



SECRETARIA DO  
DESENVOLVIMENTO  
ECONÔMICO, CIÊNCIA  
E TECNOLOGIA



## **Cartilha Informativa**

Diagnóstico e identificação de micro-organismos  
associados à infecção vaginal por FT-IR e  
quimiometria

**Valeriano Antonio Corbellini**

Santa Cruz do Sul, janeiro de 2018

## Informações gerais

**Projeto:** Novas tecnologias em saúde para diagnóstico de infecções genitourinárias

**Convênio:** SCIT 68/2014

**Processo:** 220-2500/13-2

**Modalidade:** Participação Popular e Cidadã ([2012/2013])

**Nome do Polo:** Polo de Modernização Tecnológica do Vale do Rio Pardo

**Gestor(a):** Michele Braun

**COREDE:** Vale do Rio Pardo

**Área de Abrangência:** Saúde

**Coordenação:** Valeriano Antonio Corbellini

**Unidade Executora:** Universidade de Santa Cruz do Sul

## Etapa 1

## Coleta de amostras de fluido vaginal

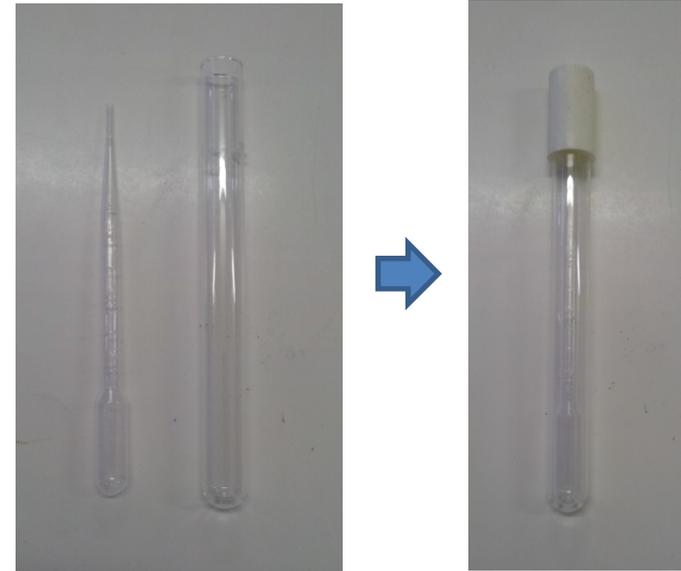
Para a coleta desenvolvemos um dispositivo descartável adaptado de pipetas Pasteur de polipropileno.

A pipeta é cortada obliquamente na sua borda oposta à da abertura.

Em seguida é imersa por 20-30min em solução de hipoclorito 1% e por lavagem com água destilada estéril.

O dispositivo é introduzido em tubo de ensaio estéril com tampa e posto a secar por 24h em estufa a 37°C.

Em seguida a tampa é vedada com Parafilm®. A coleta com este dispositivo deve seguir as orientações de coleta de exame citopatológico e ser realizada por profissional capacitado (médico ou enfermeiro) com a paciente em posição de litotomia.



Fonte: Autor

## Etapa 1

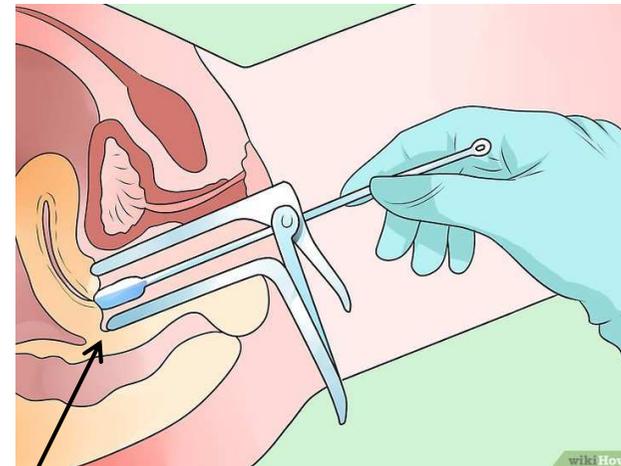
## Coleta de amostras de fluido vaginal

A coleta com este dispositivo deve seguir as orientações de coleta de exame citopatológico e ser realizada por profissional capacitado (médico ou enfermeiro) com a paciente em posição de litotomia.

O laço de Parafilm® é rompido e o dispositivo é introduzido no fundo vaginal abaixo do colo na região relacionada internamente com o fundo de saco de Douglas (seta na figura ao lado).

Deslizar o dispositivo sobre a parede coletando o máximo de material possível porém cuidando para não machucar a mucosa e provocar sangramento (interferente).  
Devolver o dispositivo para o tubo de ensaio e tampar.

Etiquetar o material de coleta com o número de amostra e data da coleta e armazenar em caixa de isopor com gelo (4°C). Levar em até 4h para o laboratório.



Fonte:  
[https://pt.wikihow.com/Reconhecer-os-Sintomas-de-Clam%C3%ADdia-\(Para-Mulheres\)](https://pt.wikihow.com/Reconhecer-os-Sintomas-de-Clam%C3%ADdia-(Para-Mulheres))

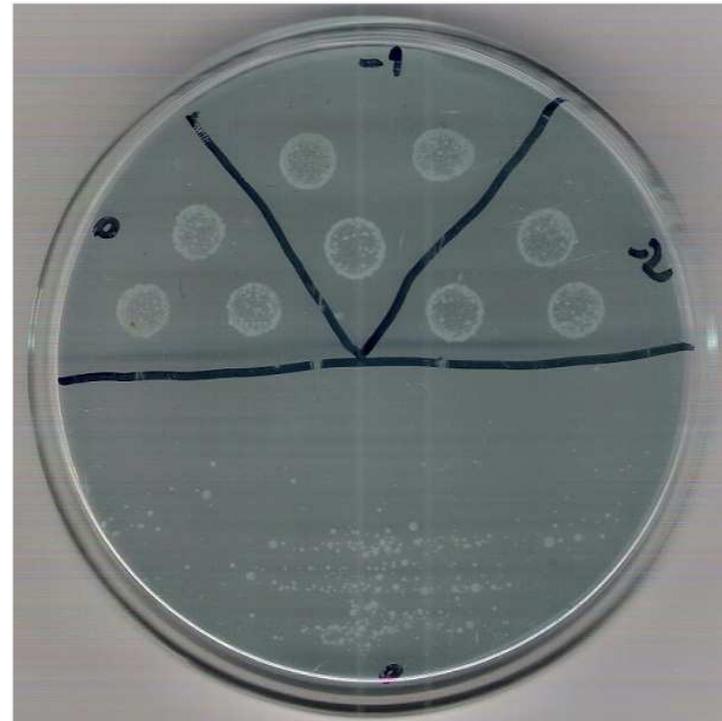
## Etapa 3

## Cultura

Suspender 2  $\mu\text{L}$  de amostra de FV em 100  $\mu\text{L}$  de água destilada estéril. Homogeneizar em agitador de tubos.

Inocular alçada de 1  $\mu\text{L}$  da suspensão de FV em placa de 9 cm de diâmetro com tendo 10 mL de ágar CLED. Incubar a 37°C por 24 a 48h.

Realizar a contagem de Unidades Formadoras de Colônia.



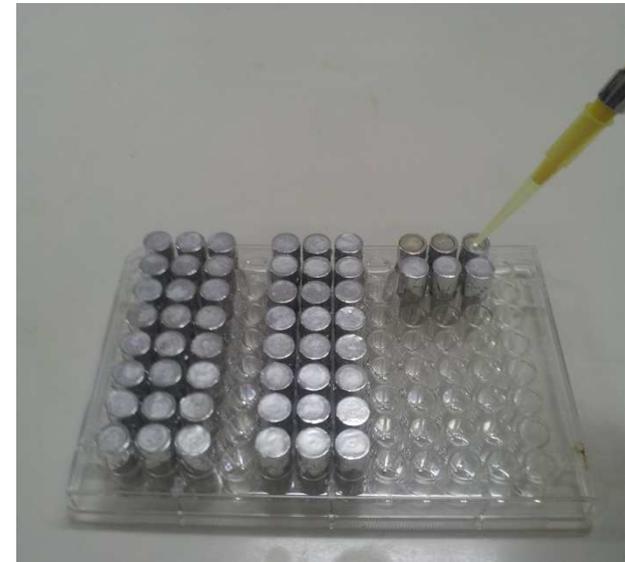
Fonte: Autor

## Etapa 4

## Análise por FT-IR: preparação de amostras de FV

**1º Passo:** Transferir 30 mL de suspensão de FV para probes de inox de 8 mm<sup>2</sup> de área cobertas com papel alumínio. espalhando a amostra com a ponteira. Realizar esta etapa em triplicata.

**2º Passo:** Secar o suporte de cada amostra por 3-5 min sob corrente de ar (secador de cabelo) de modo a alcançar temperatura na faixa de 60-65°C.  
Obs: Alternativamente o material pode ser desidratado em estufa bacteriológica a 37°C por 1h.



Fonte: Autor

## Etapa 5

## Análise por FT-IR: aquisição dos espectros

**3º Passo:** Posicionar o suporte de cada amostra (uma amostra por vez) no acessório para Reflexão Difusa (Pike Technologies) e adquirir o espectro da referida amostra em equipamento Spectrum 400 FTIR/FT-NIR Spectrometer (Perkin Elmer®) de 633nm, espectrômetro com laser de HeNe, com 8 pulsos de varredura na faixa de 4000-450  $\text{cm}^{-1}$ , 4  $\text{cm}^{-1}$  de resolução, previamente calibrado com branco (*probe* na mesma posição porém sem amostra de FV). Repetir o procedimento para as demais replicatas de cada amostra.



Fonte: Autor

## Etapa 6

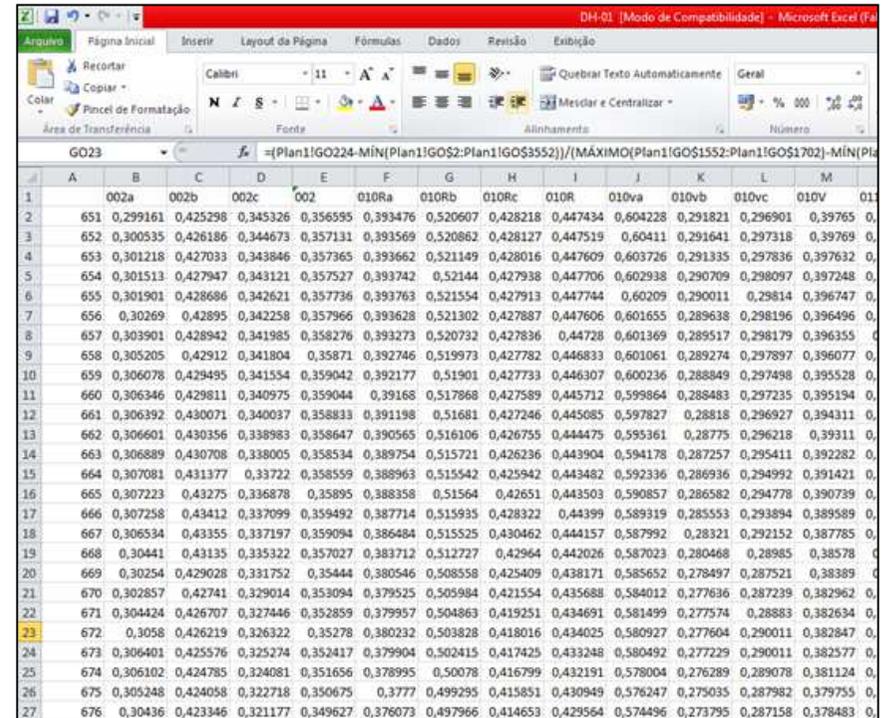
# Análise por FT-IR: elaboração da planilha de espectros

**1º Passo:** Salvar os espectros adquiridos no formato \*.spa conforme rotina do software SPECTRUM 10™ (Perkin-Elmer).

**2º Passo:** Abrir os espectros em extensão \*.spa em software OMNIC™ (Termo Fischer Scientific) e salvá-los em extensão “\*.csv (separado por vírgulas)”

**3º Passo:** Abrir o arquivo em extensão \*.csv da primeira replicata da primeira amostra e salvar como novo arquivo Excel como o nome de “Dados01”. Trocar o nome da planilha no rodapé desta planilha Excel para Plan1.

**4º Passo:** Abrir os arquivos das demais replicatas da primeira amostra, copiar apenas a segunda coluna (coluna B) de cada arquivo e colá-los em sequência ao lado da coluna B de Plan1.



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1		002a	002b	002c	002	010Ra	010Rb	010Rc	010R	010va	010vb	010vc	010V	010
2	651	0,299161	0,425298	0,345326	0,356595	0,393476	0,520607	0,428218	0,447434	0,604228	0,291821	0,296901	0,39765	0,
3	652	0,300535	0,426186	0,344673	0,357131	0,393569	0,520862	0,428127	0,447519	0,60411	0,291641	0,297318	0,39769	0,
4	653	0,301218	0,427033	0,343846	0,357365	0,393662	0,521149	0,428016	0,447609	0,603726	0,291335	0,297836	0,397632	0,
5	654	0,301513	0,427947	0,343121	0,357527	0,393742	0,52144	0,427938	0,447706	0,602938	0,290709	0,298097	0,397248	0,
6	655	0,301901	0,428686	0,342621	0,357736	0,393763	0,521554	0,427913	0,447744	0,60209	0,290011	0,29814	0,396747	0,
7	656	0,30269	0,42895	0,342258	0,357966	0,393628	0,521302	0,427887	0,447606	0,601655	0,289638	0,298196	0,396496	0,
8	657	0,303901	0,428942	0,341985	0,358276	0,393273	0,520732	0,427836	0,44728	0,601369	0,289517	0,298179	0,396355	0,
9	658	0,305205	0,42912	0,341804	0,35871	0,392746	0,519973	0,427782	0,446833	0,601061	0,289274	0,297897	0,396077	0,
10	659	0,306078	0,429495	0,341554	0,359042	0,392177	0,51901	0,427733	0,446307	0,600236	0,288849	0,297498	0,395528	0,
11	660	0,306346	0,429811	0,340975	0,359044	0,39168	0,517868	0,427589	0,445712	0,599864	0,288483	0,297235	0,395194	0,
12	661	0,306392	0,430071	0,340037	0,358833	0,391198	0,51681	0,427246	0,445085	0,597827	0,28818	0,296927	0,394311	0,
13	662	0,306601	0,430356	0,338983	0,358647	0,390565	0,516106	0,426755	0,444475	0,595361	0,28775	0,296218	0,393911	0,
14	663	0,306889	0,430708	0,338005	0,358534	0,389754	0,515721	0,426236	0,443904	0,594178	0,287257	0,295411	0,392282	0,
15	664	0,307081	0,431377	0,33722	0,358559	0,388963	0,515542	0,425942	0,443482	0,592336	0,286936	0,294992	0,391421	0,
16	665	0,307223	0,43275	0,336878	0,35895	0,388358	0,51564	0,42651	0,443503	0,590857	0,286582	0,294778	0,390739	0,
17	666	0,307258	0,43412	0,337099	0,359492	0,387714	0,515935	0,428322	0,44399	0,589319	0,285553	0,293894	0,389589	0,
18	667	0,306534	0,43355	0,337197	0,359094	0,386484	0,515525	0,430462	0,444157	0,587992	0,28321	0,292152	0,387785	0,
19	668	0,30441	0,43135	0,335322	0,357027	0,383712	0,512727	0,42964	0,442026	0,587023	0,280468	0,28985	0,38578	0,
20	669	0,30254	0,429028	0,331752	0,35444	0,380546	0,508558	0,425409	0,438171	0,585652	0,278497	0,287521	0,38389	0,
21	670	0,302857	0,42741	0,329014	0,353094	0,379525	0,505984	0,421554	0,435688	0,584012	0,277636	0,287239	0,382962	0,
22	671	0,304424	0,426707	0,327446	0,352859	0,379957	0,504863	0,419251	0,434691	0,581499	0,277574	0,28883	0,382634	0,
23	672	0,3058	0,426219	0,326322	0,35278	0,380232	0,503828	0,418016	0,434025	0,580927	0,277604	0,290011	0,382847	0,
24	673	0,306401	0,425576	0,325274	0,352417	0,379904	0,502415	0,417425	0,433248	0,580492	0,277229	0,290011	0,382577	0,
25	674	0,306102	0,424785	0,324081	0,351656	0,378995	0,50078	0,416799	0,432191	0,578004	0,276289	0,289078	0,381124	0,
26	675	0,305248	0,424058	0,322718	0,350675	0,3777	0,499295	0,415851	0,430949	0,576247	0,275035	0,287982	0,379755	0,
27	676	0,30436	0,423346	0,321177	0,349627	0,376073	0,497966	0,414653	0,429564	0,574496	0,273795	0,287158	0,378483	0,

Fonte: Autor

## Etapa 6

# Análise por FT-IR: elaboração da planilha de espectros

**5º Passo:** Marcar as células B2 a D2 de Plan1 e inserir células deslocando as demais para baixo.

**6º Passo:** Identificar os nomes das replicatas de espectro de cada amostra nas respectivas células inseridas. Ex: Para uma amostra denominada 001, as células das triplicatas ficarão identificadas como “001a, 001b e 001c”.

**7º Passo:** Deixar uma coluna em branco após a inserção dos dados de absorbância do conjunto de replicatas da primeira amostra em Plan1. E nomeá-la com o mesmo prefixo da amostra, porém com ou sem o sufixo “m”. Ex: Para a amostra A001 a coluna E receberá a identificação de “A001m”.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	O
1		002a	002b	002c	002	010Ra	010Rb	010Rc	010R	010va	010vb	010vc	010V	010
2	651	0,299161	0,425298	0,345326	0,356595	0,393476	0,520607	0,428218	0,447434	0,604228	0,291821	0,296901	0,39765	0,
3	652	0,300535	0,426186	0,344673	0,357131	0,393569	0,520862	0,428127	0,447519	0,60411	0,291641	0,297318	0,39769	0,
4	653	0,301218	0,427033	0,343846	0,357365	0,393662	0,521149	0,428016	0,447609	0,603726	0,291335	0,297836	0,397632	0,
5	654	0,301513	0,427947	0,343121	0,357527	0,393742	0,52144	0,427938	0,447706	0,602938	0,290709	0,298097	0,397248	0,
6	655	0,301901	0,428686	0,342621	0,357736	0,393763	0,521554	0,427913	0,447744	0,60209	0,290011	0,29814	0,396747	0,
7	656	0,30269	0,42895	0,342258	0,357966	0,393628	0,521302	0,427887	0,447606	0,601655	0,289638	0,298196	0,396496	0,
8	657	0,303901	0,428942	0,341985	0,358276	0,393273	0,520732	0,427836	0,44728	0,601369	0,289517	0,298179	0,396355	0,
9	658	0,305205	0,42912	0,341804	0,35871	0,392746	0,519973	0,427782	0,446833	0,601061	0,289274	0,297897	0,396077	0,
10	659	0,306078	0,429495	0,341554	0,359042	0,392177	0,51901	0,427733	0,446307	0,600236	0,288849	0,297498	0,395528	0,
11	660	0,306346	0,429811	0,340975	0,359044	0,39168	0,517868	0,427589	0,445712	0,599864	0,288483	0,297235	0,395194	0,
12	661	0,306392	0,430071	0,340037	0,358833	0,391198	0,51681	0,427246	0,445085	0,597827	0,28818	0,296927	0,394311	0,
13	662	0,306601	0,430356	0,338983	0,358647	0,390565	0,516106	0,426755	0,444475	0,595361	0,28775	0,296218	0,39311	0,
14	663	0,306889	0,430708	0,338005	0,358534	0,389754	0,515721	0,426236	0,443904	0,594178	0,287257	0,295411	0,392282	0,
15	664	0,307081	0,431377	0,33722	0,358559	0,388963	0,515542	0,425942	0,443482	0,592336	0,286936	0,294992	0,391421	0,
16	665	0,307223	0,43275	0,336878	0,35895	0,388358	0,51564	0,42651	0,443503	0,590857	0,286582	0,294778	0,390739	0,
17	666	0,307258	0,43412	0,337099	0,359492	0,387714	0,515935	0,428322	0,44399	0,589319	0,285553	0,293894	0,389589	0,
18	667	0,306534	0,43355	0,337197	0,359094	0,386484	0,515525	0,430462	0,444157	0,587992	0,28321	0,292152	0,387785	0,
19	668	0,30441	0,43135	0,335322	0,357027	0,383712	0,512727	0,42964	0,442026	0,587023	0,280468	0,28985	0,38578	0,
20	669	0,30254	0,429028	0,331752	0,35444	0,380546	0,508558	0,425409	0,438171	0,585652	0,278497	0,287521	0,38389	0,
21	670	0,302857	0,42741	0,329014	0,353094	0,379525	0,505984	0,421554	0,435688	0,584012	0,277636	0,287239	0,382962	0,
22	671	0,304424	0,426707	0,327446	0,352859	0,379957	0,504863	0,419251	0,434691	0,581499	0,277574	0,28883	0,382634	0,
23	672	0,3058	0,426219	0,326322	0,35278	0,380232	0,503828	0,418016	0,434025	0,580927	0,277604	0,290011	0,382847	0,
24	673	0,306401	0,425576	0,325274	0,352417	0,379904	0,502415	0,417425	0,433248	0,580492	0,277229	0,290011	0,382577	0,
25	674	0,306102	0,424785	0,324081	0,351656	0,378995	0,50078	0,416799	0,432191	0,578004	0,276289	0,289078	0,381124	0,
26	675	0,305248	0,424058	0,322718	0,350675	0,3777	0,499295	0,415851	0,430949	0,576247	0,275035	0,287982	0,379755	0,
27	676	0,30436	0,423346	0,321177	0,349627	0,376073	0,497966	0,414653	0,429564	0,574496	0,273795	0,287158	0,378483	0,

Fonte: Autor

## Etapa 6

# Análise por FT-IR: elaboração da planilha de espectros

**8º Passo:** Inserir os dados das demais amostras repetindo os passos 8 a 11 até completar a elaboração da tabela com todos os espectros.

**9º Passo:** Abrir nova planilha (Plan2) no mesmo arquivo Excel de Plan1 e na célula A1 aplicar a fórmula:

=Plan1!A1

e estender a fórmula de A1 até A3352.

**10º Passo:** Estender a fórmula de A1 até B1. Na célula de B1 em Plan2 deverá aparecer a fórmula:

=Plan1!B2

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	O
1		002a	002b	002c	002	010Ra	010Rb	010Rc	010R	010va	010vb	010vc	010V	010V
2	651	0,299161	0,425298	0,345326	0,356595	0,393476	0,520607	0,428218	0,447434	0,604228	0,291821	0,296901	0,39765	0,39765
3	652	0,300535	0,426186	0,344673	0,357131	0,393569	0,520862	0,428127	0,447519	0,60411	0,291641	0,297318	0,39769	0,39769
4	653	0,301218	0,427033	0,343846	0,357365	0,393662	0,521149	0,428016	0,447609	0,603726	0,291335	0,297836	0,397632	0,397632
5	654	0,301513	0,427947	0,343121	0,357527	0,393742	0,52144	0,427938	0,447706	0,602938	0,290709	0,298097	0,397248	0,397248
6	655	0,301901	0,428686	0,342621	0,357736	0,393763	0,521554	0,427913	0,447744	0,60209	0,290011	0,29814	0,396747	0,396747
7	656	0,30269	0,42895	0,342258	0,357966	0,393628	0,521302	0,427887	0,447606	0,601655	0,289638	0,298196	0,396496	0,396496
8	657	0,303901	0,428942	0,341985	0,358276	0,393273	0,520732	0,427836	0,44728	0,601369	0,289517	0,298179	0,396355	0,396355
9	658	0,305205	0,42912	0,341804	0,35871	0,392746	0,519973	0,427782	0,446833	0,601061	0,289274	0,297897	0,396077	0,396077
10	659	0,306078	0,429495	0,341554	0,359042	0,392177	0,51901	0,427733	0,446307	0,600236	0,288849	0,297498	0,395528	0,395528
11	660	0,306346	0,429811	0,340975	0,359044	0,39168	0,517868	0,427589	0,445712	0,599864	0,288483	0,297235	0,395194	0,395194
12	661	0,306392	0,430071	0,340037	0,358833	0,391198	0,51681	0,427246	0,445085	0,597827	0,28818	0,296927	0,394311	0,394311
13	662	0,306601	0,430356	0,338983	0,358647	0,390565	0,516106	0,426755	0,444475	0,595361	0,28775	0,296218	0,393911	0,393911
14	663	0,306889	0,430708	0,338005	0,358534	0,389754	0,515721	0,426236	0,443904	0,594178	0,287257	0,295411	0,392282	0,392282
15	664	0,307081	0,431377	0,33722	0,358559	0,388963	0,515542	0,425942	0,443482	0,592336	0,286936	0,294992	0,391421	0,391421
16	665	0,307223	0,43275	0,336878	0,35895	0,388358	0,51564	0,42651	0,443503	0,590857	0,286582	0,294778	0,390739	0,390739
17	666	0,307258	0,43412	0,337099	0,359492	0,387714	0,515935	0,428322	0,44399	0,589319	0,285553	0,293894	0,389589	0,389589
18	667	0,306534	0,43355	0,337197	0,359094	0,386484	0,515525	0,430462	0,444157	0,587992	0,28321	0,292152	0,387785	0,387785
19	668	0,30441	0,43135	0,335322	0,357027	0,383712	0,512727	0,42964	0,442026	0,587023	0,280468	0,28985	0,38578	0,38578
20	669	0,30254	0,429028	0,331752	0,35444	0,380546	0,508558	0,425409	0,438171	0,585652	0,278497	0,287521	0,38389	0,38389
21	670	0,302857	0,42741	0,329014	0,353094	0,379525	0,505984	0,421554	0,435688	0,584012	0,277636	0,287239	0,382962	0,382962
22	671	0,304424	0,426707	0,327446	0,352859	0,379957	0,504863	0,419251	0,434691	0,581499	0,277574	0,28883	0,382634	0,382634
23	672	0,3058	0,426219	0,326322	0,35278	0,380232	0,503828	0,418016	0,434025	0,580927	0,277604	0,290011	0,382847	0,382847
24	673	0,306401	0,425576	0,325274	0,352417	0,379904	0,502415	0,417425	0,433248	0,580492	0,277229	0,290011	0,382577	0,382577
25	674	0,306102	0,424785	0,324081	0,351656	0,378995	0,50078	0,416799	0,432191	0,578004	0,276289	0,289078	0,381124	0,381124
26	675	0,305248	0,424058	0,322718	0,350675	0,3777	0,499295	0,415851	0,430949	0,576247	0,275035	0,287982	0,379755	0,379755
27	676	0,30436	0,423346	0,321177	0,349627	0,376073	0,497966	0,414653	0,429564	0,574496	0,273795	0,287158	0,378483	0,378483

Fonte: Autor

## Etapa 6

# Análise por FT-IR: elaboração da planilha de espectros

**11º passo:** Em B2 aplicar a normalização pela amplitude para a respectiva coluna de Plan1 conforme a fórmula:

$$=(\text{Plan1!B1}-\text{MÍNIMO}(\text{Plan1!B\$2:Plan1!B\$3552})) / ((\text{MÁXIMO}(\text{Plan1!B\$2:Plan1!B\$3552})-\text{MÍNIMO}(\text{Plan1!B\$2:Plan1!B\$3552})))$$

**12º passo:** Verificar a última coluna preenchida em Plan1, retornar para Plan2 e realizar a normalização das demais amostras marcando a coluna B2 em Plan2 e estendendo-a até a última coluna respectiva preenchida em Plan1.

Neste passo deverão aparecer colunas cujo menor valor é zero e o maior valor é 1 e, na primeira cela, a respectiva identificação encontrada em Plan1. Após cada conjunto de triplicatas aparecerá um coluna preenchida com "#####".

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	O
1		002a	002b	002c	002	010Ra	010Rb	010Rc	010R	010va	010vb	010vc	010V	010V
2	651	0,299161	0,425298	0,345326	0,356595	0,393476	0,520607	0,428218	0,447434	0,604228	0,291821	0,296901	0,39765	0,39765
3	652	0,300535	0,426186	0,344673	0,357131	0,393569	0,520862	0,428127	0,447519	0,60411	0,291641	0,297318	0,39769	0,39769
4	653	0,301218	0,427033	0,343846	0,357365	0,393662	0,521149	0,428016	0,447609	0,603726	0,291335	0,297836	0,397632	0,397632
5	654	0,301513	0,427947	0,343121	0,357527	0,393742	0,52144	0,427938	0,447706	0,602938	0,290709	0,298097	0,397248	0,397248
6	655	0,301901	0,428686	0,342621	0,357736	0,393763	0,521554	0,427913	0,447744	0,60209	0,290011	0,29814	0,396747	0,396747
7	656	0,30269	0,42895	0,342258	0,357966	0,393628	0,521302	0,427887	0,447606	0,601655	0,289638	0,298196	0,396496	0,396496
8	657	0,303901	0,428942	0,341985	0,358276	0,393273	0,520732	0,427836	0,44728	0,601369	0,289517	0,298179	0,396355	0,396355
9	658	0,305205	0,42912	0,341804	0,35871	0,392746	0,519973	0,427782	0,446833	0,601061	0,289274	0,297897	0,396077	0,396077
10	659	0,306078	0,429495	0,341554	0,359042	0,392177	0,51901	0,427733	0,446307	0,600236	0,288849	0,297498	0,395528	0,395528
11	660	0,306346	0,429811	0,340975	0,359044	0,39168	0,517868	0,427589	0,445712	0,599864	0,288483	0,297235	0,395194	0,395194
12	661	0,306392	0,430071	0,340037	0,358833	0,391198	0,51681	0,427246	0,445085	0,597827	0,28818	0,296927	0,394311	0,394311
13	662	0,306601	0,430356	0,338983	0,358647	0,390565	0,516106	0,426755	0,444475	0,595361	0,28775	0,296218	0,393911	0,393911
14	663	0,306889	0,430708	0,338005	0,358534	0,389754	0,515721	0,426236	0,443904	0,594178	0,287257	0,295411	0,392282	0,392282
15	664	0,307081	0,431377	0,33722	0,358559	0,388963	0,515542	0,425942	0,443482	0,592336	0,286936	0,294992	0,391421	0,391421
16	665	0,307223	0,43275	0,336878	0,35895	0,388358	0,51564	0,42651	0,443503	0,590857	0,286582	0,294778	0,390739	0,390739
17	666	0,307258	0,43412	0,337099	0,359492	0,387714	0,515935	0,428322	0,44399	0,589319	0,285553	0,293894	0,389589	0,389589
18	667	0,306534	0,43355	0,337197	0,359094	0,386484	0,515525	0,430462	0,444157	0,587992	0,28321	0,292152	0,387785	0,387785
19	668	0,30441	0,43135	0,335322	0,357027	0,383712	0,512727	0,42964	0,442026	0,587023	0,280468	0,28985	0,38578	0,38578
20	669	0,30254	0,429028	0,331752	0,35444	0,380546	0,508558	0,425409	0,438171	0,585652	0,278497	0,287521	0,38389	0,38389
21	670	0,302857	0,42741	0,329014	0,353094	0,379525	0,505984	0,421554	0,435688	0,584012	0,277636	0,287239	0,382962	0,382962
22	671	0,304424	0,426707	0,327446	0,352859	0,379957	0,504863	0,419251	0,434691	0,581499	0,277574	0,28883	0,382634	0,382634
23	672	0,3058	0,426219	0,326322	0,35278	0,380232	0,503828	0,418016	0,434025	0,580927	0,277604	0,290011	0,382847	0,382847
24	673	0,306401	0,425576	0,325274	0,352417	0,379904	0,502415	0,417425	0,433248	0,580492	0,277229	0,290011	0,382577	0,382577
25	674	0,306102	0,424785	0,324081	0,351656	0,378995	0,50078	0,416799	0,432191	0,578004	0,276289	0,289078	0,381124	0,381124
26	675	0,305248	0,424058	0,322718	0,350675	0,3777	0,499295	0,415851	0,430949	0,576247	0,275035	0,287982	0,379755	0,379755
27	676	0,30436	0,423346	0,321177	0,349627	0,376073	0,497966	0,414653	0,429564	0,574496	0,273795	0,287158	0,378483	0,378483

Fonte: Autor

## Etapa 6

# Análise por FT-IR: elaboração da planilha de espectros

**13º passo:** Marcar a cela E2 em Plan2 (primeira coluna preenchida com “#####”) e inserir a fórmula:

= MÉDIA(B2:D2)

e estender a fórmula de E1 até E3552.

**14º passo:** Com a coluna E2 ainda marcada, copiá-la e colá-la nas demais colunas preenchidas com “#####” até a última amostra.

**15º passo:** Inserir um dado de variável independente ( $CLED+=1/CLED-=0$ ). sempre na célula da primeira linha abaixo do último valor inserido da primeira replicata de cada amostra. Estender este dado para as demais replicatas e para a média. Repetir este procedimento para cada variável independente.

**16º Passo:** Deslocar Plan2 para frente de Plan1 e salvar.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	O1
1		002a	002b	002c	002	010Ra	010Rb	010Rc	010R	010va	010vb	010vc	010V	010V
2	651	0,299161	0,425298	0,345326	0,356595	0,393476	0,520607	0,428218	0,447434	0,604228	0,291821	0,296901	0,39765	0,
3	652	0,300535	0,426186	0,344673	0,357131	0,393569	0,520862	0,428127	0,447519	0,60411	0,291641	0,297318	0,39769	0,
4	653	0,301218	0,427033	0,343846	0,357365	0,393662	0,521149	0,428016	0,447609	0,603726	0,291335	0,297836	0,397632	0,
5	654	0,301513	0,427947	0,343121	0,357527	0,393742	0,52144	0,427938	0,447706	0,602938	0,290709	0,298097	0,397248	0,
6	655	0,301901	0,428686	0,342621	0,357736	0,393763	0,521554	0,427913	0,447744	0,60209	0,290011	0,29814	0,396747	0,
7	656	0,30269	0,42895	0,342258	0,357966	0,393628	0,521302	0,427887	0,447606	0,601655	0,289638	0,298196	0,396496	0,
8	657	0,303901	0,428942	0,341985	0,358276	0,393273	0,520732	0,427836	0,44728	0,601369	0,289517	0,298179	0,396355	0,
9	658	0,305205	0,42912	0,341804	0,35871	0,392746	0,519973	0,427782	0,446833	0,601061	0,289274	0,297897	0,396077	0,
10	659	0,306078	0,429495	0,341554	0,359042	0,392177	0,51901	0,427733	0,446307	0,600236	0,288849	0,297498	0,395528	0,
11	660	0,306346	0,429811	0,340975	0,359044	0,39168	0,517868	0,427589	0,445712	0,599864	0,288483	0,297235	0,395194	0,
12	661	0,306392	0,430071	0,340037	0,358833	0,391198	0,51681	0,427246	0,445085	0,597827	0,28818	0,296927	0,394311	0,
13	662	0,306601	0,430356	0,338983	0,358647	0,390565	0,516106	0,426755	0,444475	0,595361	0,28775	0,296218	0,39311	0,
14	663	0,306889	0,430708	0,338005	0,358534	0,389754	0,515721	0,426236	0,443904	0,594178	0,287257	0,295411	0,392282	0,
15	664	0,307081	0,431377	0,33722	0,358559	0,388963	0,515542	0,425942	0,443482	0,592336	0,286936	0,294992	0,391421	0,
16	665	0,307223	0,43275	0,336878	0,35895	0,388358	0,51564	0,42651	0,443503	0,590857	0,286582	0,294778	0,390739	0,
17	666	0,307258	0,43412	0,337099	0,359492	0,387714	0,515935	0,428322	0,44399	0,589319	0,285553	0,293894	0,389589	0,
18	667	0,306534	0,43355	0,337197	0,359094	0,386484	0,515525	0,430462	0,444157	0,587992	0,28321	0,292152	0,387785	0,
19	668	0,30441	0,43135	0,335322	0,357027	0,383712	0,512727	0,42964	0,442026	0,587023	0,280468	0,28985	0,38578	0,
20	669	0,30254	0,429028	0,331752	0,35444	0,380546	0,508558	0,425409	0,438171	0,585652	0,278497	0,287521	0,38389	0,
21	670	0,302857	0,42741	0,329014	0,353094	0,379525	0,505984	0,421554	0,435688	0,584012	0,277636	0,287239	0,382962	0,
22	671	0,304424	0,426707	0,327446	0,352859	0,379957	0,504863	0,419251	0,434691	0,581499	0,277574	0,28883	0,382634	0,
23	672	0,3058	0,426219	0,326322	0,35278	0,380232	0,503828	0,418016	0,434025	0,580927	0,277604	0,290011	0,382847	0,
24	673	0,306401	0,425576	0,325274	0,352417	0,379904	0,502415	0,417425	0,433248	0,580492	0,277229	0,290011	0,382577	0,
25	674	0,306102	0,424785	0,324081	0,351656	0,378995	0,50078	0,416799	0,432191	0,578004	0,276289	0,289078	0,381124	0,
26	675	0,305248	0,424058	0,322718	0,350675	0,3777	0,499295	0,415851	0,430949	0,576247	0,275035	0,287982	0,379755	0,
27	676	0,30436	0,423346	0,321177	0,349627	0,376073	0,497966	0,414653	0,429564	0,574496	0,273795	0,287158	0,378483	0,

Fonte: Autor

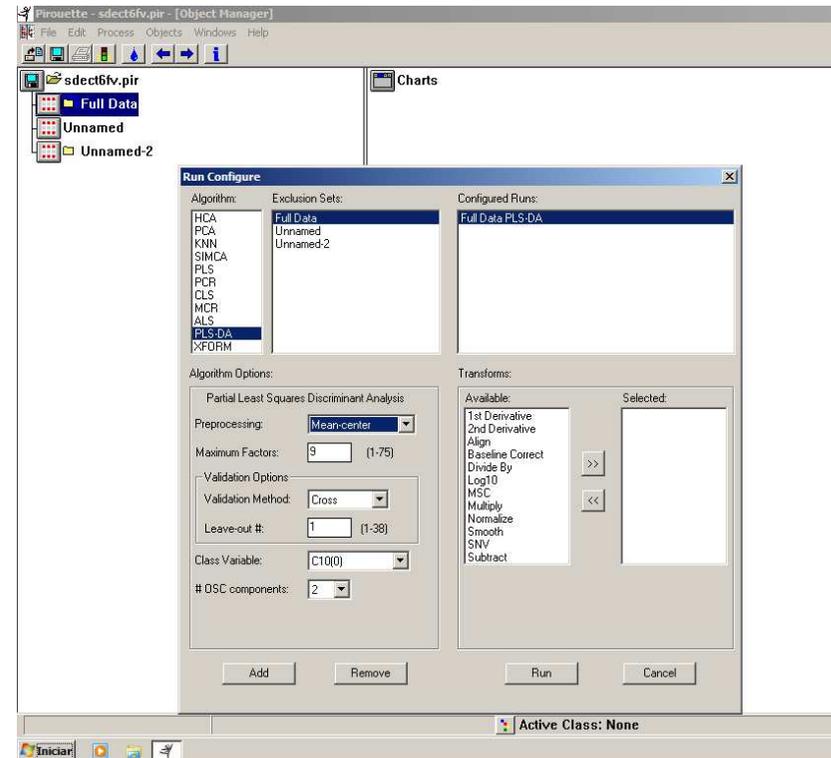
## Etapa 7

# Elaboração do método quimiométrico de diagnóstico de infecção em fluido vaginal

**1º passo:** Abrir o arquivo em extensão \*.xls “Dados01” em software Pirouette 4.0 : e transferir os dados para o software Pirouette versão 4.0 ou outro software equivalente de análise multivariada.

**2º passo:** Realizar as operações de definição de

- transposição da planilha de dados
- exclusão de colunas de replicatas e manutenção das colunas de médias.
- definição da coluna de classe. No nosso caso amostras CLED+ (valor 1) e CLED- (valor 0);
- aplicação do algoritmo PLS-DA com diferentes combinações de pré-processamento de variável e de amostra e de correção de sinal ortogonal (2 componentes).



Fonte: Autor

## Etapa 7

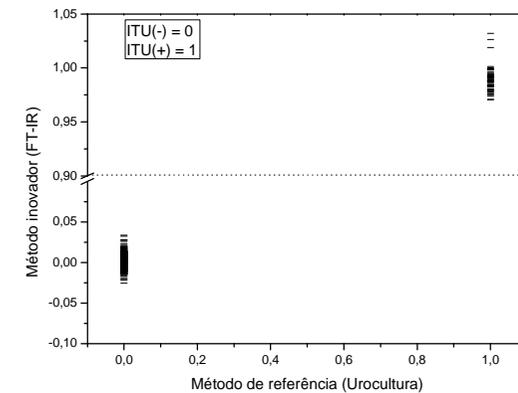
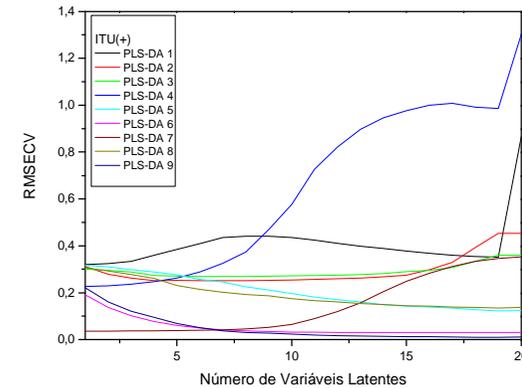
# Elaboração do método quimiométrico de diagnóstico de infecção em fluido vaginal

**3º Passo:** Selecionar o modelo com menor erro de previsão (RMSECV) e valor de  $R^2$  mais próximo de 1,0 (considerar seis casas decimais) e número mínimo de fatores (VL) necessários dado por:

$$VL = (A-6)/6$$

Onde A é o número de espectros disponíveis incluídos para modelagem.

**4º Passo:** Salvar modelo: “File → Save Models → Yi Médias → PLS-DA”.



Fonte: Autor

# Vantagens dos novos métodos em relação às metodologias tradicionais

## Métodos tradicionais

Diagnóstico de infecção em FV e de agente de infecção:

- Necessita de consumo de meios de cultivo (CHROMOagar Candida®, Sabouraud com cloranfenicol, outros) para realização de cultura.
- Os principais agentes de interesse são leveduras do gênero *Candida* sp.
- Em nosso caso, para a identificação e diferenciação entre agentes de Infecção em FV Lac+ e Lac- usamos o meio CLED.

## Métodos inovadores

- Os métodos baseados em FT-IR (técnica de ATR) não necessitam de reagentes nem para cultura.
- Não necessitam incubação em meios de cultivo para identificação de agentes Lac+ ou Lac-.
- Não agredem o meio-ambiente por gerarem baixas quantidades de resíduos tóxicos (papel alumínio).
- Agilizam as análises microbiológicas de FV.

## Limitações do novo método

Os modelos PLS-DA só apresentam predição de boa qualidade desde que as amostras de fluido vaginal apresentem características semelhantes às do conjunto de validação cruzada.

A implementação e aplicação de modelos quimiométricos requer pessoal capacitado em recursos de Análise Multivariada o que não faz parte da rotina de cursos de graduação em Farmácia, Biomedicina e de Ciências Biológicas.



Fonte: Autor