIOS

7.1 – Ampolas de cada tipo de soro de 3 lotes consecutivos em quantidade suficiente para realização dos testes preconizados para os produtos;

7.2 – Geladeira com temperatura controlada a  $5 \pm 3^\circ\text{C}$  (**Patrimônio nº: 07586**);

7.3 – Estufa de incubação com temperatura controlada a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  (**Patrimônio nº: 07377**).

## 8 – PROCEDIMENTO

8.1 – Amostrar 108 ampolas de 2 mL ou 5 mL e 90 ampolas de 10 mL para o Estudo de Estabilidade Acelerado e Estudo de Estabilidade de Longa Duração. E 36 ampolas de 2 mL ou 5 mL e 30 ampolas de 10 mL para o Estudo de Estabilidade de Acompanhamento, de cada lote, de 3 lotes consecutivos.

### 8.2 – Plano de Estudo de Estabilidade Acelerado

8.2.1 – Armazenar 24 ampolas de 2 mL ou 5 mL e 20 ampolas de 10 mL, em sua embalagem primária, a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , durante seis meses, com análises em 03 e 06 meses, de acordo com o cronograma abaixo de retirada de amostras.

**NOTA:** As análises do tempo 0 são realizadas na liberação do produto e registradas nas tabelas de resultados.



**8.2.2 – Cronograma de Retirada de Amostras para Estudo de Estabilidade Acelerado**

TEMPO	AMPOLA 2 mL ou 5 mL	AMPOLA 10 mL
03 meses	12 unidades	10 unidades
06 meses	12 unidades	10 unidades
TOTAL	24 unidades	20 unidades

**8.2.3 – Testes Realizados**

**8.2.3.1** – Realizar nos tempos 03 meses e 06 meses o teste potência, inocuidade e os testes físico-químicos de aspecto, pH, nitrogênio total, nitrogênio protéico, nitrogênio não protéico, proteínas e fenol.

**8.2.3.2** – Registrar os dados obtidos em 0, 03 e 06 meses na Tabela de Resultados Biológicos e Microbiológicos e na Tabela de Resultados Físico-Químicos (**Ver Anexos B e C, respectivamente**), comparando-os com as especificações de cada produto (**Ver Anexo A**).

**NOTA:** Após o registro dos dados, enviar as Tabelas de Resultados à GQ.P.

**8.3 – Plano de Estudo de Estabilidade de Longa Duração**

**8.3.1** – Armazenar 84 ampolas de 2 mL ou 5 mL e 70 ampolas de 10 mL, em sua embalagem primária, a  $5 \pm 3$  °C, durante 36 meses, com análises em 03, 06, 09, 12, 18, 24 e 36 meses, de acordo com o cronograma abaixo de retirada de amostras.

**NOTA:** As análises do tempo 0 são realizadas na liberação do produto e registradas na tabela de resultados.

**8.3.2 – Cronograma de Retirada de Amostras para Estabilidade de Longa Duração**

TEMPO	AMPOLA 2 mL ou 5 mL	AMPOLA 10 mL
03 meses	12 unidades	10 unidades
06 meses	12 unidades	10 unidades
09 meses	12 unidades	10 unidades
12 meses	12 unidades	10 unidades
18 meses	12 unidades	10 unidades
24 meses	12 unidades	10 unidades
36 meses	12 unidades	10 unidades
TOTAL	84 unidades	70 unidades

**8.3.3 – Testes Realizados**

**8.3.3.1** – Realizar nos tempos 03, 06, 09, 12, 18, 24 e 36 meses o teste potência, inocuidade e os testes físico-químicos de aspecto, pH, nitrogênio total, nitrogênio protéico, nitrogênio não protéico, proteínas e fenol.

**8.3.3.2** – Registrar os dados obtidos em 0, 03, 06, 09, 12, 18, 24 e 36 meses na Tabela de Resultados Biológicos e Microbiológicos e na Tabela de Resultados Físico-Químicos (**Ver Anexos D e E, respectivamente**), comparando-os com as especificações de cada produto (**Ver Anexo A**).

**NOTA:** Após o registro dos dados, enviar as Tabelas de Resultados à GQ.P.

**8.4 – Plano de Estudo de Estabilidade de Acompanhamento**

**NOTAS:**

a) O estudo de acompanhamento será realizado após a conclusão do estudo de estabilidade de longa duração.



b) A amostragem deve seguir os seguintes parâmetros:

- Um lote anual, para produção acima de 15 lotes/ano;
- Um lote a cada 2 anos, produção abaixo ou igual de 15 lotes/ano.

c) As análises do tempo 0 são realizadas na liberação do produto e registradas na tabela de resultados.

**8.4.1** – Armazenar 36 ampolas de 2 mL ou 5 mL e 30 ampolas de 10 mL, em sua embalagem primária, a  $5 \pm 3$  °C, durante 36 meses, com análises em 12, 24 e 36 meses, de acordo com o cronograma abaixo de retirada de amostras.

**8.4.2 – Cronograma de Retirada de Amostras para Estabilidade de Acompanhamento**

TEMPO	AMPOLA 2 mL ou 5 mL	AMPOLA 10 mL
12 meses	12 unidades	10 unidades
24 meses	12 unidades	10 unidades
36 meses	12 unidades	10 unidades
TOTAL	36 unidades	30 unidades

**8.4.3 – Testes Realizados**

**8.4.3.1** – Realizar nos tempos 12, 24 e 36 meses os testes de potência e inocuidade e os testes físico-químicos de aspecto, pH, fenol, proteínas, nitrogênio total, nitrogênio protéico e nitrogênio não protéico.

**8.4.3.2** – Registrar os dados obtidos na Tabela de Resultados Biológicos e Microbiológicos e na Tabela de Resultados Físico-Químicos (**Ver Anexos F e G, respectivamente**), comparando-os com as especificações de cada produto (**Ver Anexo A**).

**NOTAS:**

- a) Após o registro dos dados, enviar as Tabelas de Resultados à GQ.P.
- b) Ao término do estudo será registrado no campo **OBSERVAÇÕES** de cada tabela, a conclusão do mesmo.



## 9 – ANEXOS

DIRETORIA CIENTÍFICA  
GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE

## ESPECIFICAÇÕES

TESTES	SOROS							
	antibotrópico	anticrotálico	antibotrópico/ crotálico	antibotrópico/ laquélico	antirrábico	antitetânico	anti latrodéctico	anti escorpiônico
ASPECTO	Sol. límpida, incolor ou ligeiramente amarelada, isenta de grumos ou partículas.	Sol. límpida, incolor ou ligeiramente amarelada, isenta de grumos ou partículas.	Sol. límpida, incolor ou ligeiramente amarelada, isenta de grumos ou partículas.	Sol. límpida, incolor ou ligeiramente amarelada, isenta de grumos ou partículas.	Sol. límpida, incolor ou ligeiramente amarelada, isenta de grumos ou partículas.	Sol. límpida, incolor ou ligeiramente amarelada, isenta de grumos ou partículas.	Sol. límpida, incolor ou ligeiramente amarelada, isenta de grumos ou partículas.	Sol. límpida, incolor ou ligeiramente amarelada, isenta de grumos ou partículas.
pH	6,0 a 7,0	6,0 a 7,0	6,0 a 7,0	6,0 a 7,0	6,0 a 7,0	6,0 a 7,0	6,0 a 7,0	6,0 a 7,0
FENOL	Máximo 0,35 g%	Máximo 0,35 g%	Máximo 0,35 g%	Máximo 0,35 g%	Máximo 0,35 g%	Máximo 0,35 g%	Máximo 0,35 g%	Máximo 0,35 g%
PROTEÍNAS	Máximo 15 g%	Máximo 15 g%	Máximo 15 g%	Máximo 15 g%	Máximo 15 g%	Máximo 15 g%	Máximo 15 g%	Máximo 15 g%
NITROGÊNIO TOTAL	Máximo 2,7 g%	Máximo 2,7 g%	Máximo 2,7 g%	Máximo 2,7 g%	Máximo 2,7 g%	Máximo 2,7 g%	Máximo 2,7 g%	Máximo 2,7 g%
NITROGÊNIO PROTÉICO	Máximo 2,4 g%	Máximo 2,4 g%	Máximo 2,4 g%	Máximo 2,4 g%	Máximo 2,4 g%	Máximo 2,4 g%	Máximo 2,4 g%	Máximo 2,4 g%
NITROGÊNIO NÃO PROTÉICO	Máximo 0,3 g%	Máximo 0,3 g%	Máximo 0,3 g%	Máximo 0,3 g%	Máximo 0,3 g%	Máximo 0,3 g%	Máximo 0,3 g%	Máximo 0,3 g%
POTÊNCIA	≥ 5,0 mg/mL	≥1,5 mg/mL	≥5,0 mg/mL ≥1,5 mg/mL	≥5,0 mg/mL ≥3,0 mg/L	≥200 UI/mL	≥1000 UI/mL	≥150 DL <sub>50</sub>	≥1,0 mg/mL
INOCUIDADE	Atóxico	Atóxico	Atóxico	Atóxico	Atóxico	Atóxico	Atóxico	Atóxico
ESTERILIDADE	Estéril	Estéril	Estéril	Estéril	Estéril	Estéril	Estéril	Estéril
PIROGÊNIO	Apirógeno	Apirógeno	Apirógeno	Apirógeno	Apirógeno	Apirógeno	Apirógeno	Apirógeno

## Anexo A





DIRETORIA CIENTÍFICA

GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE

ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADO DE SOROS HIPERIMUNES

TABELA DE RESULTADOS BIOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS

PRODUTO:

LOTE: \_\_\_\_\_

TAMANHO DO LOTE: \_\_\_\_\_ AMPOLAS

FABRICAÇÃO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

VALIDADE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

EMBALAGEM PRIMÁRIA:

FABRICANTE DO PRINCÍPIO ATIVO: Instituto Vital Brazil

CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM: 25 ± 2° C

DATA DE INÍCIO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

DATA DE TÉRMINO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

PLANO DE ESTUDO: Descrito no Método Analítico (I).

MÉTODOS ANALÍTICOS:

I – Procedimento de Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes (POP NºGC.C: 014/XX – Edição 005).

II – Procedimentos: Dosagem do SAT (PA NºDCB.C: 049/BI), Potência do SAR (PA NºDCB.C:044/BI), Potência de Soros antipeçonhentos (PA NºDCB.C: 042/BI), Inocuidade (Toxicidade Inespecífica) (PA NºDCB.C: 045/BI), Teste de Esterilidade (PA NºDCB.C: 111/MB), Teste de Pirogênio (NºDCB.C: 033/BI).

TEMPO (MESES)	DATA (mês/ano)	POTÊNCIA (_____)	INOCUIDADE (ATÓXICO)	ESTERILIDADE (ESTÉRIL)	PIROGÊNIO (APIRÓGENO)
0					
3				---	---
6				---	---

OBSERVAÇÕES:

DCB.C: \_\_\_\_\_

GC.C: \_\_\_\_\_

Anexo B



## Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes

NºGC.C: 014/XX

Página: 7/11



DIRETORIA CIENTÍFICA

GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE

ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADO DE SOROS HIPERIMUNES

TABELA DE RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS

PRODUTO:

LOTE: \_\_\_\_\_

TAMANHO DO LOTE: \_\_\_\_\_ AMPOLAS

FABRICAÇÃO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

VALIDADE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

EMBALAGEM PRIMÁRIA:

FABRICANTE DO PRINCÍPIO ATIVO: Instituto Vital Brazil

CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM: 25 ± 2° C

DATA DE INÍCIO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

DATA DE TÉRMINO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

PLANO DE ESTUDO: Descrito no Método Analítico (I).

MÉTODOS ANALÍTICOS:

I – Procedimento de Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes (POP NºGC.C: 014/XX – Edição 005).

II – Procedimentos Analíticos de Soros (PA NºDCQ.C: 005/IB e 007/IB).

TEMPO (MESES)	DATA (mês/ano)	ASPECTO	pH (6,0 a 7,0)	FENOL (Max. 0,35 g%)	PROTEÍNAS (Max. 15 g%)	NITROGÊNIO NÃO PROTÉICO (Máximo 0,3 g%)	NITROGÊNIO PROTÉICO (Máximo 2,4 g%)	NITROGÊNIO TOTAL (Máximo 2,7g%)
0								
3								
6								

OBSERVAÇÕES:

DCQ.C: \_\_\_\_\_

GC.C: \_\_\_\_\_

**Anexo C**





## Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes

NºGC.C: 014/XX

Página: 8/11



DIRETORIA CIENTÍFICA

GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE

ESTUDO DE ESTABILIDADE DE LONGA DURAÇÃO DE SOROS HIPERIMUNES

TABELA DE RESULTADOS BIOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS

PRODUTO:

LOTE: \_\_\_\_\_

TAMANHO DO LOTE: \_\_\_\_\_ AMPOLAS

FABRICAÇÃO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

VALIDADE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

EMBALAGEM PRIMÁRIA:

FABRICANTE DO PRINCÍPIO ATIVO: Instituto Vital Brazil

CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM:  $5 \pm 3^{\circ} \text{C}$ 

DATA DE INÍCIO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

DATA DE TÉRMINO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

PLANO DE ESTUDO: Descrito no Método Analítico (I).

MÉTODOS ANALÍTICOS:

I – Procedimento de Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes (POP NºGC.C: 014/XX – Edição 005).

II – Procedimentos: Dosagem do SAT (PA NºDCB.C: 049/BI), Potência do SAR (PA NºDCB.C: 044/BI),

Potência de Soros Antipeçonhentos (PA NºDCB.C: 042/BI), Inocuidade (Toxicidade Inespecífica)

(PA NºDCB.C: 045/BI), Teste de Esterilidade (PA NºDCB.C: 111/MB), Teste de Pirogênio (NºDCB.C: 033/BI).

TEMPO (MESES)	DATA (mês/ano)	POTÊNCIA (_____)	INOCUIDADE (ATÓXICO)	ESTERILIDADE (ESTÉRIL)	PIROGÊNIO (APIRÓGENO)
0					
3				---	---
6				---	---
9				---	---
12				---	---
18				---	---
24				---	---
36				---	---

OBSERVAÇÕES:

DCB.C: \_\_\_\_\_

GC.C: \_\_\_\_\_

Anexo D



## Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes

NºGC.C: 014/XX

Página: 9/11



DIRETORIA CIENTÍFICA

GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE

ESTUDO DE ESTABILIDADE DE LONGA DURAÇÃO DE SOROS HIPERIMUNES

TABELA DE RESULTADOS FÍSICO -QUÍMICOS

PRODUTO:

LOTE: \_\_\_\_\_

TAMANHO DO LOTE: \_\_\_\_\_ AMPOLAS

FABRICAÇÃO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

VALIDADE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

EMBALAGEM PRIMÁRIA:

FABRICANTE DO PRINCÍPIO ATIVO: Instituto Vital Brazil

CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM:  $5 \pm 3$  °C

DATA DE INÍCIO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

DATA DE TÉRMINO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

PLANO DE ESTUDO: Descrito no Método Analítico (I).

MÉTODOS ANALÍTICOS:

I – Procedimento de Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes (POP NºGC.C: 014/XX – Edição 005).

II – Procedimentos Analíticos de Soros (PA NºDCQ.C: 005/IB e 007/IB).

TEMPO (MESES)	DATA (mês/ano)	ASPECTO	pH (6,0 a 7,0)	FENOL (Máx.0,35 g%)	PROTEÍNAS (Máx.15 g%)	NITROGÊNIO NÃO PROTÉICO (Máximo 0,3 g%)	NITROGÊNIO PROTÉICO (Máximo 2,4 g%)	NITROGÊNIO TOTAL (Máximo 2,7g%)
0								
3								
6								
9								
12								
18								
24								
36								

OBSERVAÇÕES:

DCQ.C: \_\_\_\_\_

GC.C: \_\_\_\_\_

**Anexo E**



## Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes

NºGC.C: 014/XX

Página: 10/11



DIRETORIA CIENTÍFICA

GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE

ESTUDO DE ESTABILIDADE DE ACOMPANHAMENTO DE SOROS HIPERIMUNES

TABELA DE RESULTADOS BIOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS

PRODUTO:

LOTE: \_\_\_\_\_

TAMANHO DO LOTE: \_\_\_\_\_ AMPOLAS

FABRICAÇÃO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

VALIDADE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

EMBALAGEM PRIMÁRIA:

FABRICANTE DO PRINCÍPIO ATIVO: Instituto Vital Brazil

CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM:  $5 \pm 3$  °C

DATA DE INÍCIO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

DATA DE TÉRMINO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

PLANO DE ESTUDO: Descrito no Método Analítico (I).

MÉTODOS ANALÍTICOS:

I – Procedimento de Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes (POP NºGC.C: 014/XX – Edição 005).

II – Procedimentos: Dosagem do SAT (PA NºDCB.C: 049/BI), Potência do SAR (PA NºDCB.C:044/BI),

Potência de Soros Antipeçonhentos (PA NºDCB.C: 042/BI), Inocuidade (Toxicidade Inespecífica)

(PA NºDCB.C: 045/BI), Teste de Esterilidade (PA NºDCB.C: 111/MB), Teste de Pirogênio (POP NºDCB.C: 033/BI).

TEMPO (MESES)	DATA (mês/ano)	POTÊNCIA (_____)	INOCUIDADE (ATÓXICO)	ESTERILIDADE (ESTÉRIL)	PIROGÊNIO (APIRÓGENO)
0					
12				---	---
24				---	---
36				---	---

OBSERVAÇÕES:

DCB.C: \_\_\_\_\_

GC.C: \_\_\_\_\_

Anexo F



## Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes

NºGC.C: 014/XX

Página: 11/11



DIRETORIA CIENTÍFICA

GERÊNCIA DE CONTROLE DA QUALIDADE

ESTUDO DE ESTABILIDADE DE ACOMPANHAMENTO DE SOROS HIPERIMUNES

TABELA DE RESULTADOS FÍSICO - QUÍMICOS

PRODUTO:

LOTE: \_\_\_\_\_

TAMANHO DO LOTE: \_\_\_\_\_ AMPOLAS

FABRICAÇÃO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

VALIDADE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

EMBALAGEM PRIMÁRIA:

FABRICANTE DO PRINCÍPIO ATIVO: Instituto Vital Brazil

CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM:  $5 \pm 3$  °C

DATA DE INÍCIO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

DATA DE TÉRMINO DO ESTUDO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

PLANO DE ESTUDO: Descrito no Método Analítico (I).

MÉTODOS ANALÍTICOS:

I – Procedimento de Estudo de Estabilidade de Soros Hiperimunes (POP NºGC.C: 014/XX – Edição 005).

II – Procedimentos Analíticos de Soros (PA NºDCQ.C: 005/IB e 007/IB).

TEMPO (MESES)	DATA (mês/ano)	ASPECTO	pH (6,0 a 7,0)	FENOL (Máx.0,35 g%)	PROTEÍNAS (Máx.15 g%)	NITROGÊNIO NÃO PROTÉICO (Máximo 0,3 g%)	NITROGÊNIO PROTÉICO (Máximo 2,4 g%)	NITROGÊNIO TOTAL (Máximo 2,7g%)
0								
12								
24								
36								

OBSERVAÇÕES:

DCQ.C: \_\_\_\_\_

GC.C: \_\_\_\_\_

Anexo G

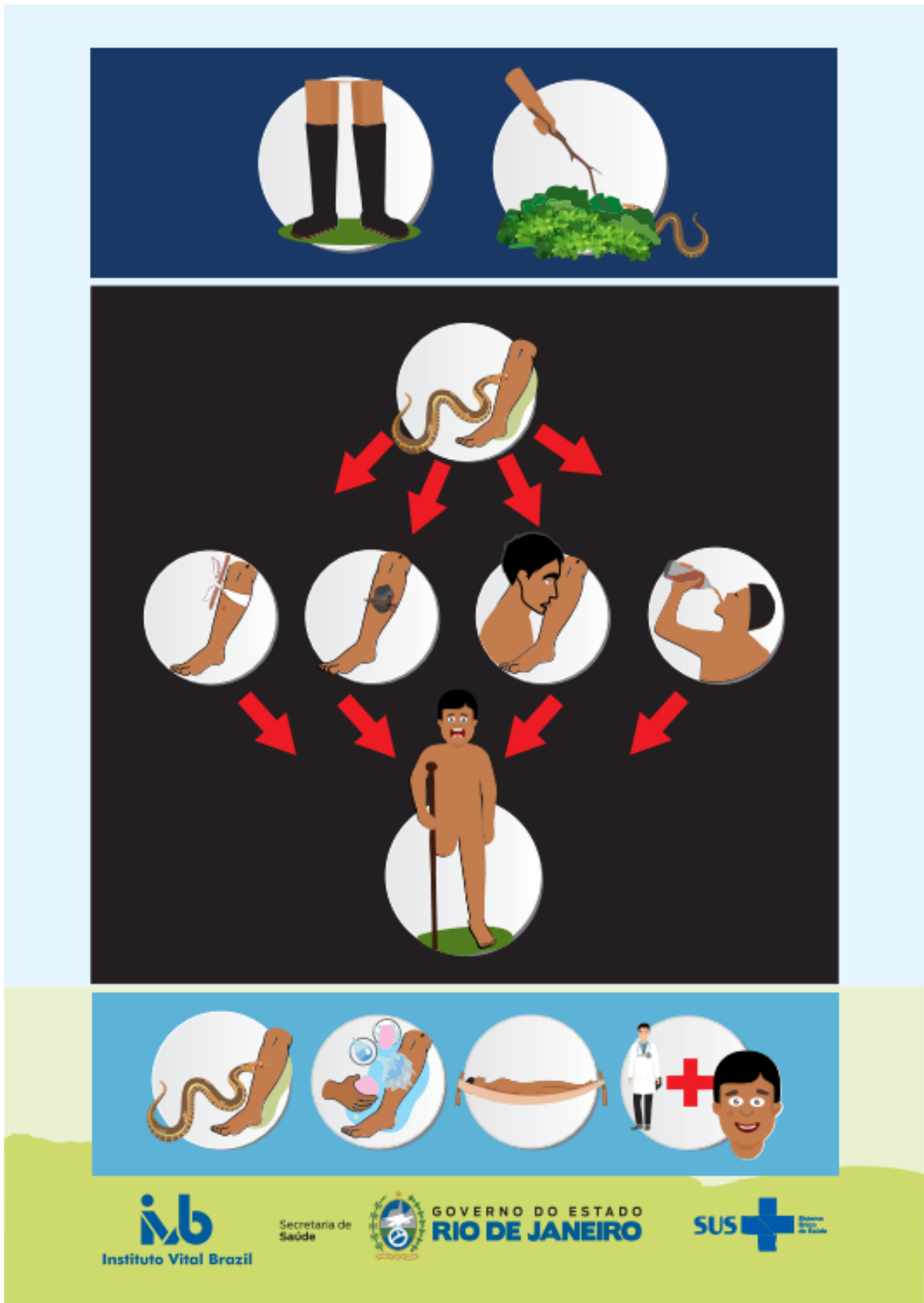
**9.7. ANEXO 7 Número de casos de acidentes ofídicos a cada mil habitantes segundo polo base DSEI-Yanomami (2014-2017)**

População		2014		2015		2016		2017	
		Total de casos	Casos por mil habitantes	Total de casos	Casos por mil habitantes	Total de casos	Casos por mil habitantes	Total de casos	Casos por mil habitantes
<b>TOTAL</b>	<b>25111</b>	<b>147</b>	<b>5,9</b>	<b>178</b>	<b>7,1</b>	<b>148</b>	<b>5,9</b>	<b>213</b>	<b>8,5</b>
AJARIS	3489	9	2,6	22	6,3	17	4,9	28	8,0
SURUCUCU	2057	14	6,8	26	12,6	23	11,2	30	14,6
MISSÃO MARAUJA	2271	8	3,5	8	3,5	7	3,1	7	3,1
MATURACA	1746	1	0,6	1	0,6	0	0,0	1	0,6
XITEI	1796	18	10,0	20	11,1	11	6,1	22	12,2
MARARI	789	7	8,9	11	13,9	5	6,3	13	16,5
HAXIU	758	12	15,8	7	9,2	11	14,5	27	35,6
MISSÃO CATRIMANI	874	9	10,3	6	6,9	3	3,4	0	0,0
TOOTOTOBÍ	757	5	6,6	4	5,3	10	13,2	0	0,0
PALIMÚ	781	7	9,0	5	6,4	5	6,4	6	7,7
MAIA	623	6	9,6	2	3,2	2	3,2	2	3,2
ARATHA-U	616	2	3,2	4	6,5	1	1,6	5	8,1
WAPUTHA	661	11	16,6	14	21,2	15	22,7	13	19,7
HOMOXI	564	6	10,6	2	3,5	0	0,0	10	17,7
PARAFURI	438	2	4,6	6	13,7	2	4,6	1	2,3
ALTO MUCAJAI	566	1	1,8	3	5,3	4	7,1	5	8,8
HAKOMA	607	4	6,6	7	11,5	5	8,2	7	11,5
BALAWÁU	775	6	7,7	1	1,3	2	2,6	4	5,2
MALOCA PAAPIU	425	2	4,7	5	11,8	7	16,5	6	14,1
NOVO DEMINI	410	5	12,2	4	9,8	2	4,9	2	4,9
ALTO PADAURI	192	0	0,0	2	10,4	4	20,8	2	10,4
SAUBA	342	1	2,9	0	0,0	0	0,0	4	11,7
MÉDIO PADAJARI	552	0	0,0	3	5,4	3	5,4	1	1,8
ERICO	280	1	3,6	1	3,6	1	3,6	1	3,6
KAYANAU	251	0	0,0	1	4,0	0	0,0	1	4,0
ALTO CATRIMANI	238	2	8,4	3	12,6	4	16,8	2	8,4
ARACÁ	242	0	0,0	3	12,4	0	0,0	0	0,0
DEMINI	197	1	5,1	3	15,2	1	5,1	4	20,3
BAIXO MUCAJAI	250	2	8,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
AJURICABA	278	0	0,0	2	7,2	2	7,2	3	10,8
WAKAS	185	1	5,4	1	5,4	0	0,0	2	10,8
AJARANI	61	3	49,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0
URARICOERA	139	0	0,0	1	7,2	1	7,2	2	14,4
CACHOEIRA DO ARACÁ	242	1	4,1	0	0,0	0	0,0	1	4,1
INAMBU	387	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,5
APIAÚ	142	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
BAIXO CATRIMANI	130	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0

**9.8. ANEXO 8 Relação dos Polos Base com o Número de Relatos de Acidentes Ofídicos e Seu Desfecho (Cura/Óbito). De 2014 A 2017.**

<b>POLO BASE</b>	<b>Evolução</b>					
	<b>Cura</b>		<b>Óbito</b>		<b>Ignorado</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
AJARANI	2	66,7	-	-	1	33,3
AJURICABA	7	100,0	-	-	-	-
ALTO CATRIMANI	10	90,9	-	-	1	9,1
ALTO MUCAJAI	12	92,3	-	-	1	7,7
ALTO PADAUIRI	7	87,5	-	-	1	12,5
ARACÁ	2	66,7	-	-	1	33,3
ARATHA-U	12	100,0	-	-	-	-
AUARIS	72	94,7	-	-	4	5,3
BAIXO MUCAJAI	2	100,0	-	-	-	-
BALAWAÚ	13	100,0	-	-	-	-
CACHOEIRA DO ARACÁ	2	100,0	-	-	-	-
DEMINI	9	100,0	-	-	-	-
ERICO	4	100,0	-	-	-	-
HAKOMA	23	100,0	-	-	-	-
HAXIU	54	94,7	-	-	3	5,3
HOMOXI	18	100,0	-	-	-	-
INAMBU	1	100,0	-	-	-	-
KAYANAU	2	100,0	-	-	-	-
MAIA	12	100,0	-	-	-	-
MALOCA PAAPIU	17	85,0	1	5,0	2	10,0
MARARI	33	91,7	-	-	3	8,3
MATURACA	3	100,0	-	-	-	-
MÉDIO PADAUARI	7	100,0	-	-	-	-
MISSÃO CATRIMANI	17	94,4	1	5,6	-	-
MISSÃO MARAUIA	28	93,3	-	-	2	6,7
NOVO DEMINI	13	100,0	-	-	-	-
PALIMIÚ	21	91,3	-	-	2	8,7
PARAFURI	11	100,0	-	-	-	-
SAUBA	5	100,0	-	-	-	-
SURUCUCU	88	94,6	2	2,2	3	3,2
TOOTOTOBÍ	18	94,7	-	-	1	5,3
URARICOERA	4	100,0	-	-	-	-
WAIKAS	3	75,0	-	-	1	25,0
WAPUTHA	50	94,3	-	-	3	5,7
XITEI	61	85,9	2	2,8	8	11,3
<b>TOTAL</b>	<b>643</b>		<b>6</b>		<b>37</b>	

9.9. ANEXO 9 Material informativo (folder) sobre acidente ofídico para DSEI Yanomami



## 10. PRODUTOS GERADOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA TESE

### 10.1 Publicações

- Biondi I, Andrade DF, Braga J, Soledade KA, Cunha LER, Melo PA, et al. Brazilian monospecific anti-crotalic serum does not neutralize the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the disseminated intravascular coagulation (DIC) induced by *Crotalus* spp. snake venom from Bahia, Brazil. *Toxicon* 2016; (119):372
  
- Brazil TK, Melgarejo AR, Werneck Castro AJ, Barraviera B, Souza CM, Cunha LER, et al. Vital network for Brazil: national network of information, discussion and cooperation concerning venomous animals. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 2011; 17(3):235-236.
  
- Carneiro VC, Lessa DAB, Guttman PM, Magalhaes H, Aquino MHC, Cunha LER, et al. Virulence, resistance, and genetic relatedness of *Escherichia coli* and *Klebsiella* sp. isolated from mule foals. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2017; 69(5):1073-1082.
  
- Cunha LER. Soros antiofídicos: história, evolução e futuro. *Journal Health NPEPS* 2017;(2):1-4.
  
- Ferreira LLC, Coelho-Mattos JL, Cunha LER, Cardoso IC, Souza PVR, Maia LF, et al. Development and characterization of a suitable intermediate product for topical pharmaceutical formulations from *Mikania glomerata*. In: *Anais do 4. International Symposium on Challenges and New Technologies in Drug Discovery and Pharmaceutical Production*; 2017; Rio de Janeiro, Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2017.
  
- Ferreira RS, Barraviera B, Orsi RO, Cunha LER, Pimenta D, inventores; Instituto Butantan, Instituto Vital Brazil, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, depositante. Processo de obtenção de soro equino antiapílico, soro equino antiapílico e seus usos. BR patente 102015026308-2 A2. 16 out. 2015.



-Ferreira RS, Pimenta DC, Orsi RO, Barraviera SRS, Abbade LPF, Cunha LER et al. Molecule drug candidates prospecting development, optimization and clinical trials: two Brazilian successful cases. In: Anais do 13. Annual Congress of International Drug Discovery Science and Technology, Pequim, China. Pequim; 2015.

-Hamond C, Pestana C, Rocha-de-Souza CM, Cunha LER, Brandão FZ, Medeiros MA, et al. Presence of leptospire on genital tract of mares with reproductive problems. *Veterinary Microbiology* 2015; 179(3-4):264-269.

-Pinna AE, Campos DG, Lemos SG, Brandão FZ, Cunha LER, Meirelles LR, et al. The use of doppler ultrasonography (power-flow mode) for the Lemos SGC, Campos DG, Ferreira CSC, Balara MFA, Cunha LER, et al. Vascularização uterina de éguas prenhes de jumento e de garanhão monitoradas por ultrassonografia Doppler. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2017; 37(8):877-882.

-Lira-da-Silva R, Brazil TK, Lourenço M, Cunha LER, Bochner R, Werneck de Castro AJ, et al. A contribuição de Vital Brazil para a medicina tropical: dos envenenamentos à especificidade da soroterapia. *Anais do Instituto de Higiene e Medicina Tropical* 2016; 16:27-32.

- Carneiro VC, Lessa DAB, Guttman PM, Magalhaes H, Aquino MHC, Cunha LER, Arais LR, Cerqueira AMF. Virulence, resistance, and genetic relatedness of *Escherichia coli* and *Klebsiella sp.* isolated from mule foals [Virulência, resistência e relação genética de *Escherichia coli* e *Klebsiella sp.* isoladas de potros de muar] *Toxicon* 117 (2016) 102e111 *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.69, n.5, p.1073-1082, 2017

-Cunha LER. Soros antiofídicos: história, evolução e futuro. Médico Veterinário. Assessor Especial. Diretoria Científica do Instituto Vital Brazil. Niteroi – Rio de Janeiro – Brasil. E-mail: [icunha@nethink.com.br](mailto:icunha@nethink.com.br) *Journal Health NPEPS*. 2017; 2(Supl.1):1-4. ISSN 2526-1010 1.

-ReJâne Lira-da-Silva, Marta Lourenço, Rosany Bochner, Érico Vital Brazil, Tania Kobler Brazil, Luís Eduardo Ribeiro da Cunha e Antônio Joaquim Werneck de Castro. A

contribuição de Vital Brazil para a medicina tropical: dos envenenamentos à especificidade da soroterapia. Anais do Instituto de Higiene e Medicina Tropical 2o Encontro Luso-Brasileiro de História da Medicina Tropical publicado 2016 / ISSN 0303-77.

-Teixeira-Cruz JM, Monteiro-Machado M, Cons BL, Martins-Ferreira J, Cunha LER, Barraviera B, et al. Antagonism of in vitro and in vivo activities of Apis mellifera venom by antiapilic serum. Toxicon 2016; 117:102-103.

## **10.2 Patentes**

- “Nova tecnologia envolvendo um processo de melhoramento da eficácia de soros para diversos tipos de venenos de serpentes, especialmente, a espécie jararacuçu”, desenvolvida em conjunto com pesquisadores da Universidade Federal do Rio de Janeiro, que será objeto de pedido de registro de patente perante o Instituto Nacional de Desenvolvimento Industrial (INPI).

- “Processo De Obtenção De Soro Equino Antiapílico, Soro Equino Antiapílico E Seus Usos.” Categoria: Produto. Instituição onde foi depositada: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. País: Brasil. Natureza: Patente de Invenção. Número do registro: BR10201502630. Data de depósito: 16/10/2015. Número do depósito PCT: 10201502630. Data de depósito PCT: **16/10/2015**. Depositante/Titular: Rui Seabra Ferreira Junior, Benedito Barraviera, Ricardo de Oliveira Orsi, Luís Eduardo Ribeiro da Cunha, Daniel Pimenta. Depositante/Titular: Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos da UNESP, Fundação Butantan, Instituto Vital Brazil.