ILUSTRÍSSIMO(A) SENHOR(A) PRESIDENTE DA COMISSÃO DE LICITAÇÕES E EXCELENTÍSSIMO SENHOR PREFEITO MUNICIPAL DE XAXIM/SC.

Pregão Presencial Registro de Preços 045/2022
Processo Licitatório 121/2022

AGRO LÍDER LTDA., pessoa jurídica de direito privado estabelecida na Rua Rui Barbosa, 556E, Centro, em Chapecó/SC, CEP.: 89.801-040, inscrita no CNPJ sob n.º 05.443140/0001-58, neste ato representada por seu Sócio Administrador **Engº. Agr. Ricardo Urbancic**, inscrito no CPF sob n.º 739.384.599-79, com Contrato Social em anexo (Doc. 01), vem respeitosamente, perante Vossa Senhoria e Vossa Excelência para apresentar

IMPUGNAÇÃO,

ao Edital de Pregão em epígrafe, nos termos do disposto no seu item 9.1 e no artigo 41, §§1º e 2º da Lei 8666/93, combinado com o art. 9º da Lei federal 10.520/02, pelos fundamentos de fato e de direito expostos nas Razões que seguem.

Requer o recebimento da presente Impugnação para determinar a ANULAÇÃO do certame com a RETIFICAÇÃO do Edital para republica-lo com correção às questões apontadas nesta e, acaso assim não entenda Vossa Senhoria, a remessa dos autos ao Senhor Prefeito Municipal, para julgamento por superior instância na forma da lei.

Nestes termos,
Pede deferimento.

Chapecó, 15 de agosto de 2022.

Engº. Agr. Ricardo Urbancic,
CPF 739.384.599-79,
Sócio-administrador.

Com Assessoria Jurídica, nos termos do §2º-A, do art. 2º, da Lei Federal 8.906/94, de:

Armenio de Oliveira dos Santos,
Mestre em Direito e Advogado.
OAB/RS 48.458.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br



EXCELENTÍSSIMO SENHOR PREFEITO MUNICIPAL DE XAXIM/SC.

Pregão Presencial Registro de Preços 045/2022
Processo Licitatório 121/2022

IMPUGNANTE: Agro Líder LTDA.

IMPUGNADO: Edital de Pregão Presencial Registro de Preços 045/2022

RAZÕES DE IMPUGNAÇÃO

Eméritos Julgadores

I- DA TEMPESTIVIDADE DA IMPUGNAÇÃO.

O Edital prevê expressamente em seu Preâmbulo que a abertura dos envelopes será no dia 26 de agosto de 2022.

Desta forma é tempestiva a presente Impugnação, conforme o item 9.1 do Edital, devendo a mesma ser recebida, processada e provida pelas razões próprias que nesta se aduz.

II - PRELIMINAR DE INCOMPETÊNCIA DO PREGOEIRO PARA DECIDIR SOBRE A IMPUGNAÇÃO.

O Edital é silente quanto ao procedimento de Julgamento de Impugnações e de Recursos Administrativos e, neste sentido, a competência para tanto não pode ser somente do Pregoeiro, pois que em desacordo com a própria Lei do Pregão e com o sistema Recursal em licitações na medida em que a Impugnação se caracteriza como um Recurso e assim ela DEVERÁ ser remetida à Autoridade Superior, o Sr. Prefeito Municipal para decisão fundamentada.

Sobre esta incompetência para admissibilidade temos a doutrina de Niebuhr[1], como se vê:

> Como dito, **a Lei nº 10.520/02 não prescreve a quem o Recurso Administrativo deve ser dirigido e quem é o agente**

[1] NIEBUHR, Joel de Menezes. *Pregão Presencial e Eletrônico.* 6ª ed., Belo Horizonte/MG: Editora Fórum, 2011. p. 221, 222 e 361.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

> **competente para apreciá-lo. Diante da omissão da Lei nº 10.520/02, deve-se aplicar o §4º do art. 109 da Lei nº 8.666/93**, cujo teor determina que o recurso deve ser dirigido à autoridade superior, por intermédio do pregoeiro, que pode rever sua posição. Aliás, **no mesmo sentido, o inciso III do artigo 7º do Decreto Federal nº 3.555/00 prescreve à autoridade** competente a atribuição de decidir os recursos contra atos do pregoeiro.
>
> Aliás, **é fora de dúvida que o pregoeiro não tem competência para decidir sobre o recurso**. Ora, o ato contra o qual é interposto o recurso é de autoria do próprio pregoeiro. Se o pregoeiro fosse competente para decidir o recurso, em vez de recurso, dever-se-ia falar em *pedido de reconsideração.* **É sabido que o recurso implica em reanálise de dada questão por autoridade hierarquicamente superior a quem produziu o ato objeto do recurso.** Quando quem produziu o ato é quem decide, não se trata de recurso, mas de *pedido de reconsideração.*
>
> Em vista de tais considerações, parte-se da premissa de que é a autoridade competente, e não o pregoeiro, quem deve decidir, em definitivo, o recurso. **Ao pregoeiro, na forma do §4º do art. 109 da Lei nº 8.666/93, é dada oportunidade para rever a sua posição. Mantida, o recurso deve ser encaminhado à autoridade competente, para decisão final e definitiva no âmbito administrativo.**
>
> ...
>
> O recurso contra decisão do pregoeiro é dirigido à autoridade competente. Se o recurso fosse da alçada do pregoeiro ele não se chamaria *recurso*, mas pedido de *reconsideração.* **A reconsideração é dirigida ao sujeito que praticou o ato. O recurso é dirigido à outra pessoa que não aquele que praticou o ato recorrido, à autoridade superior ao pregoeiro. Pois bem, como o pregoeiro não tem competência para decidir o recurso, apenas, se for o caso**, rever a sua posição, **ele não exerce qualquer juízo de admissibilidade. O pregoeiro não pode recusar recurso de pronto, sem encaminhá-lo à autoridade competente.** Nada obstante isso, os sistemas eletrônicos do Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, o *comprasnet,* e o do Banco do Brasil outorgam ao pregoeiro tal prerrogativa, que, **no final das contas, não encontra amparo na Lei nem do decreto e vulnera ostensivamente o princípio constitucional do devido processo legal.** (Grifamos)

Além disso, algumas das questões que serão postas no decorrer desta Impugnação serão eminentemente técnicas e que por tratarem-se do âmbito do Direito Ambiental e de Saúde Pública, podem ensejar, acaso ocorra alguma ilegalidade nestes aspectos ou problema no uso do produto adquirido, responsabilidade Administrativa e, até mesmo, Penal para os Gestores das respectivas áreas envolvidas e do Sr. Prefeito, sendo necessário para decidir este Recurso de Impugnação os respectivos Pareceres Técnico-Jurídicos que a embasem.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

Deste modo, acaso não ocorra o provimento da Impugnação de plano, ela DEVERÁ ser remetida à Autoridade Superior, o Sr. Prefeito Municipal para decisão fundamentada, o que desde já SE REQUER.

De outra banda, é preciso que conste no Edital este procedimento de remessa e de julgamento de Impugnações e Recursos Administrativos pela Autoridade Superior para fins garantia do Contraditório e da Ampla Defesa, o que, também, SE REQUER.

III- DOS FATOS E DO DIREITO

III.1 - Da previsão da exclusividade para Microempresas - MEs e Empresas de Pequeno Porte - EPPs.

O Edital atacado, estabelece no seu Preâmbulo que se trata de "*LICITAÇÃO EXCLUSIVA PARA ME/EPP em conformidade com o Decreto Municipal 019/2021.*"

E o referido Decreto Municipal trata de Regulamentação, no âmbito Municipal, do tratamento diferenciado de MEs e EPPs em licitações, citando, expressamente os artigos 42 a 45 e 47 a 49 da LC 123/2006.

No entanto, o Referido Decreto Municipal, ao dispor acerca de regras de licitações e contratações da Administração Pública prevendo regramentos NÃO PREVISTOS na LC 123/06 afigura-se ilegal por ser *ULTRA LEGEM E EXTRA LEGEM.*

Ademais, referido Decreto Municipal também se afigura INCONSTITUCIONAL em infringência ao art. 22, XXVII da CF/88, o qual dispõe que:

> Art. 22. **Compete privativamente à União legislar s**obre:
> ...
> XXVII - **normas gerais de licitação e contratação, em todas as modalidades, para as administrações públicas diretas, autárquicas e fundacionais da União, Estados, Distrito Federal e Municípios,** obedecido o disposto no art. 37, XXI, e para as empresas públicas e sociedades de economia mista, nos termos do art. 173, § 1°, III; (G.n.)

Neste sentido já decidiu o STF:

> A igualdade de condições dos concorrentes em licitações, embora seja enaltecida pela Constituição (art. 37, XXI), pode ser relativizada por duas vias: (a) pela lei, mediante o estabelecimento de condições de diferenciação exigíveis em abstrato; e (b) pela autoridade responsável pela condução do processo licitatório, que poderá estabelecer elementos de distinção circunstanciais, de qualificação técnica e econômica, sempre vinculados à garantia de cumprimento de obrigações específicas. **Somente a lei federal poderá, em âmbito geral, estabelecer desequiparações entre os concorrentes e assim restringir o direito de participar de licitações em condições de igualdade. Ao direito estadual (ou municipal) somente será legítimo inovar nesse particular se tiver como objetivo estabelecer condições específicas,**

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

nomeadamente quando relacionadas a uma classe de objetos a serem contratados ou a peculiares circunstâncias de interesse local. [**ADI 3.735**, rel. min. Cármen Lúcia, j. 8-9-2016, P, *DJE* de 1º-8-2017.]

E o Interesse Local não é o caso do Decreto Municipal, eis que ele pretende é regulamentar a Lei Complementar Federal 123/06 no âmbito municipal e, neste sentido, não pode dispor acerca de norma licitatória e de contratos em afronta ao princípio da igualdade previsto no art. 37, XXI da CF/88.

Deste modo é que a previsão de tratamento diferenciado para MEs e EPPs em licitações deve ter como base o disposto na própria LC 123/06 e na jurisprudência aplicável à ela.

No caso, embora não citado explicitamente no Edital, o enquadramento realizado no caso é pelo inciso I do art. 48 da LC 123/06, o qual prevê valor de até R$ 80.000,00 (oitenta mil reais), sendo que o Anexo II traz uma previsão orçamentária máxima de R$ 75.800,00.

Porém, este enquadramento da LC 123/2006 para que se empregue licitação exclusiva para MEs e EPPs precisa ser interpretada em consonância com todos os dispositivos da mesma Lei, além de todo o arcabouço jurídico aplicável ao caso.

O direito precisa ser interpretado como um sistema, buscando a hierarquização e a superação das antinomias. Não isoladamente e, neste sentido, temos o magistério do Professor Juarez Freitas[2] que ensina:

> "Destarte, assumindo ótica mais elucidativa, a interpretação sistemática deve ser entendida como uma operação que consiste em atribuir, topicamente, a melhor significação, dentre várias possíveis, aos princípios, às normas estritas (ou regras) e aos valores jurídicos, hierarquizando-os num todo aberto, fixando-lhes o alcance e superando antinomias em sentido amplo, tendo em vista bem, solucionar os casos sob apreciação.
>
> (...)
>
> Dito de outro modo, verdadeiramente a interpretação sistemática, compreendida em novas e realistas bases, é a que se realiza em consonância com aquela rede hierarquizável, máxime na Constituição, tecida em princípios, regras e valores considerados dialeticamente e em conjunto na interação com o intérprete, positivador derradeiro."

Nesta harmonização precisamos considerar desde os princípios e dispositivos constitucionais, passando pela legislação específica e chegando até ao edital.

---

[2] FREITAS, Juarez. A Interpretação Sistemática do Direito. 4ª edição. São Paulo, SP: Malheiros, 2004. Pág. 80.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

Neste sentido o dispositivo que embasa o Edital afronta diversos Princípios Constitucionais da Lei de Licitações, como nos ensina Niebhur[3]:

> **O inciso I do artigo 48 da Lei Complementar 123/06 é flagrantemente inconstitucional.**
>
> Em primeiro lugar, **ele opõe-se ao princípio da isonomia**, pois impede pessoas não qualificadas como microempresas ou empresas de pequeno porte de participarem de licitação.
>
> ...
>
> Entretanto, favorecer microempresas e empresas de pequeno porte não significa impedir que outras pessoas participem de licitação. Ou seja, favorecer significar privilegiar microempresas e empresas de pequeno porte dentro da licitação e não excluir de cambulhada aqueles que não recebam tal qualificativo. Quer dizer que o favorecimento pressupõe a competição. **O problema é que o inciso I do artigo 48 da Lei Complementar no 123/06 recusa a competição, ferindo de morte o direito das pessoas que não sejam microempresas ou empresas de pequeno porte de participarem de licitação, que se funda no princípio da isonomia, encartado no caput do artigo 50 da Constituição Federal.**
>
> Demais disso, **o inciso I do artigo 48 da Lei Complementar nº 123/06 viola os princípios da eficiência e da competitividade (caput e inciso XXI do artigo 37 da Constituição Federal). A restrição à competitividade é mais clara que a luz solar. E o fato é que competição restrita limita o número de propostas ofertadas à Administração, cerceando o universo delas e diminuindo as chances de obter a mais vantajosa, o que, de lanço, não se harmoniza com o princípio da eficiência.**
>
> Além do mais, **o inciso I do artigo 48 da Lei Complementar nº 123/06 é incompatível com os princípios regentes da ordem econômica, entre os quais os da livre iniciativa e da livre concorrência (caput e inciso IV do artigo 170 da Constituição Federal), porque cria espécie de reserva de mercado em licitação pública em prol das microempresas e empresas de pequeno porte.** (G.n.)

E, ademais, o art. 49 da mesma LC 123/2006, diz:

> Art. 49. **Não se aplica** o disposto nos arts. 47 e 48 desta Lei Complementar quando:
>
> ...
>
> II - **não houver um mínimo de 3 (três) fornecedores competitivos enquadrados como microempresas ou empresas de pequeno porte sediados local ou regionalmente e capazes de cumprir as exigências estabelecidas no instrumento convocatório**;
>
> III - **o tratamento diferenciado e simplificado para as microempresas e empresas de pequeno porte não for**

[3] Ob. Citada nº 01, pág. 125.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

> **vantajoso para a administração pública ou representar prejuízo ao conjunto ou complexo do objeto a ser contratado;**
>
> IV - a licitação for dispensável ou inexigível, nos termos dos arts. 24 e 25 da Lei nº 8.666, de 21 de junho de 1993, excetuando-se as dispensas tratadas pelos incisos I e II do art. 24 da mesma Lei, nas quais a compra deverá ser feita preferencialmente de microempresas e empresas de pequeno porte, aplicando-se o disposto no inciso I do art. 48. (Redação dada pela Lei Complementar nº 147, de 2014)

O objeto do Edital é a "(...) aquisição de **Larvicida Biológico para atender as necessidades da Secretaria de Agricultura e Meio Ambiente** do Município de Xaxim/SC, na quantidade estimada constante do ANEXO II – Relação de Itens" (SIC), sendo que tal Anexo prevê "**Larvicida Biológico BTI - Potência mínima 1200 (U.T.I.)/mg, (Bacilus Thurigiensis Var. Israelensis)**, em embalagens de 10 litros, contendo informações de validade, lote e legislação pertinente" (g.n.), e que, ainda, o Anexo I - Termo de Referência traz no seu item 2.1 diz que "o **objetivo da presente licitação é a aquisição de larvicidas biológicos, destinados ao controle de borrachudos**, com potência mínima de 1200 UTI/MG, **para atender as necessidades da Secretaria Municipal de Agricultura e Meio Ambiente**" (g.n.).

Neste contexto, trata-se de **produto especializado** para uso em Saúde Pública e de aplicação no Meio Ambiente natural e que exige, por si só, inúmeros registros nos órgãos competentes e que SOMENTE PODE SER COMERCIALIZADO PARA O PODER PÚBLICO E PARA EMPRESAS ESPECIALIZADAS , sendo que NÃO SE TEM CONHECIMENTO E NOTÍCIA DE QUE EXISTAM **NO MÍNIMO 3 (TRÊS) FORNECEDORES COMPETITIVOS ENQUADRADOS COMO MICROEMPRESAS OU EMPRESAS DE PEQUENO PORTE SEDIADOS LOCAL OU REGIONALMENTE E CAPAZES DE CUMPRIR AS EXIGÊNCIAS ESTABELECIDAS NO INSTRUMENTO CONVOCATÓRIO,** o que gera a aplicação, *incontinenti*, do inciso I do Art. 49 da LC 123/2006.

Neste ponto, imperioso explicitar que a LC 123/06 não trouxe a previsão acerca da regionalidade prevista no art. 49, inciso II, o que tem se resolvido pela interpretação jurisprudencial, como no caso da Orientação Normativa AGU/CJU/MG 60/10 no sentido de que:

> O significado da expressão 'regional' deve ser buscado na situação concreta, **podendo englobar os Municípios próximos ao Município em que se encontra o órgão assessorado, independentemente de fazer parte do mesmo Estado.** A delimitação da região deverá constar no edital e os motivos ensejadores da referida definição deverão estar expressos nos autos. (G.n.)

E assim, o edital trouxe a previsão de que a região deve ser "o âmbito dos municípios constituintes da Comarca a que pertence o próprio Município de Xaxim, definida pelo Tribunal de Justiça de Santa Catarina".

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

E o TJSC traz em seu site https://www.tjsc.jus.br/comarcas/xaxim a circunscrição da Comarca de Xaxim englobando os Municípios de Marema, Lageado Grande e o próprio Xaxim.

E esta inexistência de MEs e EPPs legalmente habilitadas para a Comercialização de Larvicidas para o combate de Borrachudos se justifica pela legislação específica que necessita ser cumprida para que a Pessoa Jurídica tenha habilitação legal para tanto, dentre elas a Resolução de Diretoria Colegiada da ANVISA - RDC 16/2014/ANVISA[4], a qual "*Dispõe sobre os Critérios para Peticionamento de Autorização de Funcionamento (AFE) e Autorização Especial (AE) de Empresas*" e que diz:

> Art. 2º Para efeitos desta Resolução são adotadas as seguintes definições:
>
> ...
>
> **II - Autorização de Funcionamento (AFE): ato de competência da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, contendo autorização para o funcionamento de empresas** ou estabelecimentos, instituições e órgãos, **concedido mediante o cumprimento dos requisitos técnicos e administrativos constantes desta Resolução;**
>
> ...
>
> Art. 3º **A AFE é exigida de cada empresa que realiza as atividades de armazenamento, distribuição,** embalagem, expedição, exportação, extração, fabricação, fracionamento, importação, produção, purificação, reembalagem, síntese, transformação e **transporte de** medicamentos e insumos farmacêuticos destinados a uso humano, cosméticos, produtos de higiene pessoal, perfumes, **saneantes** e envase ou enchimento de gases medicinais.
>
> Parágrafo único. **A AFE é exigida de cada estabelecimento que realiza as atividades descritas no caput com produtos para saúde.**

Assim, as exigências técnicas desta RDC tornam INVIÁVEL que MEs e EPPs consigam se adequar e obter a AFE nela prevista, DOCUMENTO ESTE, ALIÁS QUE NÃO ESTÁ PREVISTO COMO EXIGÊNCIA DE HABILITAÇÃO NO CERTAME no subitem 7.3 e que DEVE SER PREVISTO E EXIGIDO, na medida em que faz parte da documentação imprescindível para demonstrar a legalidade dos licitantes perante a ANVISA e também porque o objeto do certame constante no Anexo II - Relação de Itens, previsto no item 1.1 do Edital é expresso quando refere "legislação pertinente", sendo mais uma razão para que o certame não seja exclusivo para MEs e EPPs, **eis que inexistem empresas com tal porte e que atendam plenamente as condições legais para fornecimento do produto especializado objeto do Edital na região definida pelo Edital e até mesmo fora dela**, situação esta já confirmada em sede do Pregão Presencial 12/2021 do Município de Orleans, como se vê:

---

[4] *In* http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_16_2014_COMP.pdf/542cc137-b331-4596-9c87-7426c0ae77b7, acesso em 12/08/2022, as 11h:48min.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

DECLARAÇÃO

EU, **EDSON KESTRING**, Secretário de Agricultura do município de Orleans, venho através da presente declarar que não foi possível obter cotação de preços do produto licitado com pequenas ou microempresas. Dessa forma, visando não causar prejuízo ao erário, não havendo empresas de pequeno porte para satisfazer as exigências do Edital, solicitamos a retificação do Edital para supressão da exclusividade de participação de pequenas e microempresas no presente certame, sendo liberada a participação de todos os interessados.

Era o que havia a declarar.

Orleans/SC 26 de Fevereiro de 2021.

Edson Kestring

Secretário de Agricultura

De outra banda, em decorrência disto, temos, também, a aplicação do inciso II do art. 49 da mesma Lei, eis que temos PREJUÍZO EFETIVO QUANTO À VANTAJOSIDADE para o Poder Público.

Neste sentido, também, a doutrina do Professor Marçal Justem Filho[5]:

> 2.1) O princípio da República:
> **A "vantajosidade"**
> A licitação destina-se a selecionar a proposta mais vantajosa para a administração pública, o que configura uma manifestação direta do princípio da República. **A licitação busca selecionar o contratante e a proposta que apresentem as melhores condições para atender a reclamos do interesse coletivo, tendo em vista todas as circunstâncias previsíveis (preço, capacitação técnica, qualidade, etc).**" (Grifos nossos)

Logo, pela inexistência de no mínimo TRÊS empresas enquadradas como MEs ou EPPs local ou regionalmente que sejam competitivas e que mesmo que houvessem, o objeto trata-se de larvicida biológido especializado que requer

[5] FILHO, Marçal Justen. Comentários à lei de licitações e contratos administrativos. 13ª ed., São Paulo: Dialética, 2009. p. 63.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

responsabilidade técnica específica, sendo que adquirir tal produto de empresa que não tenha habilitação técnica para tanto causa **evidente prejuízo ao conjunto ou complexo do objeto a ser contratado,** nos temos do inciso II do art. 49 da LC 123/2006, além de restringir o universo de competitividade e violando o princípio da Ampla Concorrência previsto no art. 3º da Lei 8.666/93, aplicável em modalidade de Pregão por força do art. 9º da Lei 10.520/02, **é inaplicável ao caso a exclusividade constante no item 2 (dois) do Edital**, devendo o mesmo ser revisto e republicado SEM ESTA EXIGÊNCIA e com previsão expressa no subitem 7.3 de apresentação de AFE da ANVISA.

III.2 - Da falta de previsão no Edital de Reconhecimento de CEPA prevista no WHOPES da Organização Mundial da Saúde e da aplicação ao caso concreto dos Princípios da Precaução e da Prevenção.

Como já citado supra, o objeto do Edital é a "(...) aquisição de **Larvicida Biológico para atender as necessidades da Secretaria de Agricultura e Meio Ambiente** do Município de Xaxim/SC, na quantidade estimada constante do ANEXO II – Relação de Itens" (SIC), sendo que tal Anexo prevê "**Larvicida Biológico BTI - Potência mínima 1200 (U.T.I.)/mg, (Bacilus Thurigiensis Var. Israelensis)**, em embalagens de 10 litros, contendo informações de validade, lote e legislação pertinente" (g.n.), e que, ainda, o Anexo I - Termo de Referência traz no seu item 2.1 diz que "o **objetivo da presente licitação é a aquisição de larvicidas biológicos, destinados ao controle de borrachudos**, com potência mínima de 1200 UTI/MG, **para atender as necessidades da Secretaria Municipal de Agricultura e Meio Ambiente**" (g.n.).

Assim, o produto é especializado para combater o mosquito denominado como Borrachudo "*Simulium spp*" e, para tanto, é aplicado no ambiente natural e em corpos de água que podem servir e/ou servem para consumo de animais e humanos e, por tais particularidades, trata-se de matéria de Saúde Pública e de Direito Ambiental.

Deste modo, ante tais particularidades, é que o Poder Público deve prever determinadas características de produto ou circunstâncias específicas de serviços que melhor atendam as suas necessidades, preservando o interesse da coletividade e a Saúde Pública, observando a Res. 467/15 do CONAMA[6], o que significa aplicação no meio ambiente, em corpos d'água que podem servir ao consumo humano e de animais e, até mesmo, em água potável para o direto consumo humano.

E esta obrigação de preservação da Saúde e do Meio Ambiente é o que está previsto no art. 23, II, VI e VII e art. 225, ambos da Constituição Federal - CF/88.

Assim, é que Município deve prever no Edital e em seu TR a exigência de que o Produto a ser fornecido seja "**Larvicida Biológico BTI (*Bacilius Thuringiensis, Variedade Israelensis*)**, com "**CEPA AM 6552, avaliada e aprovada pela Organização Mundial da Saúde - OMS, conforme lista de pré-**

[6] *In* encurtador.com.br/oNQWX, acesso em 12/08/2022, as 12h:06min.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

qualificação da *World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme - WHOPES'*, sendo esta é a garantia de que o produto que será utilizado apresenta SEGURANÇA para a população, animais e o Meio Ambiente.

E tal previsão editalícia é perfeitamente legal e adequada tecnicamente na medida em que a OMS é uma Agência da ONU - Organização das Nações Unidas que tem por objetivo desenvolver ao máximo possível o nível de saúde de todos os povos. A saúde é definida no documento de sua constituição como um "*estado de completo bem-estar físico, mental e social e não consistindo somente da ausência de uma doença ou enfermidade.*"

E o Brasil é um dos Países integrantes das Nações Unidas, tendo sido um de seus Membros-fundadores, assim denominados os países que assinaram a Declaração das Nações Unidas de 1º de janeiro de 1942 ou que tomaram parte da Conferência de São Francisco, tendo assinado e ratificado a sua Carta, o que pode ser visto no link https://nacoesunidas.org/conheca/paises-membros/ - paisesMembros2.

Assim, o Brasil assinou a Declaração das Nações Unidas em 24 de outubro de 1945 a qual é uma Convenção Internacional sobre Direitos Humanos e, desta forma, tem força de norma Constitucional no nosso Ordenamento Jurídico por expressa previsão do §3º do art. 5º da Constituição da República de 1988.

Logo, não há nenhuma ilegalidade em se prever que determinado produto ou qualquer outra circunstância ou fato tenha o reconhecimento da ONU ou de uma de suas Agências, neste caso a OMS, pois o Direito Constitucional do Brasil reconhece estes organismos com força de Norma Constitucional.

Além disso em Licitações e Contratos Administrativos há a incidência da supremacia do interesse público, que é o privilégio administrativo onde estão presentes as denominadas cláusulas exorbitantes, as quais derrogam o direito comum e que não são inseridas em contratos comuns.

E as chamadas cláusulas de privilégio são uma característica específica das licitações e dos contratos administrativos e que não existem nos contratos tradicionais, eis que conferem uma desigualdade entre as partes que no direito privado não são admissíveis, mas perfeitamente legais no direito público em face da supremacia do interesse público sobre o privado e como permissivo da defesa dos interesses da coletividade. Daí também a denominação de cláusulas exorbitantes, pois que exorbitam do direito comum.

E isto tanto é verdadeiro que na consulta respondida pelo Ministério da Saúde - MS em sede do Mandado de Segurança 1054133-91.2020.4.01.3400 que tramitou perante a 17ª Vara Federal Cível da SJDF vemos as seguintes passagens:

> Todas as aquisições realizadas pelo Ministério da Saúde são baseadas em uma série de critérios estabelecidos, considerando desde as recomendações da OMS, perfil de resistência a inseticidas da população do vetor e as discussões técnicas com especialistas na área.
>
> ...
>
> **b) O Ministério da Saúde entende ser legal a exigência de indicação, homologação ou da OMS para aquisição do larvicida BTi?**

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

> Sim, a escolha dos inseticidas utilizados no controle de vetores é norteada pela indicação presente na lista de pré-qualificação da *World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme* - WHOPES, grupo de especialistas da OMS, cuja principal missão é avaliar novos ingredientes ativos e, sempre que necessário, revalidar a indicação para uso em saúde pública. O *WHOPES* atua de forma integrada com laboratórios, universidades e governos com a missão de buscar produtos que sejam seguros para uso em saúde pública, em razão do restrito número de princípios ativos disponíveis para controle de vetores de doenças endêmicas. Para que os diversos princípios avos utilizados em saúde pública constem na lista de indicação do *WHOPES*, devem prioritariamente ser seguros tanto para o homem como para o ambiente, sendo também de baixa toxicidade, livre de efeitos carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos ou que tenham influência negava na reprodução humana. Para permanência na lista de indicação os diversos princípios ativos são submetidos a uma revisão periódica da literatura ("*rolling revision*"), uma vez que novas informações podem surgir sobre a questão ao longo do tempo. Este procedimento agrega segurança e tranquilidade para os países membros que utilizam as preconizações da OMS como referência, incluindo o Brasil. (Sublinhamos e hachuramos)

Deste modo, É EXPRESSA a menção de que o Ministério da Saúde segue as recomendações da OMS para ter "*segurança e tranquilidade*" no uso de produtos para combates de vetores. Além disso, podemos ver que SEMPRE há referência ao PRINCÍPIOS ATIVOS, no caso o BTI CEPA AM 6552, e que são estes os estudados pela OMS e constantes do WHOPES, pois ESTE É O INGREDIENTE ATIVO QUE SE CONSTITUI EFETIVAMENTE NO PRODUTO.

Ad argumentandum tantum, o fato é que o Ministério da Saúde recomenda a utilização do *Bacillus Thuringiensis Israelensis*, CEPA AM 65- 52 (BTI), pelos seguintes motivos:

> Os larvicidas utilizados no controle de vetores pertencem principalmente aos grupos dos biolarvicidas, reguladores do crescimento como inibidores da síntese de quitina e análogos de hormônio juvenil, espinosinas e organofosforados e piretróides. Entretanto, para uso em água potável a lista é mais restrita. Atualmente a Organização Mundial de Saúde recomenda o uso de larvicidas de cinco grupos conforme tabela abaixo (OMS, 2012).

Como se pode observar, tanto o Ministério da Saúde quanto a Organização Mundial de Saúde recomendam a CEPA AM 65-52 e, nessas condições, fica evidente que a administração deve seguir as recomendações dos órgãos de saúde (na descrição do produto – *Bacillus Thuringiensis, Var. Israelensis, CEPA AM 6552*) visando à proteção da saúde da população, da fauna e da flora.

Portanto, a exigência de comprovação de certificação do Princípio Ativo pela Organização Mundial da Saúde, não se mostra excessiva e é perfeitamente legal e

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

tecnicamente adequada, uma vez que o Princípio Ativo já é certificado pela Agência da ONU especializada em saúde, conforme acima citado pelo próprio MS.

A Lei Federal nº 8.666/93, em seu art. 7º, §5º prevê exceção à regra para realização de licitações cujo objeto inclua bens e serviços sem similaridade ou de marcas, características e especificações exclusivas, nos casos em que tecnicamente justificável:

> Art. 7º As licitações para a execução de obras e para a prestação de serviços obedecerão ao disposto neste artigo e, em particular, à seguinte seqüência:
>
> § 5º É vedada a realização de licitação cujo objeto inclua bens e serviços sem similaridade ou de marcas, características e especificações exclusivas, **salvo nos casos em que for tecnicamente justificável**, ou ainda quando o fornecimento de tais materiais e serviços for feito sob o regime de administração contratada, previsto e discriminado no ato convocatório. (G.n.)

Além disso, a certificação feita pela OMS é o que garante que o Princípio Ativo seja seguro para uso em saúde pública e que comprova a inexistência de toxinas prejudiciais a outros animais (incluindo humanos) com ausência da produção de *enterotoxinas* e *beta-exotoxinas*, bem como que sejam "*de baixa toxicidade, livre de efeitos carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos ou que tenham influência negava na reprodução humana*", como disse o MS em citação supratranscrita.

Portanto, pela supremacia do interesse público e **pelos Princípios da Precaução e da Prevenção**, aplicável em questões de Direito Ambiental é que **o Poder Público deve requerer um produto o qual lhe dê a certeza de que não ocasionará problemas no meio ambiente, no consumo de água por animais e no consumo da água que for tratada com o produto para uso humano, por questões de saúde pública.**

Sobre os Princípios da Precaução e da Prevenção encontramos a doutrina do Professor Paulo Affonso Leme Machado[7]:

> ***3. Princípio da precaução***
>
> ...
>
> A Lei de Política Nacional do Meio Ambiente no Brasil (Lei 6.938, de 31.8.1981) inseriu como objetivos dessa política pública a compatibilização do desenvolvimento econômico-social com a preservação da qualidade do meio ambiente e do equilíbrio ecológico e a preservação dos recursos ambientais, com vistas à sua utilização racional e disponibilidade permanente (art. 40, I e VI). **Entre os instrumentos da Política Nacional do Meio Ambiente colocou-se a "avaliação dos impactos ambientais" (art. 92, III). A prevenção passa a ter fundamento no Direito Positivo nessa lei pioneira na América Latina. Incontestável tornou-se a**

[7] MACHADO, Paulo Affonso Leme. Direito Ambiental Brasileiro. 9ª ed., São Paulo: Malheiros Editores, 2001. p. 49, 50, 66, 67 e 68.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

obrigação de prevenir ou evitar o dano ambiental quando o mesmo pudesse ser detectado antecipadamente. Contudo, no Brasil, em 1981, ainda não havíamos chegado expressamente a introduzir o princípio da precaução.

O princípio da precaução (*vorsorgeprinzip*) está presente no Direito alemão desde os anos 70, ao lado do princípio da cooperação e do princípio poluidor-pagador. Eckard Rehbinder, Professor da Universidade de Frankfurt, acentua que "a Política Ambiental não se limita à eliminação ou redução da poluição já existente ou iminente (proteção contra o perigo), mas faz com que a poluição seja combatida desde o início (proteção contra o simples risco) e que o recurso natural seja desfrutado sobre a base de um rendimento duradouro.

...

A implementação do princípio da precaução não tem por finalidade imobilizar as atividades humanas. Não se trata da precaução que tudo impede ou que em tudo vê catástrofes ou males. **O princípio da precaução visa à durabilidade da sadia qualidade de vida das gerações humanas e à continuidade da natureza existente no planeta. A precaução deve ser visualizada não só em relação as gerações presentes, como em relação ao direito ao meio ambiente das gerações futuras, como afirma Michel Prieur, Professor na Universidade de Limoges.**

...

4. Princípio da prevenção

O dever jurídico de evitar a consumação de danos ao meio ambiente vem sendo salientado em convenções, declarações e sentenças de tribunais internacionais, como na maioria das legislações internacionais.

...

Essas Convenções apontam para **a necessidade de prever, prevenir e evitar na origem as transformações prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente.** Todos esses comportamentos dependem de uma atitude do ser humano de estar atento ao seu meio ambiente e **não agir sem prévia avaliação das conseqüências**. O Direito Positivo internacional e nacional irá traduzindo, em cada época, através de procedimentos específicos, a dimensão do cuidado que se tem com o presente e o futuro de toda forma de vida no planeta.

"Prevenir" em Português, prévenir em Francês, prevenir em Espanhol, prevenire em Italiano e to prevent em Inglês — todos têm a mesma raiz latina, praevenire, e têm a mesma significação: **agir antecipadamente**. Contudo, para que aja ação é preciso que se forme o conhecimento do que prevenir. Com razão, o biologista francês Jean Dausset — prêmio Nobel de Medicina de 1980 — afirma que "para prevenir é preciso predizer".

...

No Brasil quando a Lei 6.938/81 diz, em seu art. 2º, que em sua Política nacional do Meio Ambiente observará como princípios a "proteção dos ecossistemas, com a preservação das áreas representativas", e "a proteção de áreas ameaçadas de degradação", está indicando especificamente onde aplicar-

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

> **se o princípio da prevenção. Não seria possível proteger sem aplicar medidas de prevenção.** (Sic e G.n.)

E tais Princípios devem sempre ser observados, a uma, para prevenir e evitar danos ao Meio Ambiente e à Saúde Pública e, a duas, porque o artigo 3º, IV, da Lei nº 6.938/81 prevê um amplo conceito de poluidor, o que significa que o responsável não é somente aquele que suja ou inquina o ambiente com matéria ou energia, como também, a pessoa física ou jurídica que degrada, ou altera desfavoravelmente a qualidade do ambiente. Isto posto, a legislação pátria concebe a responsabilização solidária dos agentes, inclusive públicos, mediante a possibilidade de demanda concomitante tanto do poluidor direto como do indireto (MILARÉ, 2013).

A sanção administrativa decorrente de danos ambientais está prevista no artigo 70, da Lei n.º 9.605/98, nestes termos: "*Considera-se infração administrativa ambiental toda ação ou omissão que viole as regras jurídicas de uso, gozo, promoção, proteção e recuperação do meio ambiente*".

Deste modo, a legislação ambiental detém um aparato para reprimir condutas ilícitas ou que causem dano ao Meio Ambiente e à Saúde Pública que podem ser praticadas pelos próprios Agentes da Administração, por ação ou omissão, o que independe de punição em outras esferas, valendo-se o Estado do próprio direito administrativo sancionador.

Ademais não é direta a relação entre registro do produto na ANVISA e autorização do uso do produto em águas para consumo humano, ou seja, é preciso uma complementariedade de registros nos órgãos competentes no Brasil e de organismos internacionais.

E isto está dito expressamente na resposta do Ministério da Saúde no Mandado de Segurança 1054133-91.2020.4.01.3400:

> **e) O Ministério da Saúde entende que o registro do produto "*Bacillus Thuringiensis Israelense*" na ANVISA não é suficiente para garantir sua qualidade e aplicabilidade nas políticas de saúde pública, sendo necessário, concomitantemente, a indicação da OMS?**
>
> Sim, entendemos serem registros complementares onde um não substitui ou elimina o outro. (Hachuramos)

Logo, está evidente que são registros complementares e que o Ministério da Saúde usa **os dois** por critérios técnicos e pelos Princípios da Precaução e da Prevenção, utilizado amplamente em Direito Ambiental e em Saúde Pública, sendo que não basta apenas que o Princípio Ativo esteja registrado na ANVISA, mas deve ter, concomitantemente, no entendimento do MS do Brasil, reconhecimento da OMS. Tudo para dar a garantia de que não é nocivo ao ambiente, aos humanos e animais.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

E, primeiramente, é preciso compreender o que é uma "monografia" ou "índice monográfico" registrado da Anvisa, conforme consta em seu *site*[8]:

> "As monografias aqui apresentadas são o resultado da avaliação e reavaliação toxicológica dos ingredientes ativos destinados ao uso agrícola, domissanitário, não agrícola, ambientes aquáticos e preservante de madeira.
>
> Trazem, entre outras informações, os nomes comum e químico, a classe de uso, a classificação toxicológica e as culturas para as quais os ingredientes ativos encontram-se autorizados, com seus respectivos limites máximos de resíduo."

E observando a referida Monografia, a qual anexamos cópia (Doc. 02), vemos que ela inicia tratando de BT - *Bacillus thuringiensis,* mas em seu item 1 a variedade de *Bacillus thuringiensis* considerada nessa avaliação e levantada como a variedade referência da Anvisa é a "*israelensis*" - BTI e, deste modo, outras variedades não podem fazer uso das mesmas regras e conceitos aplicados a essa variedade.

E a nota 2 deixa claro o DEVER de caracterização da linhagem de *Bacillus thuringiensis* utilizada na formulação e a **comprovação da ausência de produção de enterotoxinas e β-exotoxinas e contaminação por outros microrganismos.**

Já o item 2.4 da monografia do *Bacillus thuringiensis* (Doc. 02) deixa claro que o uso em água para consumo humano tem aprovação condicionada à indicação em rótulo do produto.

Temos, igualmente, Parecer do Município de Tangará/SC que fora emitido no Processo Licitatório 79/2019 onde está referendado o uso *Bacillus thuringiensis, var. Israelensis* e dito que é importante atentar para o fato de que TÊM SIDO OFERTADOS NO MERCADO PRODUTOS QUE NÃO POSSUEM O PRINCÍPIO ATIVO BTI E MUITO MENOS A CEPA AM 6552, reconhecida pela OMS e pelo Ministérios da Saúde do Brasil, o que gera risco de damos ao Meio Ambiente, animais e Pessoas.

O *Bacillus thuringiensis* é uma espécie de bactéria microbiológica da família *Bacillaceae* MAS QUE POSSUI INÚMERAS VARIEDADES/SUBESPÉCIES DIFERENTES, ALÉM DA *ISRAELENSIS*, como por exemplo o BT Kurstaki[9]; BT Aizawai[10]; BT Kumamotoensis[11]; BT Tochigiensis[12]; BT Galleriae[13], BT Tenebrionis[14] e outras.

---

[8] *In* *l1nq.com/naloP*, acesso em 30/06/22, as 15h:37min.

[9] *In* http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542005000100007, acesso em 15/04/21, as 10h43min.

[10] *In* *encurtador.com.br/aqBKS*, acesso em 12/08/22, as 12h45min.

[11] *In* https://irost.org/ptcc/ptccdb/node/510, acesso em 15/04/21, as 10h55min.

[12] *In* https://www.cabi.org/isc/datasheet/8222, acesso em 15/04/21, as 11h.

[13] *In* https://academic.oup.com/femsle/article/59/1-2/197/532017?login=true, acesso em 15/04/21, as 11h:03min.

[14] *In* http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/315336, acesso em 15/04/21, as 11h:06min.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

Porém, TODOS os estudos e reconhecimentos do Ministério da Saúde, da FUNASA, da OMS e de diversas Universidades apontam no sentido de que o único Princípio Ativo eficaz no combate de Mosquito Borrachudo (*Simulium spp.)* é o *Bacillus thuringiensis, var. Israelensis,* CEPA AM 6552, como vemos em Parecer do Departamento de Zoologia da UNICAMP, citado no Parecer Jurídico 05/2020 da Lavra do Dr. André Filippim, do Município de PINHEIRO PRETO/SC, cópia anexa (Doc.03), do qual destacamos:

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que houve uma grande diferença na eficiência geral e no carreamento dos produtos, com grande vantagem para o VectoBac® 12AS quando avaliados comparativamente no controle de borrachudos.

Indica-se que em um riacho desse tipo como o que VectoBac® 12AS foi avaliado em Schroeder/SC, forte criadouro da espécie antropofílica de borrachudo, VectoBac® 12AS pode ser empregado com eficiência em trechos de 150 metros ou mais, enquanto Bt-Horus não pode ser recomendado.

Finalmente, pode-se discutir ainda que seguramente os dois produtos não possuem a mesma potência, ficando evidente que Bt-Horus é bem menos potente do que VectoBac® 12AS em termos de Unidades Internacionais de Potência (UTI) por miligrama de produto.

E note-se que é muito importante observar que, neste estudo da UNICAMP, o comparativo realizado foi entre os produtos Vectobac 12AS, cujo princípio ativo é BTI, CEPA AM 6552, e o BT-Horus, cujo princípio ativo também é de BTI, MAS CEPA IPS-82, onde o resultado foi amplamente melhor para o Vectobac 12AS (BTI-AM 6552).

OU SEJA, PRIMEIRO O PRINCÍPIO ATIVO, PARA SER EFICAZ CONTRA BORRACHUDOS E AEDES, PRECISA SER BTI, MAS NÃO BASTA SOMENTE SER BTI, É NECESSÁRIO SER CEPA AM 6552. ISTO ESTÁ AMPLAMENTE COMPROVADO!!!

Assim, não é razoável que se admita qualquer variedade de BT que não seja a BTI, CEPA AM 6552, prevista na Monografia da ANVISA e que não possua nenhuma certificação, em nenhum órgão, que dê segurança de uso em água de consumo humano e animal e de que não ocasione a formação de *enterotoxinas* e *β-exotoxinas* e contaminação por outros microrganismos.

Neste sentido é que anexamos a cópia da Certificação do BTI, CEPA AM 65-52 (Doc. 04), traduzida por Tradutor Juramentado, e onde temos a certificação exigida para uso em água de consumo humano e não formação de *enterotoxinas* e *β-exotoxinas* e contaminação por outros microrganismos, da qual destacamos as seguintes passagens:

- Pág 2 - A OMS como ponto de "referência internacional pelo qual os produtos possam ser julgados tanto para finalidades regulatórias quanto para operações comerciais";

- Pág 33 - "especificação para grânulos de *Bacillus thuringiensis* subespécie *israelensis* (Bti) cepa AM65-52, proposta por ValentBioSciences e conforme aditada, deve ser adotada pela OMS";

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

➢ Pág 34 - "patógenos humanos no produto de uso final BTI AM65-52 são considerados impurezas relevantes, o que pode aumentar ou estender o risco do produto e, portanto, tem de ser limitados a um determinado nível" - link com os parâmetros da Nota 2 da Monografia da Anvisa;

➢ Pág. 37:- "Beta-exotoxina foi inicialmente proposta como impureza relevante, mas, sendo produzida apenas por algumas outras cepas BT, não deve ocorrer em culturas puras de BTI (...) caso beta-exotoxina seja detectável em produtos superficialmente semelhantes de outros fabricantes, ela deve ser considerada uma impureza relevante em tais produtos". Veja-se o link com os parâmetros da Nota 2 da Monografia da Anvisa constante na Nota de Rodapé 4;

➢ Pág 39 - "A maioria dos produtos à base de BT, incluindo a formulação WG de BTI AM 65-52, contém proteínas cristalinas com ação inseticida e esporos viáveis, mas em determinados produtos à base de BTI os esporos são inativados";

➢ Pág 41 - "a beta-exotoxina é tóxica para quase todas as formas de vida, inclusive humanos e insetos alvo. A beta-exotoxina não é produzida por culturas puras de Bti". Veja-se o link com os parâmetros da Nota 2 da Monografia da Anvisa constante na Nota de Rodapé 4.

Além disso no Ministério da Saúde consta quais produtos são recomendados para essa finalidade, está o larvicida *Bacillus thuringiensis israelensis*, cepa AM 65-52 (BTI), cópia em anexo (Doc. 05), o que torna irrefutável que o Governo Brasileiro reconhece esta CEPA como a de BTI adequada para uso em água que possa servir ao consumo humano.

No mesmo sentido a FUNASA (Fundação Nacional de Saúde), órgão do Ministério da Saúde emitiu em 2001 um documento intitulado de CONTROLE DE VETORES – PROCEDIMENTOS DE SEGURANÇA[15], onde consta na página 17, parágrafo 7° o seguinte texto:

> *"O uso de praguicidas em saúde pública, no controle de vetores, deve seguir as recomendações do grupo de especialistas da Organização Mundial de Saúde, conforme descrito no documento Chemical Methods for Control of Vector and Pests of Public Health Importance (WHO/CTD/WHOPES/97.2)* "
>
> ...
>
> Também para reiterar a eficiência do material com recomendação da OMS, citam- se os relatórios técnicos n. 011/2013 e n. 07/2017 da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP sobre "Análise Comparativa de produtos comerciais à base de *Bacillus Thuringiensis Israelensis",* onde tecnicamente fica comprovada a eficácia do larvicida produzido a partir da CEPA AM65-52, esta avaliada e reconhecida pela OMS.

Ademais, O FATO É QUE A CERTIFICAÇÃO DO PRINCÍPIO ATIVO BTI CEPA AM 6552 ESTÁ NO SITE DA OMS NO LINK encurtador.com.br/frQZ5, ONDE A SIGLA WOH SIGNIFICA WORLD HEALTH ORGANIZATION como DEVE SER exigido no Edital.

---

[15] *In* http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/controle_vetores.pdf, acesso em 28/06/22, as 13h27min.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

Ad argumentandum tantum, é preciso que se diga que, no caso concreto estamos tratando do Princípio Ativo do Produto, O QUAL DEVE SER EXIGIDO NO EDITAL COMO BTI CEPA AM 6552, independentemente da sua formulação, a qual PODE SER QUALQUER UMA QUE SEJA JULGADA PELO MUNICÍPIO COMO A MAIS ADEQUADA AO USO DE ACORDO COM OS LOCAIS ONDE SERÁ APLICADO O PRODUTO, eis que esta é apenas o VEÍCULO de condução do Princípio Ativo (PA), **sendo a formulação em solução aquosa inerte e sem influências no resultado final da eficiência e da eficácia do produto.**

A formulação aquosa é, apenas, o meio no qual o Princípio Ativo (PA) está disperso e, também, pode ser denominado como *q.s.p*, que em latim significa *Quantis Satis Para* (Quantidade Suficiente Para), como atesta a Declaração assinada pelo Responsável Técnico da fabricante Sumitomo, o Engº Agrônomo Amauri Doreto da Rocha (Doc. 06), onde ele diz, expressamente, que a formulação AS não apresente NENHUM IMPACTO NO MEIO AMBIENTE E NENHUM RISCO À SAÚDE PÚBLICA, além de que o objeto do estudo junto à OMS é efetivamente o PA e não o *qsp.*

Ainda no Mandado de Segurança acima citado o Ministério da Saúde questionado se a formulação AS pode ser considerada como indicada mesmo não constando esta formulação na tabela da OMS respondeu que "*não há homologação ou recomendação direta para aquisição somente pelo fato do produto constar na lista. Porém, este é um dos critérios elencados, aliado a diversos outros parâmetros técnicos, para que um produto seja elegível para uso em saúde pública".*

Portanto, o fato é que o Princípio Ativo BTI CEPA AM 6552 consta efetivamente da tabela da OMS, independente de formulação, o que se torna irrelevante na medida de que a AS É NEUTRA E INERTE.

Assim, o importante, neste ponto, **é o estudo do Princípio Ativo (PA), que é toda substância existente na composição de um produto que é responsável pelo seu real efeito e não a formulação.**

Logo, como aliás diz o Parecer Jurídico 249/2020 do Município de Capinzal/SC, dentre outros aspectos abordados, o relevante é o estudo do Princípio Ativo (PA), cópia anexa (Doc. 07), do qual citamos:

> Por fim, deve também ser refutado o argumento de que o produto ofertado pela proponente classificada na versão AS, solução aquosa, não tem indicação para água potável pela OMS, na medida que, a partir do ingrediente ativo aprovado por este órgão, são obtidas todas as formulações com aplicações diversas, como é o caso de: granulado, tablete, pó, suspensão concentrada e solução aquosa, todos compostos pelo mesmo princípio ativo.

Por todo o exposto é que **o Edital do presente certame deve ser reeditado com a previsão no seu objeto, no Anexo II - Relação de Itens e no seu Termo de Referência da exigência de fornecimento de Larvicida Biológico com Princípio Ativo BTI (*Bacilius Thuringiensis,* Variedade *Israelensis*),** com **"CEPA AM 6552, Avaliada e aprovada pela Organização Mundial da Saúde -**

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

OMS, conforme lista de pré-qualificação da *World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme - WHOPES* e pelo Ministério da Saúde do Brasil.

III.3 - Da ampla Jurisprudência que ampara a nossa tese

A farta jurisprudência Administrativa, em inúmeros Municípios de SC e do RS, Governo Federal, EPAGRI e o TCE/SC, ampara a nossa tese, além das já citadas supra de Pinheiro Preto e de Capinzal (Docs. 03 e 07), COM DESTAQUE PARA RECENTE JULGAMENTO DE RECURSO EM PREGÃO DO MINISTÉRIO DA SAÚDE, e que se anexam como segue:

- Ministério da Saúde - PE 128/2020 (Doc. 08);

- Município de Pinheiro Preto - PE 21-21 (Doc. 09);

- Município de Videira - PE 68-20 (Doc. 10);

- Município de Jaraguá do Sul/SC - Lic. 105/2020 (Doc. 11);

- Município de Nova Trento/SC - PE 41/2020 (Doc. 12);

- Município de Videira/SC - PE 32/2020 (Doc. 13);

- SAMAE/ Caxias do Sul/RS - Pregão 092/2020 (Doc. 14);

- Consórcio Intermunicipal de Desenvolvimento Sustentável da Serra Gaúcha - PE 09/2019 (Doc. 15);

- Município de São Francisco de Paula/RS - PP 55/2019 (Doc. 16);

- Município de Flores da Cunha/RS - PP 028/2020 (Doc. 17); e

- Município de Imbé/RS - Pregão Eletrônico 14/2020 (Doc. 18).

- Município de Tubarão/SC - Pregão Eletrônico 10/2021 (Doc. 19);

- Município de Venâncio Aires/RS - Parecer Jurídico 207/2020 (Doc. 20); e

- Consórcio Intermunicipal de Gestão Pública do Vale do Itapocu - CIGAMVALI - PLPP 02/2022 (Doc. 21).

E destacamos, ainda, o julgamento do Tribunal de Contas de SC - TCE/SC no @REP 19/00883896 (Doc. 22) o qual improveu Representação referente ao Município de Camboriú e que continha razões idênticas as deduzidas no Recurso ora Contrarrazoado, do qual destacamos:

> Da desclassificação foi interposto recurso administrativo (fls. 62-68) julgado improcedente (fls. 69-72), pelo fato da proposta da empresa não atender aos termos exigidos pelo edital.
>
> **Quanto a desclassificação da proposta**, não se verifica equívoco por parte da Pregoeira. Isso porque é seu dever verificar a conformidade da proposta com os requisitos do edital, nos termos do art. 40, IV, da Lei 8.666/93), sob pena de afronta ao princípio da vinculação ao instrumento convocatório (art. 3° da Lei 8.666/93). E nesse ponto o edital exigia larvicida com CEPA AM-65-52.
>
> ...

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

Me atendo a questão jurídica, consta no processo administrativo da Unidade Licitante que o Estado de Santa Catarina detém programa estadual de combate aos mosquitos "borrachudos" que aponta o *Bacillus Thuringiensis Israelensis*, CEPA AM 65-52, como produto ideal para uso, esclarecendo que:

> O BTI *Bacillus thuringiensis israelenses* é proveniente de uma bactéria existente na natureza, que selecionada e isolada, age especificadamente em algumas espécies de mosquitos e borrachudos. A CEPA AM65-52 desta bactéria foi avaliada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e está aprovada sem restrições, inclusive para uso em água potável para seres humanos, animais domésticos, pecuários, sendo inócua à peixes e animais aquáticos.

Em vista disso, segundo a Comissão de Licitações do município de Camboriú, o que diferenciaria o *Bacillus Thuringiensis Israelensis* dos demais é a CEPA AM 65-52, justamente por ter sido aprovada, sem restrições, pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

Assim, houve justificativa técnica para a inclusão da referida especificação no objeto licitado.

...

Diante do exposto e com fundamento no art. 224 do Regimento Interno, proponho ao Egrégio Tribunal Pleno a adoção da seguinte deliberação:

3.1. Considerar **improcedente** a representação apresentada pela empresa Sanigram Ltda contra supostas irregularidades na condução do certame decorrente do Edital de Pregão Presencial 091/2019 lançado pela Prefeitura Municipal de Camboriú, uma vez que se identificou justificativa técnica para a exigência e a Pregoeira, na condução do certame, fez cumprir os termos do edital.

Ainda relevante a Nota Técnica da EPAGRI/SC, cópia anexa (Doc. 23) que diz:

> Encaminhamos a seguinte nota técnica referente ao produto a ser adquirido para o controle de borrachudos, no município:
>
> O **BTI (Bacillus thurigiensis Var. israelensis, Cepa AM65-52** é proveniente de uma bactéria existente na natureza, que selecionada e isolada, **age especificamente em algumas espécies de mosquitos e borrachudos. A cepa AM65-52 desta bactéria foi avaliada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e está aprovada sem restrições, inclusive para água potável para seres humanos, animais domésticos, pecuários, sendo inócua à peixes e demais seres e animais aquáticos.** (G.n.)

Logo, é pacífico o entendimento da possibilidade técnica da exigência de Princípio Ativo BTI, CEPA AM 6552, com reconhecimento da OMS.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

III. 4 - Do Poder/Dever da Administração rever os seus Atos.

É preciso, também, salientar que a Administração deve anular os seus atos quando estes estejam eivados de vício, ilegalidade ou inadequados tecnicamente, como no caso em tela, sendo esta uma obrigação sua e não mera liberalidade.

E este poder/dever é o denominado princípio da autotutela administrativa, conforme a doutrina de Áurea Ramim[16], como se vê:

> Já o princípio da autotutela administrativa representa que a Administração Pública tem o poder-dever de controlar seus próprios atos, revendo-os e anulando-os quando houverem sido praticados com alguma ilegalidade. Dessa forma, a autotutela funda-se no princípio da legalidade administrativa: se a Administração Pública só pode agir dentro da legalidade, é de se considerar que os atos administrativos eivados de ilegalidade devem ser revistos e anulados, sob pena de afronta ao ordenamento jurídico.
>
> Neste sentido, é a lição de José dos Santos Carvalho Filho: "*a autotutela envolve dois aspectos quanto à atuação administrativa: 1) aspectos de legalidade, em relação aos quais a Administração, de ofício, procede à revisão de atos ilegais; e 2) aspectos de mérito, em que reexamina atos anteriores quanto à conveniência e oportunidade de sua manutenção ou desfazimento*". (p. 25).
>
> Assim sendo, a autotutela abrange o poder de anular, convalidar e, ainda, o poder de revogar atos administrativos. A autotutela está expressa no art. 53 da Lei nº 9.784/99, assim como na Súmula nº 473 do STF.

E a Súmula 473 do STF[17] está assim redigida:

> **SÚMULA Nº 473** - A ADMINISTRAÇÃO PODE ANULAR SEUS PRÓPRIOS ATOS, QUANDO EIVADOS DE VÍCIOS QUE OS TORNAM ILEGAIS, PORQUE DELES NÃO SE ORIGINAM DIREITOS; OU REVOGÁ-LOS, POR MOTIVO DE CONVENIÊNCIA OU OPORTUNIDADE, RESPEITADOS OS DIREITOS ADQUIRIDOS, E RESSALVADA, EM TODOS OS CASOS, A APRECIAÇÃO JUDICIAL.

No mesmo sentido os ensinamentos de Diogenes Gasparini[18]:

> **A Administração Pública está obrigada a policiar, em relação ao mérito e à legalidade, os atos administrativos que**

---

[16] RAMIM, Áurea. Curso de Direito Administrativo. *In* http://www.stf.jus.br/repositorio/cms/portalTvJustica/portalTvJusticaNoticia/anexo/Curso_de_Direto_Administrativo__Aurea_Ramim.doc. Acesso em 23/01/2014, às 11h23min

[17] Supremo Tribunal Federal. *In* http://www.stf.jus.br/portal/cms/verTexto.asp?servico=jurisprudenciaSumula&pagina=sumula_401_500 Acesso em 23/01/2014, às 11h33min.

[18] GASPARINI, Diogenes. Direito Administrativo. 10ª Edição. Editora Saraiva. São Paulo. SP. 2005. Págs. 18 e 19.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

> **pratica. Cabe-lhe, assim, retirar do ordenamento jurídico os atos inconvenientes e inoportunos e os ilegítimos.** Os primeiros através da *revogação* e **os últimos por via da *invalidação.*** A esse respeito afirma Hely Lopes Meirelles (*Direito Administrativo, cit.*, p. 196) que "**A Administração Pública**, como instituição destinada a realizar o Direito e a propiciar o bem comum, **não pode agir fora das normas jurídicas e da moral administrativa**, nem relegar os fins sociais a que a ação se dirige. **Se, por erro**, culpa, dolo ou interesses escusos de seus agentes **a atividade do Poder Público desgarra-se da lei, divorcia-se da moral**, ou desvia-se do bem comum, **é dever da Administração invalidar**, espontaneamente ou **mediante provocação, o próprio ato, contrário à sua finalidade, por inoportuno, inconveniente, imoral ou ilegal"**. Essa orientação encontra apoio na Súmula 473 do Supremo Tribunal. (Grifamos)

Portanto, a correção dos vícios de ilegalidade apontados, bem como que **a adequação técnica para que o certame não seja exclusivo para MEs e EPPs e que no objeto do Edital e no seu Termo de Referência esteja prevista a exigência de fornecimento de Larvicida Biológico com Princípio Ativo BTI (*Bacilius Thuringiensis,* Variedade *Israelensis*), CEPA AM 6552, avaliada e aprovada pela Organização Mundial da Saúde - OMS, conforme lista de pré-qualificação da *World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme - WHOPES* e pelo Ministério da Saúde do Brasil** é imperiosa para restabelecer a validade do certame em especial por se tratar de uso de produto no Meio Ambiente e para Saúde Pública, o que impõe a aplicação dos Princípios da Precaução e da Prevenção, sem o que ele será nulo de pleno direito, o que, aliás, a Administração pode e deve fazer mesmo de ofício, independentemente de provocação de qualquer parte.

IV. DO PEDIDO

Ante o exposto, REQUER:

a) O recebimento da presente Impugnação, sua autuação e seu julgamento na forma da lei com a emissão de Pareceres Técnicos e Jurídicos para tanto e o efeito hierárquico requerido;

b) A ANULAÇÃO do Edital e do certame com a RETIFICAÇÃO do Edital em epígrafe para republica-lo com a correção **para EXCLUIR a exigência de exclusividade de participação para empresas classificadas perante a Receita Federal do Brasil como Microempresas - MEs ou Empresas de Pequeno Porte - EPPs e com previsão expressa no subitem 7.3 de apresentação de AFE da ANVISA**; e

c) A ANULAÇÃO do Edital e do certame com a RETIFICAÇÃO do Edital em epígrafe para republica-lo **com a correção do item 1 - Do Objeto, do Anexo II - Relação de Itens e dos itens 1.1 e 2 do Anexo I - Termo de Referência para prever no objeto dos mesmos a exigência de fornecimento de Larvicida**

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

Biológico com Princípio Ativo BTI (*Bacilius Thuringiensis, variedade Israelensis*), com CEPA AM 6552, avaliada e aprovada pela Organização Mundial da Saúde - OMS, conforme lista de pré-qualificação da *World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme - WHOPES*, tudo por ser medida de direito e de justiça, bem como que mais adequado perante as melhores técnicas e estudos existentes para o controle de Borrachudos (*Simulium spp.)* e *Aedes aegyti.*

Nestes termos,
Pede deferimento.

Chapecó, 15 de agosto de 2022.

Engº. Agr. Ricardo Urbancic,
CPF 739.384.599-79,
Sócio-administrador.

Com Assessoria Jurídica, nos termos do §2º-A, do art. 2º, da Lei Federal 8.906/94, de:

Armenio de Oliveira dos Santos,
Mestre em Direito e Advogado.
OAB/RS 48.458.

AGRO LÍDER LTDA
Fone/Fax: 49 3321.4900 - Rua Rui Barbosa, 556E - 89801-040 - Centro - Chapecó - SC - E-mail: agrolider@agrolider.com.br

AGRO LÍDER LTDA

Doc. 01

NIRE 42203255148
CNPJ: 05.443.140/0001-58

10ª (DÉCIMA) ALTERAÇÃO E CONSOLIDAÇÃO DE CONTRATO SOCIAL

Por este instrumento particular de alteração e consolidação de contrato social de sociedade empresária limitada, as partes contratantes a seguir individualizadas:

01) RICARDO URBANCIC, brasileiro, divorciado, engenheiro agrônomo, natural de Chapecó, SC, residente e domiciliado, na cidade de Chapecó Estado de Santa Catarina, à Rua Independência, nº 430 E, Bairro Jardim Itália, CEP: 89.802-061, portador da Cédula de Identidade nº 12R 1.713.339 - SSP/SC e do CPF sob nº 739.384.599-72, e;

02) ELIZETE ANGELA GUAREZI, brasileira, empresária, solteira, 07/11/1979, residente e domiciliada na Avenida Nereu Ramos nº 1050-E, Apartamento n° 502, Ed. La Defanse, Bairro Presidente Médici, CEP: 89801-106, nesta cidade de Chapecó, Estado de Santa Catarina, portadora da Cédula de Identidade RG nº 7.805.670-SSP/SC e inscrita no CPF/MF sob o nº 030.120.749-61, e;

03) LETICIA BELATTO BORDIGNON, brasileira, professora, solteira, 04/10/1992, residente e domiciliada na Avenida Nereu Ramos nº 1050-E, Apartamento n° 502, Ed. La Defanse, Bairro Presidente Médici, CEP: 89801-106, nesta cidade de Chapecó, Estado de Santa Catarina, portadora da Cédula de Identidade RG nº 5.067.917-SSP/SC e inscrito no CPF/MF sob o nº 045.622.699-01, e;

04) ISABELA BELATTO BORDIGNON, brasileira, estudante, solteira, 19/03/1997, residente e domiciliada na Avenida Nereu Ramos nº 1050-E, Apartamento n° 502, Ed. La Defanse, Bairro Presidente Médici, CEP: 89801-106, nesta cidade de Chapecó, Estado de Santa Catarina, portadora da Cédula de Identidade RG nº 5.067.918-SSP/SC e inscrito no CPF/MF sob o nº 045.622.729-61.

ÚNICOS sócios componentes da sociedade **AGRO LÍDER LTDA,** pessoa jurídica de direito privado, com sede e foro jurídico na cidade de Chapecó, Estado de Santa Catarina, na Rua Rui Barbosa, nº 556 E, Centro, CEP: 89801-040, inscrita no CNPJ sob o nº 05.443.140/0001-58 com seu Contrato Social Constitutivo registrado/arquivado na JUCESC sob nº 42203255148 em 23/12/2002, e a última alteração registrada na JUCESC sob nº 20177583720 em 01/08/2017.

Deliberando por unanimidade, consoante faculdade estabelecida pelo parágrafo 3º do art. 1.072, da Lei 10.406/02 (Código Civil Brasileiro), na melhor forma da lei e de direito; **RESOLVEM,** de comum e perfeito acordo, alterar seu Contrato Social Constitutivo e alterações posteriores, visto haver: **a)** ampliação e adequação dos objetivos sociais; **b)** aumento do capital social; **c)** cessão de quotas; e, **d)** consolidação do contrato social constitutivo e alterações posteriores, sendo o que fazem mediante os termos e condições seguintes:

Cláusula Primeira: Pelo presente instrumento, deliberam os sócios ampliar e adequar os objetivos sociais da sociedade, de sorte que a partir dessa data, passará a desenvolver as seguintes atividades: **O COMÉRCIO VAREJISTA E ATACADISTA DE GRÃOS, HERBICIDAS, INSETICIDAS, FUNGICIDAS, SEMENTES, ADUBOS, CORRETIVOS,**

http://assinador.pscs.com.br/assinadorweb/autenticacao?chave1=VcftExdvXM9fVgb8Zp63Ag&chave2=Ug8cwwsph_-ckGj5CvuIRA
ASSINADO DIGITALMENTE POR: 04160700942-LILIAN GHENO:73938459972-RICARDO URBANCIC:14138700900-ARCIDES DE DAVID
03012074961-ELIZETE ANGELA GUAREZI:04562269901-LETICIA BELATTO BORDIGNON:04562272961-ISABELA BELATTO BORDIGNON

Junta Comercial do Estado de Santa Catarina 05/06/2019
Certifico o Registro em 05/06/2019
Arquivamento 20196526221 Protocolo 196526221 de 05/06/2019 NIRE 42203255148
Nome da empresa AGRO LIDER LTDA
Este documento pode ser verificado em http://regin.jucesc.sc.gov.br/autenticacaoDocumentos/autenticacao.aspx
Chancela 150907468361163
Esta cópia foi autenticada digitalmente e assinada em 05/06/2019 por Blasco Borges Barcellos - Secretario-geral;

RAÇÕES PARA ANIMAIS, FERROS, MATERIAIS DE CONSTRUÇÃO, PREGOS, ARAMES, FERRAGENS E IMPLEMENTOS AGRÍCOLAS; O COMÉRCIO VAREJISTA DE ARTIGOS VETERINÁRIOS; A REPRESENTAÇÃO COMERCIAL; A ELABORAÇÃO DE PROJETOS PARA SUA EXECUÇÃO; A PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS DE INSTALAÇÃO E MONTAGEM DE CERCAS, GRADIS, TELAS METÁLICAS E SEUS ACESSÓRIOS E O COMÉRCIO VAREJISTA DE SANEANTES DOMISSANITÁRIOS.

Cláusula Segunda: Os sócios deliberam aumentar o capital social da presente sociedade na seguinte forma:

a) ELIZETE ANGELA GUAREZI, a quantidade de 65.000 (sessenta e cinco mil) quotas de capital, de valor nominal de R$ 1,00 (um real) cada uma, no importe de R$ 65.000,00 (sessenta e cinco mil reais).

b) RICARDO URBANCIC, a quantidade de 65.000 (sessenta e cinco mil) quotas de capital, de valor nominal de R$ 1,00 (um real) cada uma, no importe de R$ 65.000,00 (sessenta e cinco mil reais).

§ Primeiro: O aumento de capital acima previsto e consolidado no importe de R$ 130.000,00 (cento e trinta e três mil reais), é inteiramente subscrito e integralizado neste ato pelos sócios **ELIZETE ANGELA GUAREZI e RICARDO URBANCIC** mediante a utilização do saldo que a empresa possui devidamente registrada na escrituração contábil da sociedade em conta ADIANTAMENTO PARA FUTURO AUMENTO DE CAPITAL, passando o capital social da sociedade a ser de **R$ 1.630.000,00 (hum milhão, seiscentos e trinta mil reais)** dividido em **1.630.000 (hum milhão, seiscentas e trinta mil)** quotas de capital, de valor nominal de R$ 1,00 (um real) cada uma, distribuído entre os sócios assim identificada:

Quotistas	Quant.	Valor (R$)	(%)
RICARDO URBANCIC	815.000	815.000,00	50
ELIZETE ANGELA GUAREZI	755.000	755.000,00	46,32
ISABELA BELLATO BORDIGNON	30.000	30.000,00	1,84
LETÍCIA BELLATO BORDIGNON	30.000	30.000,00	1,84
TOTAL	**1.630.000**	**1.630.000,00**	**100**

§ Segundo: A operação de aumento de capital, identificada na presente cláusula, é realizada respeitando-se o direito de preferência exigido pelo Contrato Social Constitutivo, pelo que, todas os sócios manifestam expressa concordância e aprovação mediante a assinatura do presente instrumento.

Cláusula Terceira: Ainda por cessão de quotas e direitos sociais, a sócia quotista **ELIZETE ANGELA GUAREZI**, de sua participação no capital social totalmente integralizada em moeda corrente nacional, detentora da quantidade de 755.000 (setecentos e cinquenta e cinco mil) quotas de capital, de valor nominal de R$ 1,00 (um real) cada uma, transfere, como de fato cedido e transferido tem, a quantidade de 5.200 (cinco mil e duzentas) quotas de capital na seguinte forma: à sócia quotista **ISABELA BELLATO BORDIGNON**, os direitos e obrigações sociais inerentes à 2.600 (duas mil e seiscentas) quotas de capital, pelo valor de R$ 2.600,00 (dois mil e seiscentos reais) e à sócia quotista **LETÍCIA BELLATO BORDIGNON**, os direitos e obrigações sociais inerentes à 2.600 (duas mil e seiscentas) quotas de capital, pelo valor de R$ 2.600,00 (dois mil e seiscentos reais).

http://assinador.pscs.com.br/assinadorweb/autenticacao?chave1=VcfExdvXM9fVgb8Zp63Ag&chave2=Ug8cwwsph_-ckGj5CvuIRA
ASSINADO DIGITALMENTE POR: 04160700942-LILIAN GHENO|73938459972-RICARDO URBANCIC|14138700900-ARCIDES DE DAVID
03012074961-ELIZETE ANGELA GUAREZI|04562269901-LETICIA BELATTO BORDIGNON|04562272961-ISABELA BELATTO BORDIGNON

Junta Comercial do Estado de Santa Catarina 05/06/2019
Certifico o Registro em 05/06/2019
Arquivamento 20196526221 Protocolo 196526221 de 05/06/2019 NIRE 42203255148
Nome da empresa AGRO LIDER LTDA
Este documento pode ser verificado em http://regin.jucesc.sc.gov.br/autenticacaoDocumentos/autenticacao.aspx
Chancela 150907468361163
Esta cópia foi autenticada digitalmente e assinada em 05/06/2019 por Blasco Borges Barcellos - Secretario-geral;

http://assinador.pscs.com.br/assinadorweb/autenticacao?chave1=VcftExdvXM9fVgb8Zp63Ag&chave2=Ug8cwsph_-ckGj5CvuIRA
ASSINADO DIGITALMENTE POR: 04160700942-LILIAN GHENO|73938459972-RICARDO URBANCIC|14138700900-ARCIDES DE DAVID
03012074961-ELIZETE ANGELA GUAREZI|04562269901-LETICIA BELATTO BORDIGNON|04562272961-ISABELA BELATTO BORDIGNON

§ Primeiro: As operações de cessão de quotas e direitos sociais, identificadas nesta cláusula, são realizadas a título oneroso da cedente para com as mencionadas cessionárias, de acordo com instrumento particular de compra e venda de participação societária desta mesma data, esta que, sub-roga-se de ora em diante, em todos os direitos e obrigações inerentes às quotas ora vendidas.

§ Segundo: As operações de cessão de quotas de capital, identificadas na presente cláusula, são realizadas respeitando-se o direito de preferência exigido pelo Contrato Social Constitutivo, pelo que, todos os sócios manifestam expressa concordância e aprovação mediante a assinatura do presente instrumento.

§ Terceiro: A cedente ainda, dá às cessionárias, a mais ampla, geral e irrevogável quitação, nada mais havendo a reclamar no presente ou futuro, com relação às ditas quotas, assim como em relação à sociedade.

Cláusula Quarta: Em decorrência das operações de cessões de quotas constantes na cláusula terceira supra, o capital social da sociedade, já totalmente integralizado em moeda corrente nacional, permanece inalterado no importe total de **R$ 1.630.000,00 (hum milhão, seiscentos e trinta mil reais)**, dividido em **1.630.000 (hum milhão, seiscentas e trinta mil)** de quotas de capital, de valor nominal de R$ 1,00 (um real) cada uma e, será distribuído entre os sócios da seguinte forma:

Quotistas	Quant.	Valor (R$)	(%)
RICARDO URBANCIC	815.000	815.000,00	50
ELIZETE ANGELA GUAREZI	749.800	749.800,00	46
ISABELA BELLATO BORDIGNON	32.600	32.600,00	2
LETÍCIA BELLATO BORDIGNON	32.600	32.600,00	2
TOTAL	**1.630.000**	**1.630.000,00**	**100**

Cláusula Quinta: Sem solução de continuidade, deliberam os sócios por fim, na melhor forma de direito, consolidar o Contrato Social Constitutivo desta sociedade e alterações posteriores, conforme abaixo segue transcrito:

CONSOLIDAÇÃO DO CONTRATO SOCIAL DA SOCIEDADE

AGRO LÍDER LTDA
NIRE 42203255148
CNPJ: 05.443.140/0001-58

CAPÍTULO I
DA DENOMINAÇÃO – DA SEDE – DO OBJETIVO – DO INÍCIO E PRAZO DE DURAÇÃO:

Cláusula 1º - A sociedade gira sob a denominação de **AGRO LÍDER LTDA.**

Cláusula 2º - A sociedade continua vigorando sob a forma de sociedade empresária limitada e será regida por este Contrato Social, pela Lei 10.406/02 (Código Civil Brasileiro), com regência supletiva pela Lei 6.404/76 (Lei das Sociedades por Ações), conforme faculta o parágrafo único do art. 1.053 da Lei 10.406/02 (Código Civil Brasileiro).

Junta Comercial do Estado de Santa Catarina 05/06/2019
Certifico o Registro em 05/06/2019
Arquivamento 20196526221 Protocolo 196526221 de 05/06/2019 NIRE 42203255148
Nome da empresa AGRO LIDER LTDA
Este documento pode ser verificado em http://regin.jucesc.sc.gov.br/autenticacaoDocumentos/autenticacao.aspx
Chancela 150907468361163
Esta cópia foi autenticada digitalmente e assinada em 05/06/2019 por Blasco Borges Barcellos - Secretario-geral;

Cláusula 3º - A sociedade tem a sua sede e foro jurídico na cidade de Chapecó, Estado de Santa Catarina, na Rua Rui Barbosa, nº 556 E, Centro, CEP: 89.801-040, podendo estabelecer filiais, agências e escritórios em outros Municípios e Estados da União.

Cláusula 4º - A sociedade tem como objetivos: **O COMÉRCIO VAREJISTA E ATACADISTA DE GRÃOS, HERBICIDAS, INSETICIDAS, FUNGICIDAS, SEMENTES, ADUBOS, CORRETIVOS, RAÇÕES PARA ANIMAIS, FERROS, MATERIAIS DE CONSTRUÇÃO, PREGOS, ARAMES, FERRAGENS E IMPLEMENTOS AGRÍCOLAS; O COMÉRCIO VAREJISTA DE ARTIGOS VETERINÁRIOS; A REPRESENTAÇÃO COMERCIAL; A ELABORAÇÃO DE PROJETOS PARA SUA EXECUÇÃO; A PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS DE INSTALAÇÃO E MONTAGEM DE CERCAS, GRADIS, TELAS METÁLICAS E SEUS ACESSÓRIOS E O COMÉRCIO VAREJISTA DE SANEANTES DOMISSANITÁRIOS.**

Cláusula 5º - A sociedade iniciou suas atividades em 02 de janeiro de 2003 e, seu prazo de duração continua por tempo indeterminado.

CAPÍTULO II
DO CAPITAL SOCIAL – DAS QUOTAS – DOS QUOTISTAS E SUAS RESPONSABILIDADES:

Cláusula 6º - O capital social da sociedade já totalmente integralizado em moeda corrente nacional, é de R$ 1.630.000,00 (um milhão e seiscentos e trinta mil reais), dividido em 1.630.000 (um milhão e seiscentos e trinta mil) quotas de capital, de valor nominal de R$ 1,00 (um real) cada uma e, se encontra distribuído entre os sócios da seguinte forma:

Quotistas	Quant.	Valor (R$)	(%)
RICARDO URBANCIC	815.000	815.000,00	50
ELIZETE ANGELA GUAREZI	749.800	749.800,00	46
ISABELA BELLATO BORDIGNON	32.600	32.600,00	2
LETÍCIA BELLATO BORDIGNON	32.600	32.600,00	2
TOTAL	**1.630.000**	**1.630.000,00**	**100**

Cláusula 7ª - As quotas sociais são indivisíveis em relação à sociedade e não poderão ser caucionadas, empenhadas, oneradas ou gravadas totais ou parcialmente, a qualquer título, salvo com autorização de sócios representativos da totalidade do capital social.

Cláusula 8ª - A responsabilidade de cada sócio é restrita ao valor de suas quotas, mas todos respondem solidariamente pela integralização do capital social.

§ Único: Os sócios não respondem subsidiariamente pelas obrigações sociais.

CAPÍTULO III
DO AUMENTO DE CAPITAL – CESSÕES DE QUOTAS – FALECIMENTO DE SOCIOS E DA REDUÇÃO DE CAPITAL:

Cláusula 9ª - Em caso de aumento de capital social, os quotistas terão preferência para subscrição, em igualdade de condição e na exata proporção das quotas que possuírem no capital social.

Cláusula 10ª - Caso um dos sócios queira ceder suas quotas parcial ou totalmente, neste último caso, retirando-se da sociedade, a esta deverá comunicar por escrito sua decisão,

Junta Comercial do Estado de Santa Catarina 05/06/2019
Certifico o Registro em 05/06/2019
Arquivamento 20196526221 Protocolo 196526221 de 05/06/2019 NIRE 42203255148
Nome da empresa AGRO LIDER LTDA
Este documento pode ser verificado em http://regin.jucesc.sc.gov.br/autenticacaoDocumentos/autenticacao.aspx
Chancela 150907468361163
Esta cópia foi autenticada digitalmente e assinada em 05/06/2019 por Blasco Borges Barcellos - Secretario-geral;

http://assinador.pscs.com.br/assinadorweb/autenticacao?chave1=VcftExdvXM9fVgb8Zp63Ag&chave2=Ug8cwwsph_-ckGj5CvuIRA
ASSINADO DIGITALMENTE POR: 04160700942-LILIAN GHENO|73938459972-RICARDO URBANCIC|14138700900-ARCIDES DE DAVID
03012074961-ELIZETE ANGELA GUAREZI|04562269901-LETICIA BELLATO BORDIGNON|04562272961-ISABELA BELATTO BORDIGNON

com antecedência de 60 (sessenta) dias, mencionando o preço estipulado e as condições de pagamento, a fim de que os demais sócios possam, a partir da data do recebimento da comunicação, exercer o direito de preferência na aquisição das quotas do sócio cedente ou retirante.

§ Único: Decorrido o prazo de 60 (sessenta) dias sem a manifestação dos quotistas remanescentes, as quotas do sócio cedente ou retirante poderão ser livremente transferidas a terceiros.

Cláusula 11ª - Não convindo aos sócios remanescentes o ingresso na sociedade do adquirente das quotas do sócio cedente ou retirante, o capital social será diminuído no valor do capital cedido, devendo a sociedade pagar ao sócio cedente ou retirante, o preço estipulado na comunicação, em 12 (doze) parcelas mensais e sucessivas, a partir do encerramento do exercício social em que ocorreu a comunicação.

Cláusula 12ª - Em caso de falecimento, retirada, exclusão, incapacidade civil, extinção e/ou falência/insolvência de qualquer dos sócios, a sociedade não se dissolverá, devendo continuar com os sócios remanescentes, a menos que estes resolvam liquidá-la.

§ Primeiro: Mediante a concordância dos sócios remanescentes, os herdeiros/sucessores poderão ingressar na sociedade, caso não haja impeditivos legais, os quais, nela se farão representar por um dentre eles, devidamente credenciado pelos demais enquanto indiviso o quinhão respectivo.

§ Segundo: Caso os herdeiros/sucessores não tenham interesse em ingressar na sociedade ou, os sócios remanescentes não os admitir, os haveres do sócio falecido, depois de apurados em balanço especialmente levantado para tal fim, serão pagos em 12 (doze) prestações mensais e sucessivas, vencendo-se a primeira, 90 (noventa) dias depois de apresentada à sociedade, a autorização judicial que permita formalizar-se inteiramente a operação, inclusive perante o Registro Público do Comércio.

Cláusula 13ª - Nas hipóteses previstas na cláusula 12ª supra, o valor das quotas a serem pagas será obtido através de avaliação patrimonial, apurada através de balanço especialmente levantado para tal fim.

Cláusula 14ª – Ficam facultados, mediante consenso unânime entre os sócios remanescentes, herdeiros/sucessores e sócios cedentes ou retirantes, outras condições de pagamento, desde que não afetem a situação econômico-financeira da empresa.

Cláusula 15ª - Em caso de diminuição do capital, será proporcional e igual para cada quota.

CAPÍTULO IV
DO EXERCÍCIO SOCIAL – DEMONSTRAÇÕES FINANCEIRAS – DESTINAÇÃO DOS LUCROS E PREJUÍZOS E DA CONTABILIDADE:

Cláusula 16ª - O exercício social coincidirá com o ano civil.

Cláusula 17ª - Ao final de cada exercício social, proceder-se-á a verificação dos lucros e prejuízos, levantados pelo inventário, balanço patrimonial e de resultado econômico, podendo ainda ser levantados balanços intermediários, adotando-se para tanto o que dispõe os artigos 176 a 191, respectivamente da Lei 6.404/76 (Lei das Sociedades por

http://assinador.pscs.com.br/assinadorweb/autenticacao?chave1=VcftExdvXM9fVgb8Zp63Ag&chave2=Ug8cwwsph_-ckGj5CvuIRA
ASSINADO DIGITALMENTE POR: 04160700942-LILIAN GHENO|73938459972-RICARDO URBANCIC|14138700900-ARCIDES DE DAVID
03012074961-ELIZETE ANGELA GUAREZI|04562269901-LETICIA BELATTO BORDIGNON|04562272961-ISABELA BELATTO BORDIGNON

Junta Comercial do Estado de Santa Catarina 05/06/2019
Certifico o Registro em 05/06/2019
Arquivamento 20196526221 Protocolo 196526221 de 05/06/2019 NIRE 42203255148
Nome da empresa AGRO LIDER LTDA
Este documento pode ser verificado em http://regin.jucesc.sc.gov.br/autenticacaoDocumentos/autenticacao.aspx
Chancela 150907468361163
Esta cópia foi autenticada digitalmente e assinada em 05/06/2019 por Blasco Borges Barcellos - Secretario-geral;

Ações), observando-se ainda as demais prescrições legais e técnicas pertinentes à matéria.

Cláusula 18ª - Os lucros apurados, após a prestação de contas pelo Administrador, serão atribuídos em partes iguais a cada uma das quotas, cabendo a cada um dos sócios, tantas partes quantas possua integralizado na sociedade, exceto se deliberado de forma diversa em reunião ou assembleia pela totalidade dos sócios quotistas, podendo, a distribuição de lucros ser desproporcional a participação de cada sócio e/ou, a critério dos sócios, ficarem em reservas na sociedade.

Único: A critério dos sócios quotistas, os lucros apurados poderão ser distribuídos de forma proporcional e desproporcional a participação dos componentes do capital social, a título de dividendos, em períodos inferiores a 12 meses, com base em balanços e/ou balancetes intermediários. zado na sociedade, podendo, a critério dos sócios, ficarem em reservas na sociedade.

Cláusula 19ª - Os prejuízos que porventura se verifiquem, serão mantidos em conta especial para serem amortizados nos exercícios futuros, e, não o sendo, serão suportados pelos sócios, proporcionalmente à participação de cada um no capital social.

Cláusula 20ª - A sociedade manterá os registros contábeis e fiscais necessários.

CAPÍTULO V
DA ADMINISTRAÇÃO – PODERES – LIMITES – OBRIGAÇÕES – REMUNERAÇÃO E DESTITUIÇÃO:

Cláusula 21ª - A sociedade será administrada por 02 (dois) Administradores, quotistas ou não, residentes no País, eleitos a qualquer tempo pelos sócios, com mandato por prazo indeterminado, os quais terão todos os poderes e atribuições que a lei lhes confere para a plena administração dos negócios sociais, tendo poderes plenos para representar a sociedade ativa e passivamente, em Juízo ou fora dele, proceder à alienação, no todo ou em parte, do patrimônio social e de seu fundo de comércio, enfim, para dar qualquer destinação comercial adequada ao patrimônio social, sempre respeitada a proporcionalidade da participação no capital social.

§ Primeiro: Os Administradores poderão praticar isoladamente os atos de gestão e administração da sociedade. Porém, será necessária a assinatura de ambos os Administradores em conjunto, em todos os atos que importarem em: alienar, permutar, onerar ou transferir sob qualquer forma, os bens sociais integrantes do ativo imobilizado, subscrever ações ou quotas de capital em outras Sociedades, nomear e destituir procuradores, abrir e encerrar contas bancárias e, a contratação de empréstimos e financiamentos de qualquer espécie.

§ Segundo: As procurações *ad judicia* poderão ser outorgadas por qualquer dos Administradores isoladamente, por tempo indeterminado, porém, sempre com poderes específicos.

§ Terceiro: A sociedade não pode ser vinculada por seus Administradores em atos ou negócios alheios aos interesses sociais ou, em favorecimento pessoal dos Administradores, nem se obrigar por meio deles, em concessões de fianças, avais ou outras garantias em favor de terceiros, ou em seus próprios favores, sob pena de

http://assinador.pscs.com.br/assinadorweb/autenticacao?chave1=VcfftExdvXM9fVgb8Zp63Ag&chave2=Ug8cwwsph_-ckGj5CvuIRA
ASSINADO DIGITALMENTE POR: 04160700942-LILIAN GHENO|73938459972-RICARDO URBANCIC|14138700900-ARCIDES DE DAVID
03012074961-ELIZETE ANGELA GUAREZI|04562269901-LETICIA BELATTO BORDIGNON|04562272961-ISABELA BELATTO BORDIGNON

Junta Comercial do Estado de Santa Catarina 05/06/2019
Certifico o Registro em 05/06/2019
Arquivamento 20196526221 Protocolo 196526221 de 05/06/2019 NIRE 42203255148
Nome da empresa AGRO LIDER LTDA
Este documento pode ser verificado em http://regin.jucesc.sc.gov.br/autenticacaoDocumentos/autenticacao.aspx
Chancela 150907468361163
Esta cópia foi autenticada digitalmente e assinada em 05/06/2019 por Blasco Borges Barcellos - Secretario-geral;

responsabilidade pessoal e ilimitada pelo excesso de mandato e pelos atos praticados com violação a este parágrafo, salvo com autorização de todos os sócios.

Cláusula 22ª - São expressamente vedados, sendo nulos e inoponíveis em relação à Sociedade, os atos praticados por quaisquer dos sócios, Administradores, mandatários, representantes ou funcionários da Sociedade, que a envolverem em obrigações relativas a negócios ou operações estranhas ao objeto social ou, em favorecimento pessoal destas ou de outras pessoas, como concessões de fianças, avais ou outras garantias de qualquer espécie, ou ainda, em desacordo com o disposto na cláusula acima, sob pena de responsabilidade pessoal e ilimitada pelo excesso de mandato e pelos atos praticados em violação a esta cláusula, salvo se autorizado pela totalidade dos sócios quotistas.

Cláusula 23ª - Em casos de ausência, licença ou impedimento temporário, os Administradores poderão constituir mandatários, sócios ou não, com poderes e funções devidamente atribuídas em instrumento próprio. Ocorrendo vacância, afastamento, renúncia ou impedimento, definitivo, deverá de imediato ser convocada Reunião de Quotistas que elegerá o novo Administrador.

Cláusula 24ª - Fica expressamente prevista a possibilidade de Administrador não sócio, que será investido no cargo mediante lavratura de instrumento competente, o qual, após devidamente registrado/arquivado no Registro Público do Comércio, valerá como comprovante adequado da nomeação, submetendo-se ainda, às mesmas condições estabelecidas neste instrumento.

Cláusula 25ª - Os sócios que trabalharem na administração da sociedade perceberão, a título de pró-labore, uma quantia fixa mensal estabelecida de comum acordo entre os sócios no início de cada exercício social que, será creditada em conta corrente, de onde retirarão de acordo com a disponibilidade financeira da sociedade até o máximo de seu crédito, exceto se, deliberado de forma diversa em reunião ou assembléia de quotistas.

Cláusula 26ª - Até o final do mês de abril de cada ano, os Administradores são obrigados a prestar aos sócios quotistas, contas justificadas de sua administração, apresentando-lhes o inventário, bem como, o balanço patrimonial e o de resultado econômico, na forma da cláusula 17ª deste instrumento.

Cláusula 27ª - Ocupam os cargos de Administradores desta Sociedade os quotistas **RICARDO URBANCIC e ELIZETE ANGELA GUAREZI**, ambos já anteriormente identificados e qualificados.

§ Único: Os Administradores declaram, sob as penas da lei, que não estão impedidos de exercer a administração da sociedade, por lei especial, ou em virtude de condenação criminal, ou por se encontrar sob os efeitos dela, a pena que vede, ainda que temporariamente, o acesso a cargos públicos, ou por crime falimentar, de prevaricação, peita ou suborno, concussão, peculato, ou contra a economia popular, contra o sistema financeiro nacional, contra as normas de defesa da concorrência, contra as relações de consumo, a fé pública ou a propriedade, (§ 1º do art. 1.011 da Lei 10.406/02, Código Civil Brasileiro).

Cláusula 28ª - Os Administradores poderão ser destituídos de suas funções a qualquer tempo, devendo-se para tanto, ser observado o quorum e demais formalidades exigidas pela legislação vigente, especialmente quanto ao registro de tais deliberações perante o Registro Público do Comércio.

http://assinador.pscs.com.br/assinadorweb/autenticacao?chave1=VcfftExdvXM9fVgb8Zp63Ag&chave2=Ug8cwwsph_-ckGj5CvuIRA
ASSINADO DIGITALMENTE POR: 04160700942-LILIAN GHENO|73938459972-RICARDO URBANCIC|14138700900-ARCIDES DE DAVID
03012074961-ELIZETE ANGELA GUAREZI|04562269901-LETICIA BELATTO BORDIGNON|04562272961-ISABELA BELATTO BORDIGNON

Junta Comercial do Estado de Santa Catarina 05/06/2019
Certifico o Registro em 05/06/2019
Arquivamento 20196526221 Protocolo 196526221 de 05/06/2019 NIRE 42203255148
Nome da empresa AGRO LIDER LTDA
Este documento pode ser verificado em http://regin.jucesc.sc.gov.br/autenticacaoDocumentos/autenticacao.aspx
Chancela 150907468361163
Esta cópia foi autenticada digitalmente e assinada em 05/06/2019 por Blasco Borges Barcellos - Secretario-geral;

http://assinador.pscs.com.br/assinadorweb/autenticacao?chave1=VcfftExdvXM9fVgb8Zp63Ag&chave2=Ug8cwwsph_-ckGj5CvuIRA
ASSINADO DIGITALMENTE POR: 04160700942-LILIAN GHENO|73938459972-RICARDO URBANCIC|14138700900-ARCIDES DE DAVID
03012074961-ELIZETE ANGELA GUAREZI|04562269901-LETICIA BELATTO BORDIGNON|04562272961-ISABELA BELATTO BORDIGNON

CAPÍTULO VI
DAS DELIBERAÇÕES SOCIAIS E DAS REUNIÕES DOS SÓCIOS:

Cláusula 29ª - As deliberações dos sócios, para os fins previstos em lei, ou sempre que os interesses da sociedade exigirem serão tomadas em reunião, na qual, cada quota do capital social corresponderá a 01 (um) voto.

§ Único: Será realizada ao menos 01 (uma) reunião de sócios por ano, até o final do mês de abril, objetivando deliberar sobre as matérias previstas no artigo 1.078 da Lei 10.406/02 (Código Civil Brasileiro).

Cláusula 30ª - As reuniões de sócios serão convocadas pelos administradores ou, na ausência destes, pelos sócios nos casos previstos em Lei, com 08 (oito) dias de antecedência, através de carta registrada, fax, e-mail ou por aviso entregue pessoalmente aos sócios, contra recibo.

§ Único: Serão dispensadas as formalidades de convocação, quando todos os sócios comparecerem ou se declararem, por escrito, cientes do local, data, hora e ordem do dia.

Cláusula 31ª - Os sócios poderão ser representados nas reuniões por outro sócio ou por procurador devidamente constituído em instrumento próprio, com poderes para tanto, devendo dito instrumento, ser levado a registro juntamente com a Ata da Reunião.

Cláusula 32ª - O quorum de instalação da Reunião, bem como o quorum para aprovação das deliberações, serão aqueles determinados pela legislação vigente.

Cláusula 33ª - Em livro próprio de registro de Atas de reuniões de sócios, será lavrada de forma sumária a Ata dos trabalhos, contendo as ocorrências e deliberações dos sócios, devendo ao final, ser assinada pelos membros da mesa e pelos sócios presentes.

Cláusula 34ª - As reuniões tornam-se dispensáveis quando todos os sócios decidirem, por escrito, sobre a matéria que seria objeto delas.

Cláusula 35ª - Fica expressamente prevista a possibilidade de exclusão de sócios por justa causa, desde que, observado o quorum e os demais procedimentos exigidos pela legislação vigente à época da exclusão.

Cláusula 36ª - As deliberações tomadas em conformidade com o presente contrato e ao amparo da lei vinculam todos os sócios, ainda que ausentes ou dissidentes.

CAPÍTULO VII
DA DISSOLUÇÃO E LIQUIDAÇÃO DA SOCIEDADE E DAS DISPOSIÇÕES FINAIS:

Cláusula 37ª - A sociedade será dissolvida nos casos previstos em lei, observando-se sempre, o que a legislação vigente à época dispuser. Na liquidação os haveres da Sociedade serão empregados na liquidação das obrigações sociais e o remanescente, se houver, será rateado entre os sócios proporcionalmente ao número de quotas que cada um possuir integralizadas na sociedade. Ao fim do processo de liquidação, a Sociedade será considerada extinta.

Junta Comercial do Estado de Santa Catarina 05/06/2019
Certifico o Registro em 05/06/2019
Arquivamento 20196526221 Protocolo 196526221 de 05/06/2019 NIRE 42203255148
Nome da empresa AGRO LIDER LTDA
Este documento pode ser verificado em http://regin.jucesc.sc.gov.br/autenticacaoDocumentos/autenticacao.aspx
Chancela 150907468361163
Esta cópia foi autenticada digitalmente e assinada em 05/06/2019 por Blasco Borges Barcellos - Secretario-geral;

Cláusula 38ª - A sociedade manterá um departamento técnico, quando exigido por lei, com pessoal habilitado e na forma da legislação vigente, inscritos nos órgãos competentes, que se responsabilizará pelo desenvolvimento das atividades e pelos serviços prestados pela empresa.

Cláusula 39ª - Fica eleito o Foro da Cidade e Comarca de Chapecó, Estado de Santa Catarina, para as questões oriundas do presente contrato.

Revogam-se as disposições contidas no Instrumento Contratual original e nas alterações posteriores, passando a sociedade a ser regida somente por este Instrumento.

E por estarem justos e contratados, lavram, datam e assinam o presente instrumento em via única, juntamente com 02 (duas) testemunhas instrumentárias abaixo, obrigando-se a cumpri-lo em todos os seus termos.

Chapecó, SC, 05 de junho de 2019.

RICARDO URBANCIC

ELIZETE ANGELA GUAREZI

ISABELA BELATTO BORDIGNON

LETÍCIA BELATTO BORDIGNON

- As testemunhas:

LILLIAN GHENO
C.I. 4.911.329-1 - SSP/SC

ARCIDES DE DAVID
C.I. 3.408.803-2 - SSP/SC

http://assinador.pscs.com.br/assinadorweb/autenticacao?chave1=VcffExdvXM9fVgb8Zp63Ag&chave2=Ug8cwwsph_-ckGj5CvuIRA
ASSINADO DIGITALMENTE POR: 04160700942-LILIAN GHENO|73938459972-RICARDO URBANCIC|14138700900-ARCIDES DE DAVID
03012074961-ELIZETE ANGELA GUAREZI|04562269901-LETICIA BELATTO BORDIGNON|04562272961-ISABELA BELATTO BORDIGNON

Junta Comercial do Estado de Santa Catarina 05/06/2019
Certifico o Registro em 05/06/2019
Arquivamento 20196526221 Protocolo 196526221 de 05/06/2019 NIRE 42203255148
Nome da empresa AGRO LIDER LTDA
Este documento pode ser verificado em http://regin.jucesc.sc.gov.br/autenticacaoDocumentos/autenticacao.aspx
Chancela 150907468361163
Esta cópia foi autenticada digitalmente e assinada em 05/06/2019 por Blasco Borges Barcellos - Secretario-geral;

JUCESC
JUNTA COMERCIAL DO ESTADO DE SANTA CATARINA

196526221

TERMO DE AUTENTICACAO

NOME DA EMPRESA	**AGRO LIDER LTDA**
PROTOCOLO	**196526221 - 05/06/2019**
ATO	**002 - ALTERACAO**
EVENTO	**021 - ALTERACAO DE DADOS (EXCETO NOME EMPRESARIAL)**

MATRIZ

NIRE 42203255148
CNPJ 05.443.140/0001-58
CERTIFICO O REGISTRO EM 05/06/2019
SOB N: 20196526221

REPRESENTANTES QUE ASSINARAM DIGITALMENTE

Cpf: 03012074961 - ELIZETE ANGELA GUAREZI
Cpf: 04562269901 - LETICIA BELATTO BORDIGNON
Cpf: 04562272961 - ISABELA BELATTO BORDIGNON
Cpf: 73938459972 - RICARDO URBANCIC

Junta Comercial do Estado de Santa Catarina 05/06/2019
Certifico o Registro em 05/06/2019
Arquivamento 20196526221 Protocolo 196526221 de 05/06/2019 NIRE 42203255148
Nome da empresa AGRO LIDER LTDA
Este documento pode ser verificado em http://regin.jucesc.sc.gov.br/autenticacaoDocumentos/autenticacao.aspx
Chancela 150907468361163
Esta cópia foi autenticada digitalmente e assinada em 05/06/2019 por Blasco Borges Barcellos - Secretario-geral;

ÍNDICE MONOGRAFICO	NOME
B01	BACILLUS THURINGIENSIS

Doc. 02

B01 - Bacillus thuringiensis

a) Ingrediente ativo ou nome comum: BACILLUS THURINGIENSIS

b) Sinonímia: Bt

c) N° CAS: 68038-71-1

d) Classificação Taxonômica:

d1. Domínio - Eubactéria
d2. Reino - Procariotae
d3. Filo - Firmicutes
d4. Classe - Firmibacteria
d5. Ordem - Eubacteriales
d6. Família - Bacillaceae
d7. Gênero - Bacillus
d8. Espécie - thuringiensis
d9. Variedade - kurstaki, israelensis e aizawai

e) Classe: Inseticida microbiológico

f) Classificação toxicológica: Classe IV

g) Uso agrícola: Autorizado conforme indicado.
Modalidade de emprego: Conforme Ato nº 06/2014 da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA/MAPA) e indicação na bula dos produtos.

h) Emprego domissanitário: autorizado conforme indicado.

1. Identificação: Bacillus thuringiensis, Var. israelensis

2. Modalidade de Emprego, tipo de formulação e potência máxima autorizada:

2.1. Venda Livre.

Tipo de formulação	Potência
Granulado	4.000 (U.T.I.)/mg
Tablete	2.000 (U.T.I.)/mg

2.2. Entidades especializadas e campanhas de saúde pública.

Tipo de formulação	Potência
Granulado	4.000 (U.T.I.)/mg
Suspensão concentrada	1.200 (U.T.I.)/mg
Solução aquosa concentrada	1.200 (U.T.I.)/mg
Tablete	2.000 (U.T.I.)/mg

2.3. Jardinagem Amadora

Tipo de formulação	Potência
Granulado	4.000 (U.T.I.)/mg

Pó	1.200 (U.T.I.)/mg
Suspensão concentrada	1.200 (U.T.I.)/mg
Tablete	2.000 (U.T.I.)/mg

2.4. Uso em água para consumo humano

Aprovado conforme indicação em rótulo.

Nota 1: Unidades Tóxicas Internacionais (U.T.I.)

Nota 2: A linhagem de *Bacillus thuringiensis* utilizada na formulação deve ser caracterizada e comprovar ausência de produção de enterotoxinas e β-exotoxinas e contaminação por outros microrganismos.

Resolução RE nº 3.864 de 19/08/10 (DOU de 23/08/10)
Resolução RE nº 5.102 de 10/11/10 (DOU de 12/11/10)
Resolução RE nº 5.011 de 27/12/13 (DOU de 30/12/13)
Resolução RE nº 3.761 de 24/09/14 (DOU de 25/09/14)
Resolução RE nº 2.114 de 30/07/15 (DOU de 31/07/15)

Doc. 03

PREFEITURA MUNICIPAL DE PINHEIRO PRETO Nº 59

PARECER JURÍDICO Nº 05/2020

OBJETO: Recurso administrativo impugnação ao processo licitatório 100/2019, na modalidade pregão presencial, tendo como objeto a aquisição de 350 (trezentos e cinquenta litros) de larvicida biológico – BTI (bacillus thringiensis israelense), destinado ao controle do mosquito borrachudo.

RELATÓRIO

Trata-se parecer jurídico referente aos processos administrativos nº 002/2020, e 003/2020 que tratam da impugnação ao edital da licitação PREGÃO PRESENCIAL 100/2019 que tem por objeto larvicida biológico – BTI (bacillus thringiensis israelense) protocolada pelas preponentes SANIGRAN LTDA e AGRONATURAL BASSO LTDA em 07 de janeiro e 09 de janeiro de 2020 respectivamente.

DOS FATOS

A preponente **SANIGRAN** alega que:

a) A licitação faz exigência de que a CEPA seja homologada pela OMS, de acordo com a impugnação apresentada, não há no mercado mundial larvicida biológico – BTI ne versão liquida com CEPA recomendada pela OMS. O único produto que atende a esse tipo de exigência é o "Vectobac 12 AS, da Sumitorno", que possui CEPA AM 65-52 recomendada pela OMS. Além disso, esse produto é na apresentação de grânulos dispersáveis em água e não na forma liquida.

A preponente apresentou tabela com 3 tipos de larvicidas BTI, todos do mesmo fabricante, enfatizando que nenhum dos produtos listados se adequa ao solicitado no edital, que deve ser entregue na forma liquida com 1.200 UTI/MG, sendo que os produtos registrados são na apresentação granulada ou granulada dispersivel em água e possuem 200, 3.000 e 50 UTI/MG.

PREFEITURA MUNICIPAL DE PINHEIRO PRETO
Nº 60

Com relação ao produto da marca VectoBac que é na modalidade "Aqueous Suspension" trata-se do Vectobac AS², dessa forma, não existe larvicida BTI em solução aquosa registrado na OMS.

A mesma situação está ocorrendo em outros municípios onde é apresentada uma tradução juramentada de um estudo técnico como forma de comprovar uma suposta indicação pela OMS. Traz como exemplo, os documentos apresentados em duas licitações que tem o mesmo objeto da presente licitação, uma na cidade de PUTINGA/RS (pregão presencial nº 369/2019), e outra na cidade de SCHROEDER/SC (pregão presencial 79/2019), onde ambos os estudos são os mesmos, mas com diferentes traduções.

Em uma das traduções trazidas pela preponente, ela retira algumas conclusões, são elas:

> *"a) A especificação técnica apresentada é válida apenas para o produto "Grânulo dispersivos em água" e "Grânulos", não citando absolutamente nada sobre produto na versão liquida (AS);*
>
> *b) A própria OMS entende que a "adequação de pesticidas para uma finalidade especifica [...] devem ser decididos a nível nacional", deixando claro que no presente caso o registro na ANVISA seria suficiente;*
>
> *c) A própria OMS afirma que não "declara, de nenhuma forma, a conformidade efetiva de nenhum pesticida considerado estar em conformidade uma especificação da OMS", deixando claro que somente este estudo não garante sua qualidade;*
>
> *d) A versão em "grânulos" (GR) não é para ser utilizada em água potável e a "dispersivel em água" (WG) pode ser utilizada em água potável, demonstrando que não é a CEPA, nem o registro na OMS que garantem a segurança para uso em água consumível por humanos.*
>
> *Fica cabalmente demonstrado que o produto cotado pela concorrência, na versão liquida, não é indicado pelo Ministério da Saúde, que a OMS entende que quem deve garantir a eficácia da aplicação é a ANVISA,*

MUNICIPAL DE
Nº 61
PINHEIRO PRETO

que ao legado registro não garante a qualidade do produto e ainda que a CEPA especifica não é garantia de utilização em agua potável."

Em conformidade com o termo de revogação do certame na cidade de Putinga/RS a administração estaria "comprando gato por lebre" sendo induzida a erro por documentos de complexa análise.

b) A preponente demonstra também porquê é equivocado adquirir o presente produto de CEPA especifica, tendo em vista, que o ingrediente ativo que é o que realmente produz o efeito do produto é o BACILLUS THURIGIENSIS a 1200 UT, sendo a CEPA a linhagem da bactéria da qual o produto é obtido. Assim, não é a CEPA mesmo que homologada pela OMS, que possibilita a utilização em água para consumo humano, mas a ausência de enterotoxinas e ß-exotoxinas, que são tóxicas para humanos e também vertebrados.

Dessa forma, LINHAGEM de BACILLUS THURIGIENSIS é sinônimo de CEPA BACILLUS THURIGIENSIS, diante disso o que possibilita ou proíbe a utilização do produto para consumo humano é a ausência de produção de "enterotoxinas e ß-exotoxinas e a contaminação por outros microrganismos. A CEPA AM 65-52 exigida na no edital cumpre esse requisito da mesma forma que existem outras CEPAS que tem a mesma característica.

A ANVISA não registra produtos que tem produção de enterotoxinas e ß-exotoxinas, dessa forma, todo produto com ingrediente ativo BACILLUS THURIGIENSIS registrado pela ANVISA pode ser utilizado em água para consumo humano.

c) A preponente alega também que é ilegal vincular a aceitação de um produto a uma organização internacional, visto que cabe a ANVISA a regulação deste tipo de produto no Brasil conforme informações disponibilizadas em seu próprio site. Deste modo para garantir que o produto possa ser utilizado com segurança, inclusive em água para consumo humano a administração deve exigir que o produto seja registrado na ANVISA e que não haja produção de enterotoxinas e ß-exotoxinas e não exigir CEPA específica.

MUNICIPAL DE
Nº 62
PINHEIRO PRETO

d) Trouxe também parecer do engenheiro agrônomo do Município de Tangará/SC com o mesmo entendimento:

> *"[...]*
>
> *Sendo assim, o produto da empresa vencedora da licitação está dentro das especificações contidas no edital. De forma geral a empresa oferece larvicida, de grupo químico INSETICIDA BIOLÓGICO, com princípio ativo BACILLUS THURIGIENSIS ISRAELENSIS, potência 1200 UTI/mg com registro na ANVISA.*
>
> *Comparando com outros produtos do AGROBRASILERIO, onde diversas empresas exploram as mesmas moléculas em seus produtos comerciais, este produto por ser biológico pode haver variação de CEPA, fabricante e importador. Porém, conforme especificações do rotulo, o princípio ativo e a formulação do produto estão de acordo com o descrito no edital e nada difere em característica e eficiência, dos demais produtos comerciais existentes no mercado, para os mesmos fins. "*

e) Consoante com a presente impugnação o edital deve ser alterado, ajustando a especificação, para que outras marcas possam participar possibilitando a ampla concorrência.

A preponente **AGROBASSO** alega que:

a) A administração pública não pode escolher o produto de determinada marca, exceto com previsão legal.

b) O edital deveria exigir documento atestando a qualidade técnica do produto com registro na ANVISA.

c) Ao inserir na descrição técnica do objeto licitado "*Cepa avaliada e recomendada pela Organização Mundial da Saúde – OMS*", está direcionando o objeto licitado a determinado produto, limitando assim, o caráter competitivo do certame.

d) Consoante com a presente impugnação, deve ser excluído do edital o requisito de habilitação, concernente a qualificação técnica, constante na cláusula 5.3.4.5 do edital, tendo em vista a ilegalidade da exigência, bem

Nº 123
PINHEIRO PRETO

como deve ser retificado a descrição técnica do objeto do certamente, a fim de excluir a expressão "*Cepa avaliada e recomendada pela OMS*".

e) Alega que não foi exigida Cepa avaliada e recomendada pela OMS nos certames anteriores, bem como, a expressão "Cepa avaliada e recomendada pela organização mundial da saúde (OMS)" é ilegal, tendo em vista que a OMS não está apta a proceder com o registro e cabe somente a ANVISA deferir o registro do produto para possibilitar sua comercialização em território nacional.

f) Por fim, a preponente traz a presente impugnação que já fora vencedora de certames anteriores e entregou o seu produto ao município, contudo, nas ocasiões anteriores não foi exigida na descrição técnica do objeto da licitação a expressão "Cepa avaliada e recomendada pela organização mundial da saúde (OMS)".

FUNDAMENTAÇÃO

1. QUANTO A EXIGÊNCIA DA RECOMENDAÇÃO DA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, BEM COMO, SUA APTIDÃO PARA ASSIM ATESTAR:

Levando em consideração um dos questionamentos levantados pelas preponentes SANIGRAM e AGRONATURAL BASSO, o edital faz exigência de que a CEPA seja homologada pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Consoante com o item 1 do edital de licitação, que trata do objeto:

> ***"1. DO OBJETO***
>
> *1.1 A presente licitação tem por objeto a aquisição de 350 (trezentos e cinquenta) litros de larvicida biológico – BTI (bacillus thringiensis israelense), destinado ao controle do mosquito borrachudo, não tóxico, solúvel em água, acondicionados preferencialmente em galões de 10 litros com lacre de fábrica, rótulo em português, concentração mínima de 1200 UTI/MG,* ***CEPA avaliada e recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS)****, com prazo de validade mínima de 15 (quinze) meses."*

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 64
PINHEIRO PRETO

No que diz respeito, a aptidão da Organização Mundial da saúde para atestar e recomendar a CEPA do produto, é necessário ressaltar que a OMS trabalha na elaboração de estudos estatísticas sobre a situação da saúde a níveis internacionais, sendo o resultado desses estudos divulgados em diversos documentos e relatórios que podem ser facilmente acessados pelo seu site.

Bem como a Fundação Nacional de Saúde – FUNASA também afirma que o uso de praguicidas na saúde publica sigam as recomendações de especialistas da Organização Mundial da saúde, vejamos:

> Em contrapartida, o controle químico oferece como principais vantagens, a rapidez e a facilidade com que destróem as pragas, sendo recomendado o seu uso de maneira seletiva nos programas de controle de vetores, tanto nas ações de rotina, como nas de emergência.
>
> O uso de praguicidas em saúde pública, no controle de vetores, deve seguir as recomendações do grupo de especialistas da Organização Mundial de Saúde, conforme descrito no documento *Chemical Methods for the Control of Vectors and Pests of Public Health Importance (WHO/CTD/WHOPES/97.2).*
>
> Em determinadas situações é a única forma de intervenção disponível, devendo ser adotada uma **tecnologia de aplicação** adequada a cada caso. O sucesso da sua aplicação depende da adoção de critérios, os quais pressupõem o conhecimento sobre a biologia da praga que se busca controlar, principalmente, a duração dos seus ciclos, hábitos alimentares, locais de alimentação e repouso, interação com fatores climáticos, entre outros.

Fonte: FUNASA, 2001. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/controle_vetores.pdf

Assim, é incontestável que a Organização Mundial da Saúde está perfeitamente apta a proceder com o registro dos larvicidas, tendo em vista, ser referência mundial em questões de saúde pública e também pelo fato de tal exigência ser recomendada pela Organização Nacional de Saúde – FUNASA.

2. DA EXISTÊNCIA DE OUTROS PRODUTOS RECOMENDADOS PELA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS)

Existem outros larvicidas disponíveis no mercado com CEPA recomendada pela OMS, mas não são larvicidas BACTERIANOS, conforme tabela apresentada pela própria Organização Mundial da Saúde, vejamos:

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 65
PINHEIRO PRETO

Larvicidas recomendados pela Organização Mundial de Saúde para uso em água potável

Produto	Grupo	Formulação(1)	Dose (mg/l)
Bacillus thuringiensis israelensis, cepa AM 65-52 (BTI)	larvicida bacteriano	WDG (3000 UTI/mg)	1 - 5
Diflubenzuron	benzoilureas	DT,GR,PM	0,02 - 0,25
Novaluron	benzoilureas	CE	0,005
Piriproxifen	análogo de hormonio juvenil	GR	0,01 - 0,05
Espinosade	espinosinas	DT	0,1 - 0,5
Temefós	organofosforado	GR	1

(1) CE= concentrado emulsionável; DT= tablete para aplicação direta; GR=granulos; PM= pó molhável; WDG= granulos dispersíveis em água;

Fonte: OMS, 2012. http://www.who.int/whopes/Mosquito_Larvicides_Sept_2012.pdf

Tendo em vista que o edital é muito claro quanto ao seu objeto, ou seja, a aquisição de larvicida biológico – BTI (bacillus thringiensis israelense, nesse caso deve ser o observado o princípio da vinculação ao instrumento convocatório, ou seja, consoante com o disposto no art. 41 da Lei 8.666/93, a Administração não pode descumprir as normas e condições do edital, ao qual se acha estritamente vinculada.

Dessa forma, em conformidade com documento apresentado pela Sumitomo Chemical Latin América[1], o produto Vectobac, é o único larvicida bacteriano que atende a exigência, CEPA AM 65-52, avaliado e recomendado pela Organização Mundial de saúde (OMS).

3. DA EFICIÊNCIA TÉCNICA COMPROVADA DO VECTOBAC

Existem outros larvicidas bacterianos no mercado como o BTHORUS, por exemplo, mas não possui recomendação pela OMS, bem como

[1] Disponível em: www.sumitomo-chem.co.jp (Anexo na integra)

não é tão eficaz quanto o Vectobac, conforme fica demonstrado em estudos apresentados pelo departamento de zoologia da UNICAMP (ambos em anexo), em 2013 e 2017 respectivamente, em comparação dos dois produtos.

Vejamos:

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 66
PINHEIRO PRETO

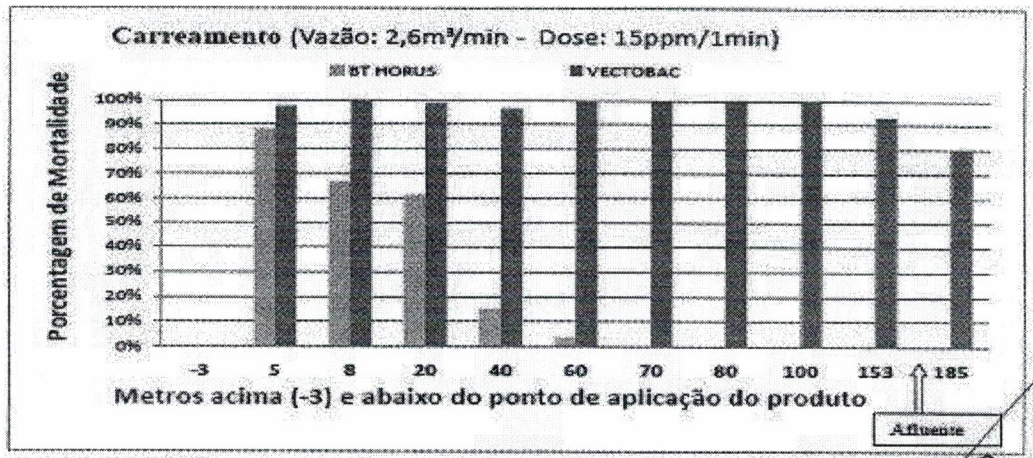
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados permitem verificar que não houve mortalidade alguma entre as larvas, no ponto escolhido como testemunha 3 metros acima da aplicação dos produtos (-3m) para as aplicações dos dois produtos (Tabela 1).

Vectobac permitiu eficiência de controle, com mortalidades igual ou acima de 93% nas larvas, até o ponto 153m abaixo da aplicação. Na distância de 185m abaixo da aplicação a eficiência foi reduzida para pouco mais de 80%, mas deve-se levar em conta que antes desse ponto, o riacho recebe um afluente com 0,5m^3/min, o que dilui o produto.

Bt-Horus não permitiu eficiência nem mesmo 5m abaixo da aplicação (primeiro ponto), causando apenas 88% de mortalidade entre as larvas. Abaixo desse ponto, as eficiências foram menores ainda.

Figura 1. Eficiência no carreamento para a aplicação de dois produtos à base de Bacillus thuringiensis israelensis no controle de larvas de Simulium spp. Riacho Bracinho (Schroeder, SC), Outubro de 2013.



Quando as amostras dos dois produtos foram comparadas no laboratório mostraram resultados próximos para a CL_{50} em *Ae. aegypti*, respectivamente de cerca de 69% e 46% de mortalidade para VectoBac® 12AS e Bt-Horus respectivamente, mas o elevado desvio padrão obtido nesse último caso, indica a grande dificuldade em se homogeneizar o produto. Para a concentração maior no entanto, a diferença foi bem grande, sendo que VectoBac® 12AS permitiu 100% de eficiência, o que era realmente de se esperar, enquanto Bt-Horus permitiu apenas 56,2% de mortalidade (Tabela 1).

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 67
PINHEIRO PRETO

Tabela 1. Mortalidades em larvas de Ae. aegypti para duas concentrações dos produtos VectoBac 12AS e Bt-Horus SC no laboratório.

Vectobac ® AS
0,54 ppm = 100%
0,06 ppm = 69,2% (DP 11,8)
Bt-Horus® SC
0,54 ppm = 56,2% (DP 13,5)
0,06 ppm = 45,9% (DP 115,3)

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que houve uma grande diferença na eficiência geral e no carreamento dos produtos, com grande vantagem para o VectoBac® 12AS quando avaliados comparativamente no controle de borrachudos.

Indica-se que em um riacho desse tipo como o que VectoBac® 12AS foi avaliado em Schroeder/SC, forte criadouro da espécie antropofílica de borrachudo, VectoBac® 12AS pode ser empregado com eficiência em trechos de 150 metros ou mais, enquanto Bt-Horus não pode ser recomendado.

Finalmente, pode-se discutir ainda que seguramente os dois produtos não possuem a mesma potência, ficando evidente que Bt-Horus é bem menos potente do que VectoBac® 12AS em termos de Unidades Internacionais de Potência (UTI) por miligrama de produto.

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 68
PINHEIRO PRETO

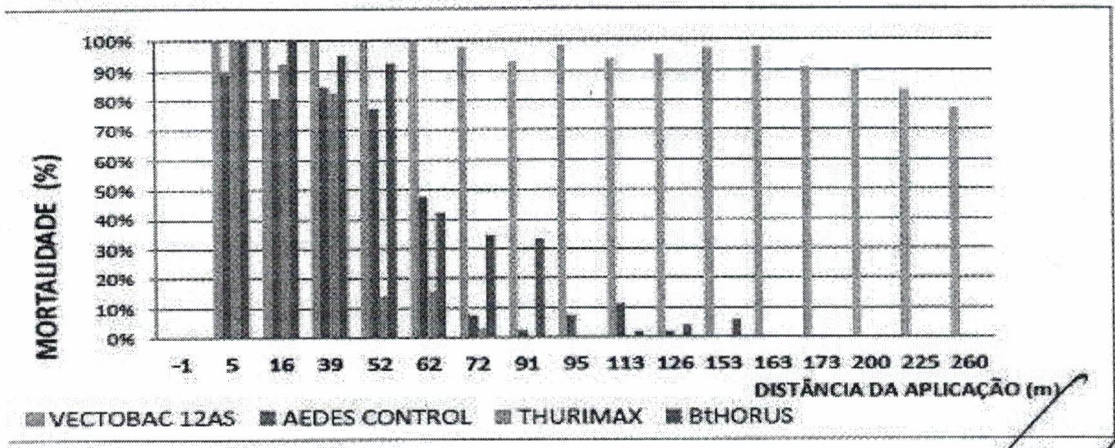
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na FIGURA 1 permitem verificar que não houve mortalidade alguma entre as larvas, no ponto escolhido como testemunha 1 metro acima da aplicação dos produtos (-1m) para as aplicações dos quatro produtos.

Com melhor desempenho ficou o produto Vectobac 12AS que permitiu boa eficiência de controle, com mortalidades nas larvas igual ou acima de 90%, até o ponto 200m abaixo da aplicação. Na distância de 225m abaixo da aplicação a eficiência foi reduzida para pouco mais de 80% e aos 260 metros reduzida para 77%.

Em segundo lugar quanto ao desempenho ficou o produto BtHorus, com boa eficiência de controle até 52 metros abaixo da aplicação, mas caindo a seguir para 42% de eficiência na distância de 62 metros abaixo. Em terceiro lugar ficou o produto Thurimax, que permitiu boa eficiência de controle para as distâncias 5 e 16 metros abaixo da aplicação e em último lugar o produto Aedes Control, que no máximo permitiu 89% de eficiência para o primeiro ponto amostrado, 5 metros abaixo da aplicação.

Figura 1. Eficiência no carreamento para a aplicação de quatro produtos à base de Bacillus thuringiensis israelenses no controle de larvas de Simulium spp (15ppm/1min). *Riacho Engenho D'Ouro, Paraty, RJ – Dezembro de 2016 a maio 2017.*



PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 69
PINHEIRO PRETO

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que houve uma grande diferença na eficiência geral e no carreamento dos produtos quando avaliados comparativamente no controle larval de borrachudos, com destacada vantagem para o VectoBac® 12AS.

Indica-se ainda que em um riacho desse tipo, de tamanho médio e com vazões entre 3 e 10 m^3/min deve-se esperar de fato eficiências para carreamentos da ordem de 200 a 250 metros, o que ocorreu apenas com o VectoBac® 12AS.

Finalmente, além da notável diferença no carreamento dos produtos, que é resultado de um adequado desenvolvimento industrial das formulações, pode-se suspeitar ainda que seguramente os produtos não possuem a mesma potência conforme declarado (1.200UTI/mg).

Em que pese a empresa AGRONATURAL BASSO LTDA tenha sido ganhadora do processo licitatório nº 063/2017, com o produto da marca BT HORUS SC, podemos extrair da declaração, na qual fora relatado comparativo feito entre os produtos Bt-Horus SC e o Vectobac, emitida esta pelo secretário de agricultura do município Edson Rabuske e o servidor público municipal Aldir Rech (em anexo), ficando evidenciada a eficácia do produto Vectobac.

Vejamos:

> "Após anos de trabalho no controle e combate ao borrachudo neste município nota-se que, o efeito entre um produto e outro, seja de uma empresa ou marca, aplicando as mesmas doses na mesma distancia e volume de água no rios, que a mortalidade das larvas visto in loco nos rios e afluentes é notável, já que foram usadas várias marcas de larvicidas biológicos, mas o que se verificou melhor efeito é o da marca Teknar HP-D (bacillus thuringiensis) e o Vectobac (larvicida biológico). Com percentual de mortalidade das larvas bem maior do que comparado com o da marca comercial Bt-Horus SC, usado nas mesmas dosagens."

Dessa forma, fica muito evidente que existe no mercado um produto de eficiência técnica muito superior aos seus pares no mercado, qual seja o produto VECTOBAC.

4. DA DISTINÇÃO ENTRE PRODUTOS VECTOBAC "AS, G E WG"

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 70
PINHEIRO PRETO

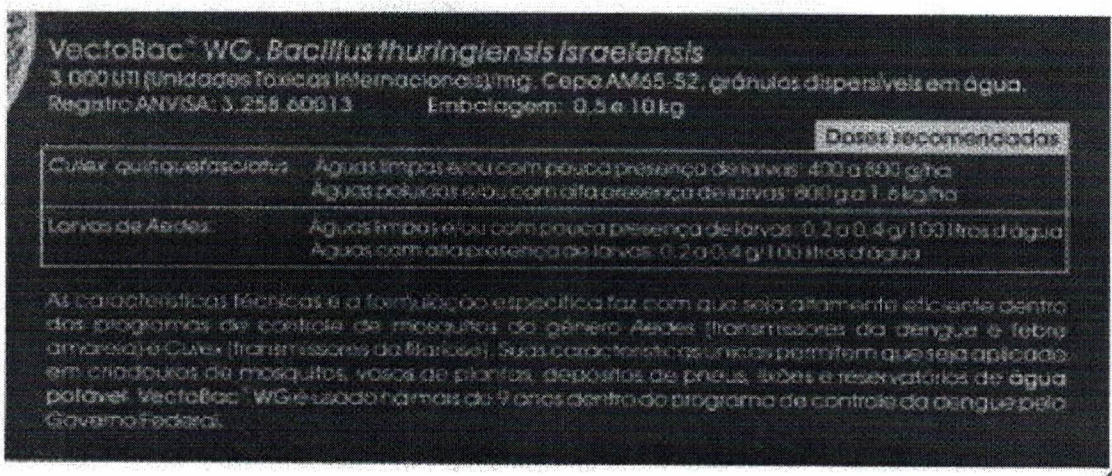
Ainda de acordo com o documento apresentado pela Sumitomo Chemical Latin América o produto VECTOBAC, é o único produto registrado no Brasil em três diferentes formulações:

> VectoBac® é o único produto no Brasil registrado em 3 diferentes formulações:
>
> VectoBac® AS, a base solução aquosa, VectoBac® G, a base de grânulos de sabugo de milho impregnados e VectoBac® WG, a base de grânulos dispersíveis em água sendo o único para utilização em água potável. Estas formulações permitem que o aplicador tenha mais alternativas/flexibilidade de uso do produto nas mais distintas situações e tipos de larvas de mosquitos.

Sendo que o produto adquirido pelo município de Pinheiro Preto em outras oportunidades, e o constante no descritivo do objeto, por constar sua formulação em litros, certamente não trata-se do produto recomendado pela OMS, qual possui sua formulação em grânulos dispersiveis.

5. QUANTO A POTABILIDADE DO PRODUTO

O **VectoBac, WG** apresentado na forma de grânulos dispersiveis em água, **é o único que pode ser utilizado em água potável**, sendo altamente seguro ao ser humano e ao meio ambiente.



VectoBac® WG, *Bacillus thuringiensis israelensis*
3.000 UTI (Unidades Tóxicas Internacionais)/mg. Cepa AM65-52, grânulos dispersíveis em água.
Registro ANVISA: 3.258.60013 Embalagem: 0,5 e 10 kg

	Dosesrecomendadas
Culex quinquefasciatus	Águas limpas e/ou com pouca presença de larvas: 400 a 800 g/ha Águas poluídas e/ou com alta presença de larvas: 800 g a 1,6 kg/ha
Larvas de Aedes	Águas limpas e/ou com pouca presença de larvas: 0,2 a 0,4 g/100 litros d'água Águas com alta existência de larvas: 0,2 a 0,4 g/100 litros d'água

As características técnicas e a formulação específica faz com que seja altamente eficiente dentro dos programas de controle de mosquitos do gênero *Aedes* (transmissores da dengue e febre amarela) e *Culex* (transmissores da filariose). Suas características únicas permitem que seja aplicado em criadouros de mosquitos, vasos de plantas, depósitos de pneus, bóias e reservatórios de água potável. VectoBac® WG é usado há mais de 9 anos dentro do programa de controle da dengue pelo Governo Federal.

Assim, tendo em vista que o VectoBac, WG é o único larvicida bacteriano registrado no Brasil comprovadamente seguro para a utilização em

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 71
PINHEIRO PRETO

água potável e com CEPA e recomendado pela OMS, ressaltando que tal exigência da outorga da OMS não fere o princípio da competitividade.

6. DA LEGALIDADE DO ESTABELECIMENTO DE MARCA ESPECÍFICA OU DE REFERÊNCIA NO EDITAL

No presente caso, tendo em vista que o edital faz clara menção a larvicida bacteriano, liquido (ao exigir embalagens nesta disposição), não existindo produto apto a enquadrar-se nestas especificidades de acordo com elementos acima expostos.

É necessário a revogação do edital para que a alteração da descrição do objeto seja feita, sendo que caso o intuito do administrador seja a aquisição de produto de maior eficiência deve-se adotar uma das alternativas elencadas:

A) Indicação de marca específica
B) Indicação de marca de referência que o preponente deve apresentar a fim de fixar critérios mínimos de efetividade do produto.

Com relação a discussão jurídica da vinculação da marca ao edital faz-se necessário alguns esclarecimentos. A lei 8.666/93 em seu art. 7º, § 5º traz em seu texto:

> *"Art. 7º [...]*
> *§ 5º É vedada a realização de licitação cujo objeto inclua bens e serviços sem similaridade ou de* ***marcas, características e especificações exclusivas, salvo nos casos em que for tecnicamente justificável****, ou ainda quando o fornecimento de tais materiais e serviços for feito sob o regime de administração contratada, previsto e discriminado no ato convocatório."*

De acordo com a súmula 270 do Tribunal de Contas da União é possível a exigência de marca especifica ou de referência desde que seja estritamente necessária para atender exigências de padronização e que haja prévia justificação.

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 72
PINHEIRO PRETO

No mesmo sentido, a jurisprudência do TCU é firme em indicar a necessidade de o gestor indicar as razões que motivam a decisão de restringir a disputa a determinadas marcas:

> *"A indicação de marca no edital deve estar amparada em razões de ordem técnica, de forma motivada e documentada, que demonstrem ser aquela marca específica a única capaz de satisfazer o interesse público. (Acórdão 113/16 – Plenário)*
>
> *A restrição quanto à participação de determinadas marcas em licitação deve ser formal e tecnicamente justificada nos autos do procedimento licitatório. (Acórdão 4476/16 – 2ª Câmara)."*

Por outro lado, não se deve confundir a impossibilidade de exigir marcas com a menção à marca de referência que ocorre quando, por exemplo, o órgão licitante insere a expressão "ou similar" após a descrição do objeto.

A menção à marca de referência é permitida e deriva do dever que a Administração possui de caracterizar o objeto licitado de forma adequada, sucinta e clara, de acordo com os arts. 14, 38, caput, e 40, inciso I, da lei nº 8.666/93.

Nesses casos, o órgão licitante "*deve necessariamente acrescentar expressões do tipo "ou equivalente", "ou similar", "ou de melhor qualidade", podendo a Administração exigir que a empresa participante do certame demonstre desempenho, qualidade e produtividade compatíveis com a marca de referência mencionada.*" (Acórdão 113/2016 – Plenário)

Sobre a diferença entre a vedação à indicação de marca e a menção à marca de referência, assim se manifestou o Tribunal de Contas da União no Acórdão 2.829/15 – Plenário:

> "A diferença básica entre os dois institutos é que o primeiro (excepcionado pelo art. 7º, § 5º, da Lei 8.666/1993), admite a realização de licitação de objeto sem similaridade nos casos em que for tecnicamente justificável, ao passo que o segundo é empregado meramente como forma de melhor identificar o objeto da licitação, impondo-se a aceitação de objeto similar à marca de referência mencionada".

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 73
PINHEIRO PRETO

Portanto, é ato discricionário da administração a possibilidade de indicação de marca especifica ou de referência no edital, desde que prévia e tecnicamente fundamentada essa decisão, há casos em que a restrição por determinadas marcas é lícita e até recomendável.

7. DA EXIGÊNCIA DA CEPA RECONHECIDA PELA OMS EM OUTROS CERTAMES

Outro ponto importante é que em outros municípios a CEPA recomendada e avaliada pela OMS está na descrição do objeto nos certames licitatórios, conforme fica demonstrado abaixo:

ESTADO DE SANTA CATARINA
MUNICIPIO DE SCHROEDER
CNPJ: 83.102.491/0001-09 Telefone: 47374-6500
RUA MARECHAL CASTELO BRANCO, 3291
C.E.P.: 89275-000 - Schroeder

PREGÃO PRESENCIAL
Nº.: 79/2019 - PR
Processo Administrativo: 0/0
Processo Licitatório: 145/2019
Data do Processo: 18/10/2019
Folha: 1/1

Fornecedor: AGRO LÍDER LTDA
Endereço: RUA RUI BARBOSA, 556-E - Bairro: CENTRO
Cidade: CHAPECO UF: SC CEP: 89801-040
CNPJ: 05.443.140/0001-58 Inscrição Estadual: 254586103
Telefone: 49332140000 Enquadrado como MPE:Não MPE Local/Regional:Não

Item	Quantidade	Unid.	Especificação do Material	Preço Máximo	Marca	Desconto	Preço Unitário	Preço Total
1	500,00	LT	INSETICIDA LIQUÍDO - LARVICIDA BIOLÓGICO - Bacillus Thuringiensis Israelensis (BTI) para o combate contra as larvas do Aedes [redacted] CEPA avaliada e recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Sorotipo H 14, 1200 U.T./MG (Unidades Tóxicas Internacionais) [redacted] Embalagem contendo 1 litro com sistema dosador, lembalagem hermeticamente fechada; lacre projetado e fabricado de forma a impedir qualquer vazamento, evaporação, perda ou alteração de seu conteúdo e que o produto tenha Registro na ANVISA. Prazo de validade mínimo de 12 meses contados da data de entrega. Para atender as necessidades da Secretaria de Agricultura, Indústria e Comércio do Município de Schroeder (SC). A empresa vencedora deverá prestar serviços de orientações, treinamento e palestras sobre aplicação do produto em campo, sempre que esta Secretaria solicitar, nas localidades indicadas pelo respectivo órgão, durante o tempo	0,00		0,0000	0,00	0,00

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 74
PINHEIRO PRETO

Prefeitura de Tubarão

MUNICÍPIO DE TUBARÃO/SC
PREGÃO PRESENCIAL Nº 52/2015
_PRIMEIRA ERRATA _

O Município de Tubarão expediu edital de Pregão Presencial nº 52/2015, que objetiva a aquisição de larvicida biológico BTI (Bacillus Thuringiensis variedade Israelensis) para o Município de Tubarão.

Considerando a solicitação da Secretaria de Desenvolvimento Econômico, é necessário alteração na descrição do objeto do Anexo I, o qual passa a ter a seguinte redação:

DA ESPECIFICAÇÃO DO OBJETO

Onde ler-se:

OBJETO – Tem por objeto o presente Edital, a aquisição de 500 litros de larvicida biológico para controle de borrachudos – Bti (*Bacillus thuringiensis var. Israelensis*), sorotipo H-14, com potência mínima de 1.200 UTI/mg (unidades tóxicas internacionais por miligrama), e/ou potência mínima de 3.000 UAA/mg (unidades Aedes Aegypti por miligrama), concentração mínima de 1,6% de princípio ativo. O produto deverá ter registro na ANVISA e sua CEPA avaliada e reconhecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS). A embalagem deverá ser de 10 litros, com ou sem lacre interno, validade mínima de 12 (doze) meses a partir da data de Autorização de Fornecimento (AF). A empresa vencedora deverá prestar orientações, treinamentos e palestras sobre aplicação do produto em campo sempre que o Município solicitar, nas localidades indicadas pelo órgão competente, durante o tempo necessário para consumir toda a totalidade do produto

PROCESSO LICITATÓRIO Nº 080/2019
EDITAL DE PREGÃO PRESENCIAL Nº 036/2019
TIPO DE LICITAÇÃO: ***MENOR PREÇO POR ITEM***

O Prefeito Municipal de Rio Fortuna, Estado de Santa Catarina, torna público que, às **08 (oito) horas e 30 (trinta) minutos,** do dia **10 de dezembro de 2019,** no Setor de Licitação da Prefeitura Municipal de Rio Fortuna, serão abertas as propostas referentes ao Processo Licitatório nº 080/2019, Modalidade PREGÃO PRESENCIAL, sob nº 036/2019, do Município de Rio Fortuna, do tipo MENOR PREÇO POR ITEM, com obediência ao disposto na Lei nº 10.520, de 18 de julho de 2002, e no Decreto nº 3.555/00, de 08 de agosto de 2000, e, subsidiariamente, na Lei nº 8.666/93 e demais legislações.

I - DO OBJETO E SEUS ITENS

1.1 O objeto do presente Edital é a **AQUISIÇÃO DE LARVICIDA BIOLÓGICO BTI (BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS), NITROGÊNIO LÍQUIDO E MATERIAIS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL PARA MANUTENÇÃO DAS ATIVIDADES DA SECRETARIA DE AGRICULTURA E MEIO AMBIENTE DO MUNICÍPIO DE RIO FORTUNA/SC, DURANTE O EXERCÍCIO DE 2020,** conforme itens e valores máximos abaixo descritos:

Item	Descrição	QTD	UND	Valor MÁX. Unit. (em R$)	Valor MÁX. Total (em R$)
1	Larvicida biologico para controle de borrachudos – BTI (Bacillus Thuringiensis Israelensis), sorotipo H-4, com potência mínima de 1.200 UTI/MG (unidades tóxicas internacionais por miligrama), e/ou potência mínima 3.000 UAA/MG (unidades Aedes Aegypti por miligrama), concentração mínima de 1,2% de princípio ativo. O produto deverá ter registro na ANVISA e sua CEPA avaliada e reconhecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS). A embalagem deverá ser de 10 litros, com tarja vermelha, validade mínima de 12 (doze) meses a partir da data de Autorização de Fornecimento	100	LT	128,23	12.823,00

ESTADO DE SANTA CATARINA
SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DA PESCA
GERÊNCIA DE ADMINISTRAÇÃO, CONTABILIDADE E FINANÇAS
SETOR DE LICITAÇÕES

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 76
PINHEIRO PRETO

PREGÃO PRESENCIAL Nº 0021/2015

ANEXO I

Quadro de Quantitativos e Especificações Mínimas do(s) Item(ns)

ITEM	GRUPO CLASSE	CÓDIGO	PRODUTO - CARACTERÍSTICAS MÍNIMAS	UNIDADE
001	6306	00447-2-027	INSETICIDA LIQUIDO LARVICIDA BIOLOGICO DE COMBATE A BORRACHUDO Larvidida Biológico para controle aos borrachudos: Larvidida Biológico B21 (Bacillus thuringiensis Israelensis), Sorotipo H 14, 1.200 UTI/MG, CEPA avaliada e recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Embalagem contendo 10 (dez) [illegible] ANVISA. O Produto deverá ter validade mínima de 12 meses a partir da data de Autorização de Fornecimento. A empresa vencedora deverá prestar serviços de orientações, treinamento e palestras sobre aplicação do produto em campo, sempre que esta Secretaria solicitar, nas localidades indicadas pelo respectivo órgão, durante o tempo necessário para consumir a totalidade do produto solicitado.	Peça

Bem como, no ano de 2019 no município de Pinheiro Preto, no pregão presencial nº 008/2019, processo administrativo nº 025/2019 também foi exigido a CEPA recomendada e avaliada pela OMS, tendo como vencedor do certame a empresa AGRO LIDER LTDA com o produto VECTOBAC.

PREFEITURA MUNICIPAL DE Nº 77 PINHEIRO PRETO

EDITAL DE LICITAÇÃO Nº 008/2019
MODALIDADE PREGÃO PRESENCIAL

O MUNICÍPIO DE PINHEIRO PRETO - ESTADO DE SANTA CATARINA, através do Prefeito Municipal, comunica aos interessados que se encontra aberta a licitação modalidade **PREGÃO PRESENCIAL Nº 008/2019, Processo Administrativo nº 025/2019**, visando à aquisição de produto, conforme descrição abaixo. Os envelopes contendo as Propostas de Preços e Documentação deverão ser entregues no Departamento de Licitações, localizado no Paço Municipal, à Avenida Marechal Costa e Silva, 111, em Pinheiro Preto –SC. O credenciamento será feito até as **09:45 horas** do dia **06/02/2019**. Abertura da sessão às **10:00 horas** do mesmo dia. A presente licitação será do tipo **MENOR PREÇO**, entrega parcelada, consoante condições estatuídas neste Edital, e será regida pela Lei nº 10.520 de 17 de julho de 2002, Decreto Municipal nº 2.785/07 de 24 de janeiro de 2007, bem como pela Lei nº 8.666/93.

1. DO OBJETO

1.1 A presente licitação tem por objeto a aquisição de 300 (trezentos) litros de larvicida biológico – BTI (bacillus thringiensis israelense), destinado ao controle do mosquito borrachudo, não tóxico, solúvel em água, acondicionados preferencialmente em galões de 10 litros com lacre de fábrica, rótulo em português, concentração mínima de 1200 UTI/MG, CEPA avaliada e recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), com prazo de validade mínima de 15 (quinze) meses.

PREGÃO 008/2019
CONTRATO DE FORNECIMENTO 075/2019

Contrato de fornecimento de **300 litros de larvicida biológico – BTI (bacillus thringiensis israelense), destinado ao controle do mosquito borrachudo,** celebrado entre o MUNICÍPIO DE PINHEIRO PRETO, ESTADO DE SANTA CATARINA, e AGRO LÍDER LTDA., autorizado através do Processo nº 025/2019, e Licitação n. 008/2019, modalidade PREGÃO PRESENCIAL, modalidade de execução: entrega parcelada, sujeitado-se as partes aos ditames do edital de licitação, da Lei 8.666/93, e das cláusulas do presente contrato.

CONTRATANTE:
MUNICÍPIO DE PINHEIRO PRETO
CNPJ-MF nº. 82.827.148/0001-69
Endereço: (sede): Avenida Mal. Costa e Silva, 111
Centro, Pinheiro Preto - SC.
Representada por: Pedro Rabuske

CONTRATADA:
Empresa: AGRO LÍDER LTDA.
CNPJ-MF n.º. 05.443.140/0001-58
Endereço: Rua Rui Barbosa, nº 556-E, Bairro Centro, Chapecó – SC CEP: 89801-040
Representada por : Elizete Ângela Guarezi

CLÁUSULA PRIMEIRA - DO OBJETO

1.1 O presente contrato tem por objeto o fornecimento de **300 litros de larvicida biológico – BTI (bacillus thringiensis israelense), destinado ao controle do mosquito borrachudo, não tóxico, solúvel em água, marca VECTOBAC.**

Destarte, fica claro a necessidade da administração em revogar o presente edital, somente para retificar a descrição do objeto indicando uma marca especifica ou de referencia para que as empresas que venham a participar do certame apresentem produtos que satisfaçam o interesse da administração

pública, e assim, continuar com a exigência de recomendação pela OMS pelos motivos acima expostos.

Equivoco ao que nos parece evidente é utilizar-se da expressão "CEPA recomendada e avaliada pela OMS" pois ao que nos parece a avaliação do produto pela OMS vai além da análise genética biológico, sendo mais correto exigir a recomendação do produto se esse for interesse do administrador.

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 78
PINHEIRO PRETO

8. DA REVOGAÇÃO DO EDITAL

Analisando as impugnações apresentadas pelas preponentes, verifica-se que a manutenção do edital traz consideráveis prejuízos, o que acaba por ferir o princípio da eficiência necessária aos atos administrativos, bem como o interesse público sendo, portanto, imprescindível a conferência dos itens para inclusão dos que se fizerem necessários mostrando-se assim, justificável a revogação do presente edital.

A Revogação e a anulação de um processo licitatório estão previstas no artigo 49 da Lei 8.666/93, abaixo transcrito:

> *Art. 49. A autoridade competente para a aprovação do procedimento somente* ***poderá revogar a licitação por razões de interesse público decorrente de fato superveniente devidamente comprovado,*** *pertinente e suficiente para justificar tal conduta, devendo anulá-la por ilegalidade, de ofício ou por provocação de terceiros, mediante parecer escrito e devidamente fundamentado.*
>
> *§ 1o A anulação do procedimento licitatório por motivo de ilegalidade não gera obrigação de indenizar, ressalvado o disposto no parágrafo único do art. 59 desta Lei.*
>
> *§ 2o A nulidade do procedimento licitatório induz à do contrato, ressalvado o disposto no parágrafo único do art. 59 desta Lei.*
>
> *§ 3o No caso de desfazimento do processo licitatório, fica assegurado o contraditório e a ampla defesa.*
>
> *§ 4o O disposto neste artigo e seus parágrafos aplica-se aos atos do procedimento de dispensa e de inexigibilidade de licitação.*

No caso em questão, o edital do Pregão nº 100/2019, no subitem 15.5, repete o texto legal:

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 79
PINHEIRO PRETO

> *"A presente licitação somente poderá ser revogada por razões de interesse público, decorrente de fato superveniente devidamente comprovado, ou anulada, no todo ou em parte, por ilegalidade de ofício ou por provocação de terceiros, mediante parecer escrito e devidamente comprovado"*

Portanto, cabe à administração o controle de seus atos, por força do princípio da autotutela administrativa. Princípio este que foi prestigiado pela Súmula 473 do STF:

> *Súmula 473 do Supremo Tribunal Federal - **"A ADMINISTRAÇÃO PODE ANULAR SEUS PRÓPRIOS ATOS**, QUANDO EIVADOS DE VÍCIOS QUE OS TORNAM ILEGAIS, PORQUE DELES NÃO SE ORIGINAM DIREITOS; **OU REVOGÁ-LOS, POR MOTIVO DE CONVENIÊNCIA OU OPORTUNIDADE, RESPEITADOS OS DIREITOS ADQUIRIDOS, E RESSALVADA, EM TODOS OS CASOS, A APRECIAÇÃO JUDICIAL."***

A respeito do tema, colhe-se da doutrina de Marçal Justen Filho:

> *"No exercício da competência discricionária, a Administração desfaz seu ato anterior por reputá-lo incompatível com o interesse público. A revogação pressupõe que a Administração disponha da liberdade para praticar um certo ato ou para determinar alguns de seus aspectos. Após praticado o ato, a Administração verifica que o interesse público poderia ser melhor satisfeito por outra via. Promoverá, então, o desfazimento do ato anterior. A isso se denomina de revogação."*
> *(JUSTEM Filho, Marçal. Comentários a lei de licitações e contratos administrativos. 11ª ed. P 462)*

Esse também é o entendimento do Tribunal de Contas da União:

"1. O juízo de conveniência e oportunidade a respeito da revogação da licitação é, pela sua própria natureza ato discricionário, privativo da autoridade administrativa que deve resguardar o interesse público."
(Acordão: 111/2007, Plenário, rel. Min. Ubirtan Aguiar)

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 80
PINHEIRO PRETO

Nosso entendimento coaduna com o acima exposto, a administração poderá revogar, por motivo de interesse público, ou anular, em razão de ilegalidade, seus atos. Assim, diante dos fatos aqui mencionados, é notório a necessidade da revogação do edital, sendo imprescindível que seja acrescentado ao edital, marca especifica ou de referência para que as preponentes possam apresentar produtos que atendam a necessidade da administração pública, observado o princípio da competitividade.

CONCLUSÃO

Pelo exposto, restritamente aos aspectos jurídico-formais, esta Assessoria Jurídica manifesta-se pelo conhecimento dos recursos apresentados, e pelo provimento parcial quanto ao seu mérito, de modo a recomendar a revogação do edital de licitação nº 100/2019, na modalidade pregão presencial, tendo como objeto a aquisição de 350 (trezentos e cinquenta litros) de larvicida biológico – BTI (bacillus thringiensis israelense), destinado ao controle do mosquito borrachudo.

Caso seja interesse do gestor aquisição de produto com grau de eficiência superior aos seus pares no mercado, recomenda-se que seja efetuada a modificação do objeto contratado de modo a vincular a marca ao certame, desde que haja o respectivo amparo técnico, podendo adotar uma das duas alternativas:

A) Indicação de marca específica
B) Indicação de marca de referência que o preponente deve apresentar a fim de fixar critérios mínimos de efetividade do produto.

Por oportuno, propõe-se o retorno dos autos à Comissão Permanente de Licitação, para conhecimento e prosseguimento do feito.

É o parecer, SMJ.

PREFEITURA MUNICIPAL DE
Nº 81
PINHEIRO PRETO

Pinheiro Preto, 29 de janeiro de 2020.

André Victório Arcari Filippim
ADVOGADO - OAB/SC Nº 4086

LEONARDO PINTO ANDRADE DE ABREU - Tradutor Público - JUCEPAR nº 12/200-T - CPF/MF 085.092.767-65
Rua Padre Anchieta, 1691 - Cj. 1108 - Bigorrilho - Curitiba - Paraná - Brasil - CEP 80730-000. Tel.: +55 41 3296-7136 - Email: contato@leonardoabreu.com.br

Doc. No. I-4153

Doc. 04

Eu, abaixo assinado, Tradutor Público e Intérprete Comercial, com fé pública e validade em todo o Território Nacional, nomeado pela Junta Comercial do Estado do Paraná - JUCEPAR e nela matriculado sob o Nº 12/200-T, CERTIFICO e DOU FÉ que me foi apresentado um documento em língua inglesa a fim de ser por mim traduzido para o português, o que cumpro, em razão do meu ofício, como segue:

ESPECIFICAÇÕES E AVALIAÇÕES DA OMS PARA PESTICIDAS USADOS NA SAÚDE PÚBLICA

***Bacillus thuringiensis subespécie israelensis* cepa AM65-52**

ÍNDICE

	Página
ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE	**3**
INTRODUÇÃO	**4**
PRIMEIRA PARTE	
ESPECIFICAÇÕES PARA *Bacillus thuringiensis subespécie israelensis* cepa AM65-52	
Bacillus thuringiensis subespécie israelensis cepa AM65-52	
INFORMAÇÕES	**6**
Bacillus thuringiensis subespécie israelensis cepa AM65-52 GRÂNULOS DISPERSÍVEIS EM ÁGUA (OUTUBRO DE 2012)	**7**
Bacillus thuringiensis subespécie israelensis cepa AM65-52 GRÂNULOS (OUTUBRO DE 2012)	**20**
SEGUNDA PARTE	
AVALIAÇÕES PARA *Bacillus thuringiensis subespécie israelensis* cepa AM65-52	
RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO FAO/OMS 2011 SOBRE *Bacillus thuringiensis subespécie israelensis* cepa AM65-52	**33**
ANEXO 1: REFERÊNCIAS	**35**
RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO FAO/OMS 2006 SOBRE *Bacillus thuringiensis subespécie israelensis* cepa AM65-52	**36**
INFORMAÇÕES DE APOIO	**40**
ANEXO 1: RESUMO DE RISCOS FORNECIDO PELO PROPONENTE	**46**
ANEXO 2: REFERÊNCIAS	**52**

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE[1]

As especificações da OMS são desenvolvidas com o objetivo básico de promover, na medida do possível, a fabricação, distribuição e utilização de pesticidas que cumpram com exigências básicas de qualidade.

A conformidade com as especificações não constitui endosso ou garantia da adequação de um pesticida em particular a uma finalidade específica, incluindo sua adequação para o controle de uma determinada praga, ou sua adequação para o uso em determinada área. Devido à complexidade dos problemas envolvidos, a adequação de pesticidas para

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

uma finalidade específica e o conteúdo das instruções do rótulo devem ser decididos a nível nacional ou provincial.

Além disso, pesticidas que são fabricados para cumprir com essas especificações não estão isentos de nenhum regulamento de segurança ou disposição administrativa ou legal aplicável a sua fabricação, venda, transporte, armazenamento, manuseio, preparação e/ou utilização.

A OMS renuncia toda e qualquer responsabilidade por qualquer lesão, morte, perda, dano ou outro prejuízo de qualquer tipo que possa surgir como resultado de, ou em conexão com, a fabricação, a venda, o transporte, o armazenamento, o manuseio, a preparação e/ou a utilização de pesticidas que foram considerados, ou declarados, ser fabricados para cumprir com tais especificações.

Além disso, a OMS gostaria de alertar os usuários sobre o fato de que o armazenamento, o manuseio, a preparação e/ou a utilização inadequados dos pesticidas pode resultar na redução ou perda completa da segurança e/ou eficácia.

A OMS não é responsável, e não aceita qualquer responsabilidade, pelo teste de pesticidas para comprovar a conformidade com as especificações, nem por qualquer método recomendado e/ou uso para teste de conformidade. Como resultado, a OMS não garante nem declara, de nenhuma forma, a conformidade efetiva de nenhum pesticida considerado estar em conformidade com uma especificação da OMS.

[1] A presente isenção de responsabilidade se aplica a todas as especificações publicadas pela OMS.

INTRODUÇÃO

A OMS estabelece e publica especificações* para materiais técnicos e formulações relacionadas a pesticidas utilizados na saúde pública com o objetivo de que tais especificações possam ser usadas para proporcionar um ponto de referência internacional pelo qual os produtos possam ser julgados tanto para finalidades regulatórias quanto para operações comerciais.

Desde 2002, o desenvolvimento das especificações da OMS segue o **Novo Procedimento,** descrito no Manual para Desenvolvimento e Uso da FAO e as Especificações para Pesticidas da OMS. Esse **Novo Procedimento** segue um processo de avaliação transparente e formal. Ele descreve o pacote de dados mínimo, o procedimento e a avaliação aplicados pela OMS e pelos especialistas da "Reunião Conjunta FAO/OMS sobre Especificações de Pesticidas (JMPS)".

As especificações da OMS atualmente se aplicam somente a produtos para os quais os materiais técnicos foram avaliados. Consequentemente, a partir do ano de 2002, a publicação das especificações da OMS sob o **Novo Procedimento** mudou. Cada especificação agora consiste de duas partes, ou seja, as especificações e o(s) relatório(s) de avaliação:

Primeira Parte: A Especificação sobre os materiais técnicos e as formulações relacionadas do pesticida de acordo com os capítulos 4 a 9 do manual supramencionado.

Segunda Parte: O(s) Relatório(s) de Avaliação do pesticida, que refletem a avaliação do pacote de dados realizada pela OMS e pela JMPS. Os dados são fornecidos pelo(s) fabricante(s) de acordo com as exigências do capítulo 3 do manual supramencionado, e são apoiados por outras fontes de informação. O Relatório de Avaliação inclui o nome do(s) fabricante(s) cujos materiais técnicos foram avaliados. Os relatórios de avaliação sobre as especificações desenvolvidas após o conjunto original de especificações são adicionados em ordem cronológica a esse relatório.

As especificações da OMS sob o **Novo Procedimento** não se aplicam necessariamente a produtos nominalmente semelhantes de outro(s) fabricante(s), nem àqueles cujo

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

ingrediente ativo é produzido por outras vias de fabricação. A OMS tem a possibilidade de estender o escopo das especificações a produtos semelhantes, mas somente quando a JMPS esteja convencida de que os produtos adicionais são equivalentes àqueles que formaram a base da especificação de referência.

As especificações indicam a data (mês e ano) de publicação da versão atual. As datas de publicação das versões anteriores, caso haja, estão identificadas em nota de rodapé. As avaliações indicam a data (ano) da reunião na qual as recomendações foram feitas pela JMPS.

* Nota de rodapé: As publicações estão disponíveis na internet em (http://www.who.int/whopes/quality/en/).

PRIMEIRA PARTE ESPECIFICAÇÕES

***Bacillus thuringiensis subespécie israelensis* cepa AM65-52**

Bacillus thuringiensis subespécie israelensis cepa AM65-52

PÁGINA

INFORMAÇÕES 6

Bacillus thuringiensis subespécie israelensis cepa AM65-52 GRÂNULOS DISPERSÍVEIS EM ÁGUA (OUTUBRO DE 2012) 7

Bacillus thuringiensis subespécie israelensis cepa AM65-52 GRÂNULOS (OUTUBRO DE 2012) 20

ESPECIFICAÇÕES DA OMS PARA PESTICIDAS USADOS NA SAÚDE PÚBLICA

***Bacillus thuringiensis subespécie israelensis* cepa AM65-52**

INFORMAÇÕES

Nome científico

Bacillus thuringiensis subespécie israelensis cepa AM65-52

Abreviações

Bt: todas as subespécies de *Bacillus thuringiensis.*

Bti: todas as cepas de *acillus thuringiensis subespécie israelensis* (sorotipo dos flagelos: H-14).

Bti AM65-52: a cepa à qual o código 770 da CIPAC se aplica.

Número CIPAC

770

Testes de identidade

(i) Exame microscópico: bacilos gram-positivos; presença de esporos e inclusões cristalinas parasporais.

(ii) Análise SDS-PAGE do perfil de peso molecular dos cristais de proteína endotoxina.

(iii) Análise de agarose-GE do perfil de plasmídeo.

Uma metodologia alternativa de identidade específica de cepa pode ser utilizada:

Genomotipagem.

Cepas bacterianas podem ser caracterizadas por comparação de seu DNA genômico a uma série de fragmentos de DNA genômico originados de uma mistura de diferentes cepas da mesma espécie. Informações básicas sobre o potencial da tecnologia e sua resolução são fornecidas nas referências a seguir (Salama et al. 2000, Leavis et al. 2007, Vlaminckx et al. 2007). Esta tecnologia de hibridação atual tem permitido o ensaio de milhares de sequências de ácidos nucleicos em uma única reação em um substrato

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

sólido. Um sistema tão massivamente paralelo oferece a oportunidade de aplicações de diagnóstico para a identificação de cepas por meio de um processo comparativo.

Definição do ingrediente ativo

Uma mistura de cristais de proteína de endotoxina livre produzidos por Bti AM65-52 e os esporos e células portadoras.

Medição da atividade do ingrediente ativo

Resultados do bioensaio com larvas de 4º ínstar de *Aedes aegypti* (cepa Bora Bora), expressados como unidades tóxicas internacionais (U.T.I.)/mg de produto, relativos a um material de referência Bti. Observação: o único padrão de referência atualmente disponível é Valent BioSciences Corp. cepa AM65-52, lote nº 82-691-W5, que possui biopotência de 7992 U.T.I./mg.

ESPECIFICAÇÕES DA OMS PARA PESTICIDAS USADOS NA SAÚDE PÚBLICA

Bacillus thuringiensis subespécie israelensis*, cepa AM65-52, *GRÂNULOS DISPERSÍVEIS EM ÁGUA

Especificação OMS 770/WG (Outubro de 2012)

A presente especificação, que é a PRIMEIRA PARTE desta publicação, é baseada em uma avaliação de dados apresentados pelo fabricante, cujo nome está listado nos relatórios de avaliação (770/2006, 770/2011). *Ela deve ser aplicável aos produtos relevantes de tal fabricante, mas não representa um endosso de tais produtos, nem uma garantia de que eles estão em conformidade com a especificação. A especificação pode não ser adequada para produtos de outros fabricantes. Os relatórios de avaliação (*770/2006, 770/2011*), como a SEGUNDA PARTE, formam parte integral desta publicação.*

1 Descrição (Observação 1)

O material deve consistir de uma mistura homogênea de *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis,* cepa AM65-52 (Observações 2 e 3), juntamente com cargas e quaisquer outros adjuvantes necessários. Ele deve estar na forma de pequenos grânulos castanho claros (Observação 4), destinados para aplicação por spray após a desintegração e dispersão na água, ou para aplicação direta nos habitats das larvas de mosquito, incluindo recipientes de armazenamento de água. A formulação deve ser seca, de fluxo livre, e livre de matéria estranha visível e caroços.

2 Ingrediente ativo (Observação 1)

2.1 Identidade

O ingrediente ativo deve estar em conformidade com os testes de identidade descritos na Observação 5.

2.2. ***Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis*, cepa AM65-52, teor** (Observação 6)

A atividade biológica (biopotência) de *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis,* cepa AM65-52 não deve ser menor do que 2700 unidades tóxicas internacionais/mg, quando determinado pelo método descrito na Observação 6.

3 Impurezas relevantes (Observações 1 e 7)

3.1 Água (MT 30.5, CIPAC Handbook J, p.120, 2000) Máximo: 50 g/kg.

4 Contaminantes bacterianos (Observação 1)

4.1 *Staphylococcus aureus* (Observação 8)

Staphylococcus aureus não deve ser detectado quando testado pelo método descrito na Observação 8.

4.2 Espécies de *Salmonella* (Observação 9)

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

Espécies de *Salmonella* não devem ser detectadas quando testado pelo método descrito na Observação 9.

4.3 *Pseudomonas aeruginosa* (Observação 10)

Pseudomonas aeruginosa não deve ser detectado quando testado pelo método descrito na Observação 10.

4.4 *Escherichia coli* (Observação 11)

Escherichia coli não deve exceder 100 unidades formadoras de colônia (UFC)/g de WG quando testado pelo método descrito na Observação 11.

5 Propriedades físicas (Observação 1)

5.1 Faixa de pH (MT 75.3, CIPAC Handbook J, p.131, 2000) faixa de pH: 5,6 a 6,0.

5.2 Espuma persistente (CIPAC MT 47.2, CIPAC Handbook F, p.152, 1995) Nenhuma espuma mensurável, imediatamente (Observação 12).

5.3 Teste de peneiramento a úmido (MT 185, CIPAC Handbook K, p.149, 2003)

Não mais do que 2,2% da formulação deve ser retida no teste de peneiramento a 75µm.

5.4 Grau de dispersão (MT 174, CIPAC Handbook F, p.435, 1995) (Observação 13)

Um mínimo de 90% de *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis,* cepa AM65-52, o conteúdo que ficar abaixo de 2,2 deve estar em suspensão após 5 min em Água Padrão D CIPAC a 30 ± 2ºC.

5.5 Capacidade de suspensão (MT 184, CIPAC Handbook F, p.142, 2003) (Observação 13)

Um mínimo de 90% de *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis,* cepa AM65-52, o conteúdo que ficar abaixo de 2,2 deve estar em suspensão após 30 min em Água Padrão D CIPAC a 30 ± 2ºC.

5.6 Capacidade de umedecimento (MT 53.3, CIPAC Handbook F, p.164, 1995)

A formulação deve estar completamente molhada em 5 segundos, sem turbilhão.

5.7 Pulverulência (MT 171, CIPAC Handbook F, p.425, 1995) (Observação 14) Quase livre de pó.

6 Estabilidade no armazenamento

6.1 Estabilidade em temperaturas elevadas (MT 46.3, CIPAC Handbook J, p.128, 2000) (Observação 15)

Após o armazenamento por 14 dias a 54 ± 2ºC, a média determinada do teor de ingrediente ativo não deve ser menor que 84%, em relação à média determinada encontrada antes do armazenamento (Observação 16), e a formulação deve continuar em conformidade com as cláusulas para:

- faixa de pH (5.1);
- teste de peneiramento a úmido (5.3);
- grau de dispersão (5.4);
- capacidade de suspensão (5.5);
- pulverulência (5.7).

Observação 1

Uma amostra consistindo de, pelo menos, dois sacos lacrados (ou as menores unidades de embalagem) deve ser coletada de cada lote para teste. Antes do teste, sacos lacrados não devem ser abertos e devem ser mantidos longe da incidência direta de luz solar e de outras fontes de calor. O material a ser testado quanto a contaminantes bacterianos

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

(cláusulas 4.1 - 4.5) deve ser coletado de um saco recentemente aberto em condições assépticas.

Observação 2

Ao contrário da maioria das especificações da OMS quanto a formulações, uma especificação para o ingrediente ativo de grau técnico correspondente não é uma referência cruzada nesse caso, porque o WG é produzido em um processo integrado no qual o ingrediente ativo não é isolado.

Observação 3

O ingrediente ativo, Bti cepa A65-52, é definido como uma mistura de cristais de proteína de endotoxina livre e as células e esporos Bti portadores desses cristais de endotoxina.

Observação 4

Os grânulos possuem odor de mofo.

Observação 5

Identificação de Bti cepa AM65-52

A identificação é baseada nos testes a seguir.

(i) Exame microscópico das células bacterianas após coloração de Gram (bastonetes Gram positivos) e de esporos e proteínas cristalinas aderentes sem coloração de Gram.

(ii) Análise SDS-PAGE do perfil de peso molecular das proteínas cristalinas endotoxina Bti.

(iii) Eletroforese em gel de agarose do DNA plasmídico para as endotoxinas.

No teste (i), a coloração de Gram é um teste bacteriológico utilizado universalmente e não é descrito abaixo. *Bacillus thuringiensis* é observado como bacilos Gram positivos no teste (i), mas esse resultado identifica apenas o amplo grupo de bactérias que inclui Bt. Observação microscópica de esporos e cristais aderentes (irregularmente redondos) apoia a identificação como Bt, mas não de forma definitiva. Os testes (ii) e (iii) identificam a cepa Bti como AM65-52. A identidade pode ser estabelecida por meio tanto do teste (ii) quanto do teste (iii) em combinação com o teste (i), mas, em casos de dúvida, todos os testes devem ser conduzidos.

Antígenos flagelares (H-14) também podem ser utilizados para identificar a presença de Bti, caso antissoros adequados bem caracterizados se tornem disponíveis, mas é importante observar que tais antissoros não identificariam a cepa.

Teste de identidade (ii), perfil de peso molecular dos cristais de proteína endotoxina Bti cepa A65-52.

Princípio

Endotoxinas de Bti cepa AM65-52 ocorrem como inclusões irregularmente redondas, desenvolvidas durante esporulação. Os cristais contêm 4 proteínas principais[1,2], designadas como Cry4Aa, Cry4Ba, Cry11Aa e Cyt1Aa.

Os cristais são extraídos da formulação por centrifugação e lavagem. As proteínas dos cristais são dissolvidas e desnaturadas (perdendo suas estruturas secundária e terciária) e os pesos moleculares são determinados pelo método de eletroforese em gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), com base no método de Laemmli *et al.*[3], conforme modificado por toxinas Bt por Brussock & Carrier[4].

Proteínas padrão tratadas de forma semelhante também são separadas no gel, para fornecer calibradores de peso molecular. Após a coloração do gel e a descoloração para

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

remover o fundo, 3 importantes bandas de proteínas devem ser aparentes, de 135 kDa (Cry4Aa, Cry4Ba), 70 kDa (Cry11Aa) e 28 kDa (Cyt1Aa).

[1] Höfte, H. e Whiteley, H.R. (1989) *Insecticidal crystal proteins of Bacillus thuringiensis* [Proteínas de cristais inseticidas de *Bacillus thuringiensis*]. Microbiological Reviews **53**: 242-255.

[2] Crickmore *et al.* (1998) *Revision of the nomenclature for the Bacillus thuringiensis pesticidal crystal proteins* [Revisão da nomenclatura para os cristais de proteína pesticida de *Bacillus thuringiensis*]. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **62:** 807-813.

[3] Laemmli, U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [Clivagem de proteínas estruturais durante a montagem da cabeça do bacteriófago T4]. *Nature* **227** (5259): 680-685.

[4] Brussock, S.M. e T.C. Carrier (1990) *Use of sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoresis to quantify Bacillus thuringiensis δ-endotoxins* [Uso de dodecil sulfato de sódio - eletroforese em gel de poliacrilamida para quantificar *Bacillus thuringiensis* δ-endotoxinas]. Capítulo em: Química analítica de *Bacillus thuringiensis. ACS Symposium Series.* (Hickle, L.A. e W.L. Fitch. eds.) 78-87.

Equipamentos e materiais

Sistema de eletroforese em gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sódio de Laemmli (SDS-PAGE); resolução de géis de 10% de acrilamida ou um gradiente linear de cerca de 5-20% é adequada.

Banho em água fervente (100°C).

Micro centrífuga (Eppendorf Microfuge, ou equivalente), produzindo 8000 g.

Padrão de calibragem de peso molecular. Contendo proteínas na faixa de 14 kDa (lisozima) a 200 kDa (miosina). Proteínas de peso molecular intermediário que podem ser incluídas são ß-galactosidase (116 kDa), fosforilase B (97 kDa), albumina sérica bovina (66 kDa), glutamato desidrogenase (55 kDa), ovalbumina (45 kDa), anidrase carbônica (31 kDa), inibidor de tripsina (21 kDa) e mioglobina (17 kDa). Exemplos de kits de calibração comercialmente disponíveis são Mark 12 unstained standard (Invitrogen Cat.# LC5677) ou Broad range SDS-PAGE standard (BioRad Cat.# 161-0317), mas qualquer equivalente adequado pode ser usado. O padrão de calibração deve ser preparado em um tampão de amostra 2X Laemmli.

Solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), 5 mM em água, pH8.

Cloreto de sódio / solução EDTA, NaCl/EDTA, 1 M/5 mM em água, pH 8. *Solução de hidróxido de sódio,* 0,1 M em água.

Tampão 2X Laemmli, 125 mM tris-HCl (pH 6,8), dodecilsulfato de sódio (SDS) 4%, ß-mercaptoetanol 0,2%, glicerina 50%, azul de bromofenol (marcador de rastreamento) em água. Ditiotreitol (0,2 M) pode ser usado no lugar de ß-mercaptoetanol.

Solução de azul de Coomassie, Azul Brilhante de Coomassie R 0,2% em água contendo 50% de metanol e 10% de ácido acético glacial (ou utilizar um sistema de coloração baseada em Coomassie comercialmente disponível).

Metanol/ácido acético, água contendo 25% de metanol e 10% de ácido acético glacial (ou utilizar um sistema de coloração baseada em Coomassie comercialmente disponível).

Água deionizada. Micropipeta.

Método

i. Pese aproximadamente 10 mg de WG no tubo da micro centrífuga. Adicione a solução NaCl/EDTA e disperse o produto. Centrifugue a > 8000 g até que os

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

sólidos suspensos formem um sedimento (normalmente 5 min a 14000 g). Descarte o sobrenadante.

ii. Lave o sedimento duas vezes em 5 mM de EDTA, pH 8,0, centrifugue como descrito acima e descarte o sobrenadante todas as vezes.

iii. Solubilize os cristais de endotoxina no sedimento resuspendendo-os em solução de NaOH 100 µl por 30 min a 37°C.

iv. Centrifugue a suspensão, conforme descrito acima, para remover materiais insolúveis. Colete o sobrenadante e descarte o sedimento.

v. Adicione o tampão 2X Laemmli 100 µl ao sobrenadante, misture e imediatamente aqueça a mistura a 100°C por 5 min.

vi. Resfrie e centrifugue a mistura por 5 min a ≥ 8000 g para remover materiais insolúveis. Colete o sobrenadante e descarte o sedimento.

vii. Carregue um pequeno volume (aproximadamente 10-20 µl) do sobrenadante no gel SDS-PAGE. Também carregue o gel com uma quantidade adequada de padrão de calibração de peso molecular em tampão 2X Laemmli. Realize a eletroforese de acordo com as instruções do fabricante do equipamento de gel.

viii. Core o gel com solução azul de Coomassie, para visualizar as proteínas, descore com metanol/ácido acético até que o fundo esteja transparente.

ix. Observe as posições das principais bandas distintas na amostra em relação ao padrão de calibração do peso molecular. Espera-se que as endotoxinas Bti da cepa AM65-52 produzam bandas em posições correspondentes a aproximadamente 135, 70 e 28 kDa.

Teste de identidade (iii), eletroforese em gel de agarose do DNA plasmídico.

Princípio

Os esporos Bti são separados da formulação, cultivados em caldo Luria, depois lisados e centrifugados para remover insolúveis. Após a precipitação plasmídica com etanol em baixa temperatura e a centrifugação, as proteínas residuais e o RNA são removidos com proteinase e RNases, respectivamente. O DNA plasmídico é separado por eletroforese em gel de agarose e visualizado por meio de fluorescência com brometo de etídio sob luz UV. Nessas condições, a cepa plasmídica Bti AM65-52 produz bandas de DNA visíveis correspondentes a aproximadamente 3,3, 4,2, 4,9, 10,6, 68 e 75 MDa, sendo que a última contém os genes da toxina Bti. Os componentes 68 e 75 MDa geralmente aparecerão como uma banda acima da camada de esfregaço cromossômico. Outros plasmídeos que se sabe da presença são as bandas 105 e 135 MDa, que são muito grandes para isolar facilmente.

Equipamentos e materiais

Incubador, 37°C.

Banho de água, 68°C.

Banho de água no agitador, 28°C.

Refrigerador, 4 ± 2°C.

Refrigerador, -18 ± 2°C.

Gelo, picado.

Centrífuga de bancada, tendo tubos de 50 ml, para operar a 4000 g.

Micro centrífuga refrigerada (Eppendorf Microfuge, ou equivalente), para operar a 14000 g.

Misturador Vortex.

Secador a vácuo, Savant Speedvac ou equivalente.

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

Caldo Luria, Sigma-Aldrich L3522 ou equivalente, reconstituído de acordo com as instruções do fabricante e esterilizado em autoclave.

Água, duplamente destilada.

Ácido clorídrico, concentrado.

Ácido acético, glacial.

Solução tampão Tris, 1 M. Dissolva 121,1 g da base tris em cerca de 800 ml de água, ajuste ao pH 7,6 com HCl concentrado (cerca de 60 ml) e complete com água até atingir 1 litro.

Solução de cloreto de sódio, 5 M. Dissolva 292,2 g de NaCl em água, e complete até atingir 1 litro.

Solução EDTA, 0,5 M em água, ajustada ao pH 8,0.

Solução de dodecilsulfato de sódio (SDS), grau de eletroforese, 10% em água. Dissolva 100 g de SDS em cerca de 900 ml de água (aquecendo a 68°C para ajudar na dissolução), ajuste ao pH 7,2 com algumas gotas de HCl concentrado e complete com água até atingir 1 litro.

Solução tampão TES. Dilua uma mistura de 3 ml de tampão tris, 1 ml da solução EDTA e 1 ml da solução NaCl (conforme descrito acima) em 100 ml com água.

Meio de sacarose. Dilua 12,50 g de sacarose junto com 1 ml da solução NaCl e 2,5 ml da solução tris em 50 ml com água.

Solução SDS-NaCl. Dilua uma mistura de 2 ml da solução SDS e 1,4 ml da solução NaCl em 10 ml com água.

Solução de acetato de sódio. Dissolva 40,81 g de acetato de sódio $3H_2O$ em cerca de 80 ml de água, ajuste ao pH 5,6 com ácido acético glacial e complete com água até atingir 100 ml.

Solução tampão Tris-borato. Dissolva 108 g da base tris, 55 g de ácido bórico e 5 ml da solução EDTA em cerca de 800 ml de água, ajuste ao pH 8,3 e dilua a 1 litro (10X o tampão de tris-borato). Dilua 1+9 com água para produzir 1X o tampão de tris-borato.

Solução de lisozima. 50 mg/ml em meio de sacarose.

Etanol, 100% e 70% de solução aquosa, resfriada a 4°C.

Solução RNase T1, 100 U/ml.

Solução RNase A, 10 mg/ml.

Solução Proteinase, 10 mg/ml.

Géis agarose. Prepare 0,8% dos géis em solução tampão 1X tris-borato. Um gel de 20 cm de comprimento, 10 cm de largura e 3-4 mm de profundidade requer cerca de 100 ml de solução agarose. Utilize 1,5% de ágar para end plugs, se necessário. Quando o gel se solidificar, cubra minimamente sua superfície com a solução tampão tris-borato (aproximadamente 40 ml).

Papel filme PVDC ("película aderente"), Saran™ ou equivalente.

Aparelho de eletroforese, adequado para executar géis de agarose. BioRad; GE (anteriormente Pharmacia), ou equivalente.

Marcador de peso molecular, 1kB ladder (Invitrogen), Pulse marker (Sigma) ou equivalente.

Corante de rastreamento para eletroforese, contendo azul de bromofenol 0,25% e Ficoll 400 15%.

Solução de brometo de etídio, 5 µg/ml em água (observação: utilizar luvas de borracha nitrílica para manusear a solução e os géis tratados).

Lâmpada UV, para visualização das bandas de DNA.

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

Método

i. Transfira, de forma asséptica, cerca de 1 mg de Bti WG para um frasco estéril contendo 2 ml de meio/água, e misture completamente.

ii. Mantendo as condições assépticas, inocule 100 µl da mistura celular Bti suspensa em 20 ml de caldo Luria e incube, com agitação, a 28°C por cerca de 16 horas.

iii. Sedimente as células em uma centrífuga de bancada à velocidade máxima por 15 minutos, e descarte o sobrenadante.

iv. Adicione 1 ml de solução tampão TES, vortex para ressuspender o grânulo, transfira a suspensão para um tubo da micro centrífuga e sedimente as células por 2 minutos a 5°C. Descarte o sobrenadante.

v. Adicione 180 µl de meio de sacarose e vortex para ressuspender o sedimento. Adicione 20 µl de solução de lisozima, misture manualmente e devagar (não use um misturador vortex) e incube a 37°C por 60 minutos.

vi. Adicione 48 µl da solução de NaCl, 12 µl da solução EDTA e 260 µl da solução SDS-NaCl, e lentamente inverta o tubo, duas vezes. Incube a mistura por 10 minutos a 68°C, depois coloque o tubo em gelo por 60 minutos. Centrifugue a 4°C por 15 minutos para sedimentar os detritos da parede celular e transfira 300 µl do sobrenadante para outro tubo de micro centrífuga.

vii Adicione 33 µl de solução de acetato de sódio e 670 µl de etanol 100% frio, vortex para misturar e coloque no freezer por ≥ 1 hora. Centrifugue a 5°C por 15 minutos, e descarte o sobrenadante.

viii Adicione aproximadamente 200 µl de etanol 70% frio, vortex para misturar, depois centrifugue a 5°C por 10 minutos, e descarte o sobrenadante. Seque o sedimento em um secador a vácuo por cerca de 30 minutos. Adicione 200 µl da solução tampão TES ao sedimento seco, vortex para ressuspendê-lo, deixe a mistura descansar em temperatura ambiente por 15 minutos e depois vortex novamente para misturar.

ix. Adicione 2 µl de solução RNase e 2 µl de solução RNase A, misture e incube a mistura a 37°C por 30 minutos. Adicione 20 µl de solução proteinase e incube a mistura a 37°C por 1 hora.

x. Misture 15 µl da solução amostra com 3 µl do corante rastreador e transfira tudo para um poço no gel de agarose. Inclua uma quantidade adequada do marcador de peso molecular, de acordo com as instruções do fabricante, em um poço adjacente.

xi. Submeta o gel a 50V por cerca de 15 minutos. Desligue a tensão antes de remover o excesso da solução tampão da superfície do gel, depois cubra-o com o filme PVDC. Ajuste a voltagem para liberar uma corrente de 20 mA e deixe ligada no gel ao longo da noite (16-17 horas). Inverta a polaridade da voltagem por 30 segundos imediatamente antes de desligá-la e retirá-la do gel.

xi. Core o gel com a solução de brometo de etídio por 20 minutos, com agitação suave. Descore o gel em solução tampão 1X tris-borato por 20 minutos, trocando a solução tampão 3 vezes durante esse tempo. Coloque o gel sob uma lâmpada UV e fotografe-o. A cepa AM65-52 Bti de plasmídeos deve produzir 5 bandas fluorescentes abaixo do esfregaço cromossômico e, dependendo da qualidade de separação do gel, 1 banda pode aparecer acima do esfregaço cromossômico. Devido a possíveis mudanças de conformação de formas super enroladas à relaxadas do plasmídeo durante a preparação, os tamanhos reais dos plasmídeos são melhor determinadas por comparação no mesmo gel com uma cepa Bt que tenha tamanhos conhecidos de plasmídeos, tais como os padrões de referência Bti HD-1 ou HD-2.

Observação 6

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

Determinação de biopotência

Princípio

A biopotência é medida em unidades tóxicas internacionais (U.T.I.) por mg do produto. A biopotência é testada por comparação da mortalidade das larvas de mosquito produzida pelo produto em teste com a mortalidade produzida por um pó seco de pulverização de referência* de *Bacillus thuringiensis* subesp. *israelensis*, utilizando larvas de quarto ínstar de *Aedes aegypti* (cepa Bora Bora). A toxicidade (U.T.I./mg) dos produtos testados é determinada de acordo com a seguinte fórmula:

U.T.I./mg de produto testado =

$$\frac{\text{padrão de referência U.T.I./mg x padrão } CL_{50} \text{ (mg/l)}}{CL_{50} \text{ (mg/l) de produto testado}}$$

Equipamentos e materiais

Homogeneizador ou agitador top-drive.

Banho de gelo (recipiente de gelo picado).

Balança analítica (precisão de ± 0,1 mg).

Balança analítica de prato único (precisão de ± 10 mg), preferivelmente com facilidade de tara.

Água deionizada

Agente umidificante (por exemplo, Tween 80)

Béqueres de 200 ml, vidro de borosilicato ou plástico

Frasco de 500 ml, de boca larga, com tampa de rosca, de vidro transparente

Frasco de 100 ml, com tampa de rosca, de vidro transparente

Micropipeta

Pipeta de 10 ml

Tubos de 12 ml, de plástico com rolhas ou tampas.

Copos de 200 ml, de plástico ou papel revestido de cera

Método

(i) Produção de larvas de teste

Larvas L4 representam a sensibilidade total da população alvo e são fáceis de manipular. É muito importante utilizar uma população homogênea de quarto ínstar, que é obtida depois de cinco dias da eclosão dos ovos, por meio de métodos padrão de criação.

Ovos de *Aedes aegypti* são colocados em um copo forrado com papel de filtro e um terço cheio de água deionizada. O papel é secado em temperatura ambiente e mantido por vários meses armazenado em um saco plástico selado em temperatura ambiente. Quando as larvas são necessárias, o papel é imerso na água sem cloro. Para sincronizar a eclosão, adicione alimento de larva na água 24 horas antes de adicionar os ovos. O crescimento bacteriano vai desoxigenar a água e isso provoca a eclosão dos ovos. Isso normalmente induz os primeiros ínstars a eclodir dentro de 12 horas. Depois, essas larvas são transferidas para um recipiente (25 x 25 x 10 cm) contendo 2 litros de água sem cloro, para obter uma população de 500 a 700 larvas por recipiente. O alimento para as larvas deve ser flocos de proteína, como utilizado para peixes de aquário, ou pó de biscoito de gato, e os recipientes devem ser mantidos a 25 ± 2°C. É importante que a quantidade de alimento seja pouca para evitar forte crescimento bacteriano que mate as larvas. O ideal é alimentar várias vezes, com 1 ou 2 dias de intervalo, e observar diariamente. Caso a água se torne turva, substitua toda a água, filtrando as larvas e transferindo-as para um recipiente limpo com água limpa e alimento. De cinco a sete

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

dias depois, uma população homogênea de quarto ínstar (5 dias de vida e de 4 a 5 mm de comprimento) deve ser obtida.

* O pó de referência originalmente recomendado pela OMS para esse fim, IPS82 cepa 1884 do Instituto Pasteur, não está mais disponível. Até que um pó de referência internacional substituto seja disponibilizado, um padrão de referência da cepa AM65-52 pode ser obtido da Valent Biosciences Corp. para fins de teste da conformidade do produto com a especificação. Esse padrão de referência da cepa AM65-52 foi calibrado contra IPS82 cepa 1884 e possui uma biopotência de 7992 U.T.I./mg.

(ii) Preparação das suspensões de padrão de referência para calibração do bioensaio

Antes de preparar a suspensão, verifique que a agitação/mistura do agente umidificante/mistura de água, descrito no parágrafo a seguir, não cause espuma. Caso cause, dilua (por exemplo, 1:10) o agente umidificante antes de usar.

Pese precisamente 50 mg (com aproximação de 0,1 mg) do pó do padrão de referência e coloque-o em um béquer de 200 ml com 100 ml de água deionizada (ele pode ser transferido diretamente ao frasco de 500 ml caso a boca seja grande o bastante para receber a cabeça do agitador/misturador). Deixe a mistura descansar por 30 minutos e adicione uma gota (cerca de 0,2 mg) do agente umidificante. Coloque o béquer no banho de gelo e agite ou misture a mistura por 2 minutos. Verifique visualmente se ainda existem partículas grandes e repita a agitação/mistura caso ainda existam. Pese ou tare o frasco de 500 ml e transfira a suspensão/solução para ele, lavando completa e cuidadosamente o béquer e o agitador/misturador. Adicione mais água deionizada para fazer com que o peso do conteúdo chegue a 500 g (500 ml), tampe o frasco e agite vigorosamente para misturar o conteúdo. Confirme, por análise microscópica de uma pequena alíquota, se agregados de esporos e cristais ainda persistem. Caso haja, o conteúdo deve passar por mais agitação/mistura no banho de gelo. Essa suspensão/solução primária contém 1 mg/10 ml e deve ser agitada vigorosamente logo antes de remover alíquotas.

Transfira 10 ml de alíquotas da suspensão/solução primária para tubos limpos de 12 ml que sejam tampados/fechados imediatamente. Caso esteja transferindo várias alíquotas, tampe e agite a suspensão/solução primária em intervalos de não mais que 3 minutos, porque os esporos e cristais assentam rapidamente na água. As alíquotas podem ser armazenadas por um mês a 4°C e por dois anos em um freezer a -18°C. Cada um contém 1 mg do pó padrão.

Para preparar uma "solução mãe", pese ou tare um frasco de 100 ml. Transfira uma das alíquotas de 10 ml para um frasco de 100 ml, lavando-o cuidadosamente, pelo menos duas vezes, com água deionizada, e complete até atingir 100 g. Agite vigorosamente a mistura (ou use o misturador) para produzir uma suspensão homogênea. Alíquotas congeladas devem ser totalmente homogeneizadas antes de usar, porque as partículas se aglomeram durante o congelamento. A "solução mãe" contém 10 mg/l.

A partir da "solução mãe", diluições subsequentes são preparadas diretamente em copos de plástico cheios (por pesagem) com 150 ml de água deionizada. Para cada copo, 25 larvas L4 de *Aedes aegypti* são adicionadas primeiro por meio de uma pipeta de Pasteur, antes da adição das suspensões bacterianas. O volume de água adicionado com as larvas é removido do copo (por pesagem) e descartado, para evitar mudança do volume de líquido no copo. Por meio de micropipetas, 600 µl, 450 µl, 300 µl, 150 µl, 120 µl e 75 µl de "solução mãe" são adicionados a copos separados e as soluções misturadas para produzir concentrações finais de 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, 0,008 e 0,005 mg/l, respectivamente, do pó de padrão de referência. Quatro copos replicados são utilizados

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

para cada concentração e um para controle, que contém apenas 150 ml de água deionizada.

(iii) Preparação de suspensões do produto a ser testado

Um homogenato inicial é feito da mesma maneira descrita acima para o pó de padrão de referência, com a diferença que as determinações de replicatas devem ser feitas sobre diluições preparadas por pesagem de porções de teste separadas do produto. Ou seja, quatro replicatas da suspensão/solução primária devem ser preparadas. Copos e larvas são preparados conforme descrito acima e diluições comparáveis são preparadas para o padrão de referência.

(iv) Determinação da toxicidade

Nenhum alimento é adicionado para as larvas de *Aedes*. Todos os testes devem ser conduzidos a 28 ± 2°C, com um ciclo de 12 horas de luz, 12 horas de escuro. Para evitar efeitos adversos de evaporação da água em baixa umidade, a umidade relativa deve ser mantida em 50 ± 15%, se possível.

Cada série de bioensaio deve, de preferência, envolver 6 concentrações x 4 replicatas x 25 larvas para o padrão de referência e o desconhecido, e 100 larvas para o controle. O objetivo é identificar a faixa de concentrações que causam de 5 a 95% de mortalidade (porque 100 larvas são usadas). Dados que apresentam 0 ou 100% de mortalidade são ignorados para o cálculo de CL_{50}. Para preparar uma curva de dose-resposta válida, apenas concentrações que apresentam mortalidade entre 95 e 5% devem ser usadas. Dentro dessa faixa, um mínimo de duas concentrações deve estar acima da CL_{50} e duas abaixo, para garantir a validade do valor de CL_{50} (a sensibilidade da colônia do inseto pode exigir que uma série um pouco diferente de 6 diluições seja usada). A mortalidade é determinada em 24 e 48 horas, por meio de contagem das larvas vivas remanescentes. Caso ocorra pupação, as pupas devem ser removidas e seus números excluídos dos cálculos. Caso mais de 5% das larvas entre na fase de pupa, o teste é invalidado, porque as larvas não ingerem 24 horas antes da pupação e muitas larvas podem ter sobrevivido simplesmente porque eram muito velhas. Por causa da rápida ação de morte de Bti, normalmente não há diferença entre a mortalidade de 24 e 48 horas. Nesse caso, a contagem de 48 horas confirma a leitura de 24 horas e proporciona uma verificação sobre a possível influência de fatores que não façam parte dos componentes de Bti.

Caso a mortalidade no controle exceda 5%, as mortalidades dos grupos tratados devem ser corrigidas de acordo com a fórmula de Abbott [Abbott, W. S., (1925). *A method for computing the effectiveness of an insecticide* [Um método para computar a eficácia de um inseticida]. Journal of Economic Entomology, **18**, 265-267]:

$$\text{porcentagem (\%) controle} = \frac{X - Y}{X \times 100}$$

onde: X = % de sobrevivência no controle não tratado; Y = % de sobrevivência na amostra tratada.

Testes com uma mortalidade no controle maior que 10%, ou com alguma pupação maior que 5%, devem ser descartados. Linhas de regressão mortalidade-concentração podem ser desenhadas em papel gausso-logarítmico, mas isso é bastante subjetivo. É preferível utilizar um programa estatístico, tal como SAS, que incorpora Análise Log-Probit. Com tal programa tão estatístico, a fórmula de Abbott não é necessária porque a correção é automaticamente realizada pelo programa. A toxicidade é determinada pela estimativa e comparação da CL_{50} do produto testado com as preparações do padrão de referência, por meio da fórmula descrita acima. A toxicidade é definida pela contagem em 24 horas após o início do teste.

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

Para mais precisão, os bioensaios devem ser repetidos em, pelo menos, três dias diferentes, concomitantemente com o ensaio do padrão de referência, e o desvio padrão dos meios calculados. Uma série de testes é válida caso um desvio padrão relativo (DPR) seja < 25%.

Observação 7

Demonstrou-se que beta-exotoxina (um nucleotídeo termoestável composto de adenina, glicose e ácido Allaric) não ocorre nos produtos do fabricante identificado no relatório de avaliação 770/2006, e é improvável que sua presença ocorra naturalmente. No entanto, beta-exotoxina pode ser gerada por algumas cepas de *Bacillus thuringiensis* e, caso detectável pelo método de Bond *et al.**, deve ser designada como impureza relevante e uma cláusula seria necessária para limitar sua concentração.

Observação 8

Enumeração e Identificação de *Staphylococcus aureus*

Equipamentos e materiais

Balança, com tara, capaz de pesar 10 g de ±1%

Incubadora, controlada dentro da faixa de 35-37°C.

Solução tampão de fosfato estéril, pH 7,2 (USP ou equivalente)

Placas de ágar estéreis e com meio pronto Baird-Parker (Difco 0768-01-1, BBL 11023, ou equivalente), *suplementadas com enriquecimento de gema de ovo telurito (Difco 0779-73-1* ou equivalente).

Plasma de mamífero (plasma coagulase de coelho, liofilizado, BBL 40658 ou equivalente).

Frascos estéreis, tampados, com, no mínimo, 100 ml

Tubos de ensaio estéreis

Procedimento

Observe as precauções de assepsia e manuseio durante todo o processo.

Abra o saco que contém a formulação e transfira 10 g para 90 ml de solução tampão de fosfato estéril. Misture bem para desintegrar e dispersar a formulação.

Em duplicata, transfira 1 ml da suspensão (0,1 g de WG) para a superfície das placas de ágar. Espalhe o inóculo uniformemente sobre a superfície e deixe que afunde na superfície do ágar. Cubra, inverta e incube as placas por 21-26 horas antes de examiná-las.

* Bond R.P.M., *et al. The thermostable exotoxin of Bacillus thuringiensis* [A exotoxina termoestável de *Bacillus thuringiensis*]. In: Burges H. D. and Hussey N. W., eds. *Microbial control of insects and mites* [Controle microbiano de insetos e ácaros]. Academic Press, London, 1971.

S. aureus forma colônias pretas, brilhantes e convexas cercadas por uma área clara no ágar Baird-Parker. Caso o resultado seja negativo para *Staphylococcus*, incube as placas por mais 24 horas e leia novamente. Resultados aparentemente positivos devem ser submetidos a testes confirmatórios.

Testes confirmatórios

i. Realize marcação gram em uma colônia tipicamente suspeita de cada placa. *S. aureus* são cocos gram positivos que ocorrem em aglomerados. Caso as células não se encaixem nessa descrição, *S. aureus* pode ser considerado ausente da amostra. No entanto, caso as células se encaixem na descrição, realize o teste a seguir.

ii. Teste de coagulase. Utilizando uma alça de inoculação estéril, transfira uma porção da colônia tipicamente suspeita para um tubo de ensaio estéril com 0,5 ml

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

de plasma de mamífero, e agite para misturar. Conduza o teste em paralelo com controles positivo e negativo. Coloque os tubos na incubadora, examine-os após 3 horas e depois em intervalos adequados por um total de 24 horas. Os controles positivo e negativo devem mostrar coagulação e não coagulação, respectivamente. Caso o teste da colônia suspeita não mostre coagulação visível, pode-se concluir que não há coagulase positiva de *S. aureus.*

Observação 9

Detecção de espécies de *Salmonella*

Equipamentos e materiais

Balança, com tara, capaz de pesar 10 g de ±1%

Incubadora, controlada dentro da faixa de 35-37°C.

Caldo de lactose, Difco 0004, BBL 11333, ou equivalente

Caldo de selenito-cistina, tubos de ensaio de 10 ml com tampa (Difco 0687, BBL 11606, ou equivalente)

Placa de ágar verde brilhante com meio pronto, (Difco 0014, BBL 11073, ou equivalente)

Placa de ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) com meio pronto, estéril, (Difco 0788, BBL 11838, ou equivalente)

Placa de ágar sulfito de bismuto com meio pronto, estéril (Difco 0073, BBL 11031, ou equivalente).

Tubo inclinado pré-preparado, estéril, contendo aproximadamente 10 ml de ágar tríplice açúcar ferro (Difco 0265, BBL 11749, ou equivalente).

Solução verde brilhante, USP (1:1000 solução aquosa preparada e armazenada a 2-8°C)

Solução de iodo-iodeto, USP (Dissolva 5 de iodeto de potássio e 6 g de iodo em 20 ml de água purificada USP; armazene a 2-8°C)

Caldo fluido tetrationato, (Difco 0104, BBL 11705, ou equivalente comercialmente preparado), 20 ml em tubos de ensaio tampados. Para cada tubo de 10 ml de caldo tetrationato, adicione 0,1 ml da solução verde brilhante preparada; misture, depois adicione 0,2 ml da solução iodo-iodeto preparada. Misture.

Procedimento

Observe as precauções de assepsia e manuseio durante todo o processo.

Abra o saco que contém a formulação e transfira 10 g para 90 ml de caldo de lactose estéril. Misture bem para desintegrar e dispersar a formulação e incube por 24 horas.

Transfira porções de 1 ml (0,1 g de WG) da cultura incubada para dois tubos separados que contenham, respectivamente, 10 ml de caldo selenito cistina e 10 ml de caldo fluido tetrationato contendo solução iodo-iodeto e solução verde brilhante. Misture e incube os tubos inoculados por 18-24 horas.

Utilizando uma alça de inoculação, passe porções dos tubos de tetrationato e selenito cistina incubados em placas separadas de ágar verde brilhante, ágar XLD e ágar sulfito de bismuto. Cubra, inverta e incube as placas por 18-24 horas, ou por até 48 horas no caso de ágar sulfito de bismuto, antes de examiná-las.

As colônias de Salmonella exibem as características a seguir.

Ágar verde brilhante - colônias pequenas, transparentes e sem cor, ou cor-de-rosa/branco opaco, mais tarde se cercando com uma área cor-de-rosa a vermelha.

Ágar XLD - colônias vermelhas, com ou sem centros pretos. Ágar sulfito de bismuto - colônias pretas ou verde escuras.

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

Caso nenhuma das colônias se encaixe nessas descrições, a amostra atende à exigência de estar livre de espécies de *Salmonella*. Resultados aparentemente positivos devem ser submetidos a testes confirmatórios.

Testes confirmatórios

i. Caso colônias que se encaixam em qualquer uma das descrições acima sejam encontradas, realize uma coloração de Gram no material retirado delas. As espécies de *Salmonella* são bacilos Gram negativos. Caso as células se encaixem na descrição, prossiga para o teste confirmatório ii, abaixo.

ii. Com uma alça ou agulha de inoculação, transfira material das colônias suspeitas para um tubo inclinado contendo ágar tríplice açúcar ferro (TSI). Primeiro, perfure a superfície com a agulha/alça, depois esfregue a inclinação. Incube o(s) tubo(s) por 12-24 horas. As espécies de *Salmonella* normalmente fermentam a glicose com a produção de ácido, e algumas espécies também produzem gás e H_2S (Tabela 1).

O tubo, caso positivo para *Salmonella*, apresentará uma inclinação alcalina (vermelha) e um fundo ácido (amarelo), com ou sem o escurecimento do fundo devido à produção de H_2S. Caso a presença de *Salmonella* seja indicada, prossiga para a identificação do organismo por meio de aplicação do sistema de identificação automática microbiana Vitek/Vitek2, outro sistema de identificação aprovado, ou por meio da realização de reações bioquímicas ou de cultura adequadas.

Tabela 1. Reações observadas no ágar TSI

Reação	Explicação
Fundo ácido (amarelo), inclinação alcalina (vermelha)	Glicose fermentada
Ácido em todo o meio, fundo e inclinação amarelos	Lactose ou sacarose, ou ambas, fermentadas
Bolha de gás no fundo, meio às vezes dividido	Cultura aerogênica
Escurecimento no fundo	Sulfeto de hidrogênio produzido
Fundo e inclinação alcalinos (meio totalmente vermelho)	Nenhum dos três açúcares fermentado

Observação 10

Enumeração e Identificação de *Pseudomonas aeruginosa*

Equipamentos e materiais

Balança, com tara, capaz de pesar 10 g de ± 1%

Incubadora, controlada dentro da faixa de 35-37°C.

Papeis de filtro.

Solução tampão de fosfato estéril, pH 7,2 (USP ou equivalente)

Placas de ágar cetrimide com meio pronto, estéreis, (ágar BBL 11554-pseudosel, ou equivalente).

Dicloridrato de N,N-dimetil-p-fenilenodiamina.

Reagente oxidase, (DrySlide® BBL 231746, ou equivalente).

Procedimento

Observe as precauções de assepsia e manuseio durante todo o processo.

Abra o saco que contém a formulação e transfira 10 g para 90 ml de solução tampão de fosfato estéril USP. Misture bem para desintegrar e dispersar a formulação.

Em duplicata, transfira porções de 1 ml (0,1 g de WG) da suspensão para a superfície das placas de ágar cetrimide. Espalhe o inóculo uniformemente sobre a superfície das

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

placas, cubra e deixe que afunde na superfície. Inverta e incube as placas por 48-72 horas antes de examiná-las.

P. aeruginosa forma colônias características azuladas e esverdeadas. Resultados aparentemente positivos devem ser submetidos a testes confirmatórios.

Testes confirmatórios

i. Realize a coloração de Gram. Células de *P. aeruginosa* são bacilos Gram negativos delgados.

ii. Realize um teste de oxidase.

Ou

Utilizando uma alça de fio de platina ou uma espátula de madeira estéril, transfira uma porção da colônia suspeita para uma área de reação oxidase DrySlide®. Espalhe o inóculo na área de reação em um tamanho de 3 a 4 mm.

Examine a área de reação depois de 20 segundos. Reação positiva: os organismos produzem uma coloração roxa ou escura dentro de 20 segundos. Reação negativa: os organismos não produzem nenhuma mudança de cor, ou mudam para cinza claro, dentro de 20 segundos.

Ou

Utilize papel de filtro impregnado com Dicloridrato de N,N-dimetil-p-fenilenodiamina ou umedecido com uma gota de reagente oxidase. Concomitantemente, realize o teste em uma cultura de referência *P. aeruginosa,* como controle positivo. Caso uma coloração roxa não se desenvolva dentro de 30 segundos, o resultado é negativo.

iii. Caso seja necessário, confirmação adicional pode ser obtida por meio de testes bioquímicos ou de cultura adequados para a identificação de bacilos oxidase-positivos, Gram-negativos e não fermentadores.

Observação 11

Enumeração de *Escherichia coli* (método de contagem em placas "pour plate")

Equipamentos e materiais

Balança, com tara, capaz de pesar 10 g de ±1%.

Incubadora, controlada dentro da faixa de 35-37°C.

Fonte de luz UV de comprimento de onda longo.

Solução tampão de fosfato estéril, pH 7,2 (USP ou equivalente).

Ágar vermelho violeta bile com 4-metil-umbelifenil-β-D-glicuronídeo (ágar VRB com MUG) (Difco 229100 ou equivalente).

Placas de Petri estéreis.

Método

Observe as precauções de assepsia e manuseio durante todo o processo.

Abra o saco que contém a formulação e transfira 10 g para 90 ml de solução tampão de fosfato estéril. Misture bem para desintegrar e dispersar a formulação. Caso necessário, dilua ainda mais com solução tampão de fosfato estéril, misturando completamente, para que 1 ml renda não mais que 300 colônias.

Em duplicata, transfira 1 ml da suspensão (0,1 g de WG, caso a suspensão não tenha sido diluída ainda mais) para cada uma de duas placas estéreis. Adicione a cada placa aproximadamente 15-20 ml de ágar VRB com MUG, que tenha sido resfriado até cerca de 45°C.

Cubra as placas de Petri, misture a suspensão com o ágar por meio de rotação das placas em uma direção e depois na direção oposta. Deixe que o conteúdo solidifique em temperatura ambiente, inverta as placas e incube a 35-37°C por 22-26 horas.

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

Examine as placas para verificar crescimento e, utilizando a fonte de luz UV, para verificar colônias fluorescentes. Cepas típicas de *E. coli* (colônias vermelhas cercadas por precipitado de bile) exibem um halo fluorescente azulado (MUG-positivo). Resultados aparentemente positivos devem ser submetidos a testes confirmatórios. Caso seja confirmada como *E. coli*, conte o número de colônias MUG-positivas e calcule a contagem média para as duas placas. Não conte as colônias de coliformes que não são *E. coli,* que também podem produzir colônias vermelhas com precipitado de bile, mas são MUG-negativas.

Testes confirmatórios

i. Colônias que são presumivelmente de *E. coli* devem ser confirmadas por meio do sistema de identificação automática microbiana Vitek ou por meio de realização de outros testes bioquímicos ou de cultura adequados para confirmar a presença de *E. coli.*

Observação 12

O teste deve ser conduzido com a formulação a 0,67 g/ml em água, o que excede a taxa mais alta de uso recomendada pelo fabricante. O teste deve ser conduzido em água padrão D CIPAC.

Observação 13

Bioensaio é o único método totalmente confiável para medir o teor (biopotência) de ingrediente ativo ainda em suspensão. No entanto, métodos mais simples, tais como determinação gravimétrica, podem ser utilizados rotineiramente, contanto que tais métodos tenham demonstrado apresentar resultados iguais àqueles do método de bioensaio. Em caso de contestação, o bioensaio deve ser o método árbitro.

Observação 14

A medição de pulverulência deve ser realizada sobre a amostra "conforme recebida" e, quando praticável, a amostra deve ser coletada do recipiente recentemente aberto, porque mudanças no teor de água das amostras podem influenciar de maneira significativa a pulverulência.

O método óptico, MT 171.2, normalmente mostra boa correlação com o método gravimétrico, MT 171.1, e pode, portanto, ser usado como alternativa quando o equipamento estiver disponível. Quando a correlação estiver em dúvida, ela pode ser verificada com a formulação a ser testada. Em caso de contestação, o método gravimétrico deve ser usado.

Observação 15

Testes para verificar contaminantes bacterianos (cláusulas 4.1-4.4) não são especificados após o armazenamento do produto por 14 dias a 54°C, porque é improvável que esse regime revele a extensão da proliferação potencial que pode ocorrer em condições normais de armazenamento.

Observação 16

Amostras representando "antes" e "depois" do teste de estabilidade no armazenamento devem ser testadas concomitantemente após o teste, a fim de minimizar a variação que ocorre em ensaios da biopotência. Materiais para a amostra do teste de "antes" devem ser armazenados em recipientes lacrados a 2-8°C, pela duração do teste, antes do bioensaio. Caso o recipiente esteja armazenado para esse fim em um refrigerador ou freezer, ele deve ser equilibrado a temperatura ambiente e secado externamente antes de aberto, para evitar contaminar os grânulos com umidade atmosférica, o que poderia afetar os resultados dos testes, tais como biopotência e pulverulência.

ESPECIFICAÇÕES DA OMS PARA PESTICIDAS USADOS NA SAÚDE PÚBLICA

***Bacillus thuringiensis subespécie israelensis,* cepa AM65-52, GRÂNULOS**

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

Especificação OMS 770/GR (outubro de 2012)

A presente especificação, que é a PRIMEIRA PARTE desta publicação, é baseada em uma avaliação de dados apresentados pelo fabricante, cujo nome está listado no relatório de avaliação (770/2011). *Ela deve ser aplicável aos produtos relevantes de tal fabricante, mas não representa um endosso de tais produtos, nem uma garantia de que eles estão em conformidade com a especificação. A especificação pode não ser adequada para produtos de outros fabricantes. O relatório de avaliação (*770/2011*), como a SEGUNDA PARTE, forma parte integral desta publicação.*

1 Descrição (Observação 1)

O material deve consistir de grânulos contendo *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis,* cepa AM65-52 (Observações 2), juntamente com transportadores adequados e quaisquer outros formulantes necessários. Ele deve estar na forma de pequenos grânulos com uma distribuição estreita de partículas (Observação 3), destinados para aplicação direta nos habitats das larvas de mosquito. A formulação deve ser seca, livre de matéria estranha visível e caroços, de fluxo livre, essencialmente isenta de pó e destinada para aplicação manual ou por máquina.

2 Ingrediente ativo (Observação 1)

2.1 Identidade

O ingrediente ativo deve estar em conformidade com os testes de identidade descritos na Observação 4.

2.2 *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis,* cepa AM65-52, teor (Observação 5)

A atividade biológica (biopotência) do *Bacillus thuringiensis ssp. israelensis* cepa AM65-52 não deve ser menor do que 200 unidades tóxicas internacionais/mg, quando determinado pelo método descrito na Observação 5.

3 Impurezas relevantes (Observações 1 e 6)

3.1 Água (MT 30.5, CIPAC Handbook J, p.120, 2000) Máximo: 30 g/kg.

4 Contaminantes bacterianos (Observação 1)

4.1 *Staphylococcus aureus* (Observação 7)

Staphylococcus aureus não deve ser detectado quando testado pelo método descrito na Observação 7.

4.2 Espécies de *Salmonella* (Observação 8)

Espécies de *Salmonella* não devem ser detectadas quando testado pelo método descrito na Observação 8.

4.3 *Pseudomonas aeruginosa* (Observação 9)

Pseudomonas aeruginosa não deve ser detectado quando testado pelo método descrito na Observação 9.

4.4 *Escherichia coli* (Observação 10)

Escherichia coli não deve exceder 100 unidades formadoras de colônia (UFC)/g de GR quando testado pelo método descrito na Observação 10.

5 Propriedades físicas (Observação 1)

5.1 Faixa de pH (MT 75.3, CIPAC Handbook J, p.131, 2000) faixa de pH: 4,5 a 7,0.

5.2 Densidade compactada e volumétrica (MT 186, CIPAC Handbook K, p.151, 2003) Densidade volumétrica: 0,6 a 0,7 g/ml.

Densidade compactada: 0,7 a 0,8 g/ml.

5.3 Faixa de tamanho nominal (MT 170, CIPAC Handbook F, p.420, 1995)

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

Não menos que 900 g/kg da formulação deve estar dentro da faixa de tamanho entre 841 e 2000 µm.

5.4 Pulverulência (MT 171, CIPAC Handbook F, p.425, 1995) (Observação 11) Quase livre de pó.

5.5 Resistência ao atrito (MT 178, CIPAC Handbook H, p.304, 1998) Mínimo de 97% de resistência ao atrito.

6 Estabilidade no armazenamento

6.1 Estabilidade em temperaturas elevadas (MT 46.3, CIPAC Handbook J, p.128, 2000) (Observação 12)

Após o armazenamento por 14 dias a 54 ± 2°C, a média determinada de biopotência não deve ser menor que 70%, em relação à média determinada encontrada antes do armazenamento (Observação 13), e a formulação deve continuar em conformidade com as cláusulas para:

- faixa de pH (5.1);
- faixa de tamanho nominal (5.3);
- pulverulência (5.4);
- resistência ao atrito (5.6).

Observação 1

Uma amostra consistindo de, pelo menos, dois sacos lacrados (ou as menores unidades de embalagem) deve ser coletada de cada lote para teste. Antes do teste, sacos lacrados não devem ser abertos e devem ser mantidos longe da incidência direta de luz solar e de outras fontes de calor. O material a ser testado quanto a contaminantes bacterianos (cláusulas 4.1 - 4.4) deve ser coletado de um saco recentemente aberto em condições assépticas.

Observação 2

O ingrediente ativo, Bti cepa A65-52, é definido como uma mistura de cristais de proteína de endotoxina livre e as células e esporos Bti portadores desses cristais de endotoxina.

Observação 3

Os grânulos possuem odor de mofo.

Observação 4

Identificação de Bti cepa AM65-52

A identificação é baseada nos testes a seguir.

(i) Exame microscópico das células bacterianas após coloração de Gram (bastonetes Gram positivos) e de esporos e proteínas cristalinas aderentes sem coloração de Gram.

(ii) Análise SDS-PAGE do perfil de peso molecular das proteínas cristalinas endotoxina Bti.

(iii) Eletroforese em gel de agarose do DNA plasmídico para as endotoxinas.

No teste (i), a coloração de Gram é um teste bacteriológico utilizado universalmente e não é descrito abaixo. *Bacillus thuringiensis* é observado como bacilos Gram positivos no teste (i), mas esse resultado identifica apenas o amplo grupo de bactérias que inclui Bt. Observação microscópica de esporos e cristais aderentes (irregularmente redondos) apoia a identificação como Bt, mas não de forma definitiva. Os testes (ii) e (iii) identificam a cepa Bti como AM65-52. A identidade pode ser estabelecida por meio tanto do teste (ii) quanto do teste (iii) em combinação com o teste (i), mas, em casos de dúvida, todos os testes devem ser conduzidos.

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

Antígenos flagelares (H-14) também podem ser utilizados para identificar a presença de Bti, caso antissoros adequados bem caracterizados se tornem disponíveis, mas é importante observar que tais antissoros não identificariam a cepa.

Teste de identidade (ii), perfil de peso molecular dos cristais de proteína endotoxina Bti cepa A65-52.

Princípio

Endotoxinas de Bti cepa AM65-52 ocorrem como inclusões irregularmente redondas, desenvolvidas durante esporulação. Os cristais contêm 4 proteínas principais[1,2], designadas como Cry4Aa, Cry4Ba, Cry11Aa e Cyt1Aa.

Os cristais são extraídos da formulação por agitação, centrifugação e lavagem. As proteínas dos cristais são dissolvidas e desnaturadas (perdendo suas estruturas secundária e terciária) e os pesos moleculares são determinados pelo método de eletroforese em gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), com base no método de Laemmli *et al.*[3], conforme modificado por toxinas Bt por Brussock & Carrier[4].

Proteínas padrão tratadas de forma semelhante também são separadas no gel, para fornecer calibradores de peso molecular.

Após a coloração do gel e a descoloração para remover o fundo, 3 importantes bandas de proteínas devem ser aparentes, de 135 kDa (Cry4Aa, Cry4Ba), 70 kDa (Cry11Aa) e 28 kDa (Cyt1Aa).

Equipamentos e materiais

Sistema de eletroforese em gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sódio de Laemmli (SDS-PAGE); resolução de géis de 10% de acrilamida ou um gradiente linear de cerca de 5-20% é adequada.

Banho em água fervente (100°C).

Micro centrífuga (Eppendorf Microfuge, ou equivalente), produzindo 8000 g.

Padrão de calibragem de peso molecular. Contendo proteínas na faixa de 14 kDa (lisozima) a 200 kDa (miosina). Proteínas de peso molecular intermediário que podem ser incluídas são ß-galactosidase (116 kDa), fosforilase B (97 kDa), albumina sérica bovina (66 kDa), glutamato desidrogenase (55 kDa), ovalbumina (45 kDa), anidrase carbônica (31 kDa), inibidor de tripsina (21 kDa) e mioglobina (17 kDa). Exemplos de kits de calibração comercialmente disponíveis são Mark 12 unstained standard (Invitrogen Cat.# LC5677) ou Broad range SDS-PAGE standard (BioRad Cat.# 161-0317), mas qualquer equivalente adequado pode ser usado. O padrão de calibração deve ser preparado em um tampão de amostra 2X Laemmli.

[1] Höfte, H. e Whiteley, H.R. (1989) *Insecticidal crystal proteins of Bacillus thuringiensis* [Proteínas de cristais inseticidas de *Bacillus thuringiensis*]. Microbiological Reviews **53**: 242-255.

[2] Crickmore *et al.* (1998) *Revision of the nomenclature for the Bacillus thuringiensis pesticidal crystal proteins* [Revisão da nomenclatura para os cristais de proteína pesticida de *Bacillus thuringiensis*]. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **62:** 807-813.

[3] Laemmli, U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [Clivagem de proteínas estruturais durante a montagem da cabeça do bacteriófago T4].

Nature **227** (5259): 680-685.

[4] Brussock, S.M. e T.C. Carrier (1990) *Use of sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoresis to quantify Bacillus thuringiensis δ-endotoxins* [Uso de dodecil-

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.

sulfato de sódio - eletroforese em gel de poliacrilamida para quantificar *Bacillus thuringiensis* δ-endotoxinas]. Capítulo em: Química analítica de *Bacillus thuringiensis. ACS Symposium Series.* (Hickle, L.A. e W.L. Fitch. eds.) 78-87.

Solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), 5 mM em água, pH8. *Cloreto de sódio / solução EDTA,* NaCl/EDTA, 1 M/5 mM em água, pH 8. *Solução de hidróxido de sódio,* 0,1 M em água.

Solução tampão 2X Laemmli, 125 mM tris-HCl (pH 6,8), dodecilsulfato de sódio (SDS) 4%, ß-mercaptoetanol 0,2%, glicerina 50%, azul de bromofenol (marcador de rastreamento) em água. Ditiotreitol (0,2 M) pode ser usado no lugar de ß-mercaptoetanol.

Solução de azul de Coomassie, Azul Brilhante de Coomassie R 0,2% em água contendo 50% de metanol e 10% de ácido acético glacial (ou utilizar um sistema de coloração baseada em Coomassie comercialmente disponível).

Metanol/ácido acético, água contendo 25% de metanol e 10% de ácido acético glacial (ou utilizar um sistema de coloração baseada em Coomassie comercialmente disponível).

Água deionizada. Micropipeta.

Método

i. Pese aproximadamente 1 g de Bti GR em um tubo de 50 ml com tampa de rosca. Adicione 3 ml de Tween 80 0,2% e agite os grânulos na solução por 30 minutos.

ii. Retire uma alíquota de 200 µl da suspensão, evitando grânulos, e passe para um tubo limpo de micro centrífuga.

iii. Adicione 1 ml da solução NaCl/EDTA e disperse o produto. Centrifugue a > 8000 g até que os sólidos suspensos formem um sedimento (normalmente 5 min a 14000 g). Descarte o sobrenadante.

iv. Lave o sedimento duas vezes em 5 mM de EDTA, pH 8,0, centrifugue como descrito acima e descarte o sobrenadante todas as vezes.

v. Solubilize os cristais de endotoxina no sedimento resuspendendo-os em solução de NaOH 100 µl por 30 min a 37°C.

vi. Centrifugue a suspensão, conforme descrito acima, para remover materiais insolúveis. Colete o sobrenadante e descarte o sedimento.

vii. Adicione o tampão 2X Laemmli 100 µl ao sobrenadante, misture e imediatamente aqueça a mistura a 100°C por 5 min.

viii. Resfrie e centrifugue a mistura por 5 min a ≥ 8000 g para remover materiais insolúveis. Colete o sobrenadante e descarte o sedimento.

ix. Carregue um pequeno volume (aproximadamente 10-20 µl) do sobrenadante no gel SDS-PAGE. Também carregue o gel com uma quantidade adequada de padrão de calibração de peso molecular em tampão 2X Laemmli. Realize a eletroforese de acordo com as instruções do fabricante do equipamento de gel.

x. Core o gel com solução azul de Coomassie, para visualizar as proteínas, descore com metanol/ácido acético até que o fundo esteja transparente.

xi. Observe as posições das principais bandas distintas na amostra em relação ao padrão de calibração do peso molecular. Espera-se que as endotoxinas Bti da cepa AM65-52 produzam bandas em posições correspondentes a aproximadamente 135, 70 e 28 kDa.

Teste de identidade (iii), eletroforese em gel de agarose do DNA plasmídico.

Princípio

Este documento foi assinado digitalmente por Leonardo Pinto Andrade De Abreu.
Para verificar as assinaturas vá ao site https://www.portaldeassinaturas.com.br:443 e utilize o código 58B3-C73F-3D66-1747.