



# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

**Prof. Marco Antonio Stephano**  
**stephano@usp.br**





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## IMUNIDADE

### Imunidade **ATIVA**

Naturalmente Adquirida  
Ex: antígenos naturais (polém)

Artificialmente Adquirida  
Ex: vacinas

### Imunidade **PASSIVA**

Naturalmente Adquirida  
Ex: Colostro

Artificialmente Adquirida  
Ex: Soros (homólogos e Heterólogos)





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS



## TIPOS DE SORO

### 1. Quanto à espécie doadora

#### **Homólogo**

(A espécie doadora e receptora são as mesmas)

#### **Heterólogo**

(A espécie doadora é diferente da espécie receptora)



# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## TIPOS DE SORO

2. Quanto ao grau de imunidade do doador

### **$\gamma$ -globulina**

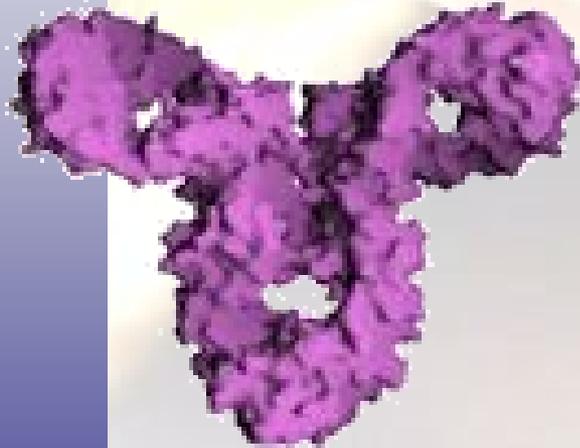
Fração  $\gamma$ -globulinica do soros (rico em anticorpos)

### **Soro convalescente**

(Soro retirado de pessoas que se restabeleceram recentemente da doença)

### **Soro Hiperimune**

(Soro o qual o doador recebeu imunização específica para realizar a doação posterior)





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## TIPOS DE SORO

### 3. Quanto ao número de Anticorpos distintos

#### **Monovalente**

(Estão presentes anticorpos de um único fornecedor de antígeno. Ex: soro antitetânico)

#### **Polivalente**

(Estão presentes anticorpos de mais de um fornecedor de antígeno. Ex: Soro anti botrópico-crotálico)





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## TIPOS DE SORO

### 4. Quanto à purificação

#### **Soros Brutos**

(Soros não purificados)

#### **Soros precipitados por diferença de solubilidade.**

(Soros purificados por sais neutros. Ex: sulfato de amônia, polietileno glicol)

#### **Soros purificados por digestão enzimática.**

(Soros tratados com pepsina ou papaina)

#### **Soros com alto grau de purificação**

(Soros purificados por técnicas de cromatografia (troca iônica, interação hidrofóbica e afinidade)





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## TIPOS DE SORO



### Quanto à apresentação

#### Líquidos

(Geralmente em ampolas e devem ser conservadas a temperatura entre 2°C a 8°C)

#### Liofilizados

(Geralmente em frascos ampolas e podem ser armazenados até 25°C)



# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## TIPOS DE SORO

### 6. Quanto à especificidade

#### **Antitóxicos**

(antidiftérico, antitetânico e antibotulínico, antistafilocócico)

#### **Antibacterianos**

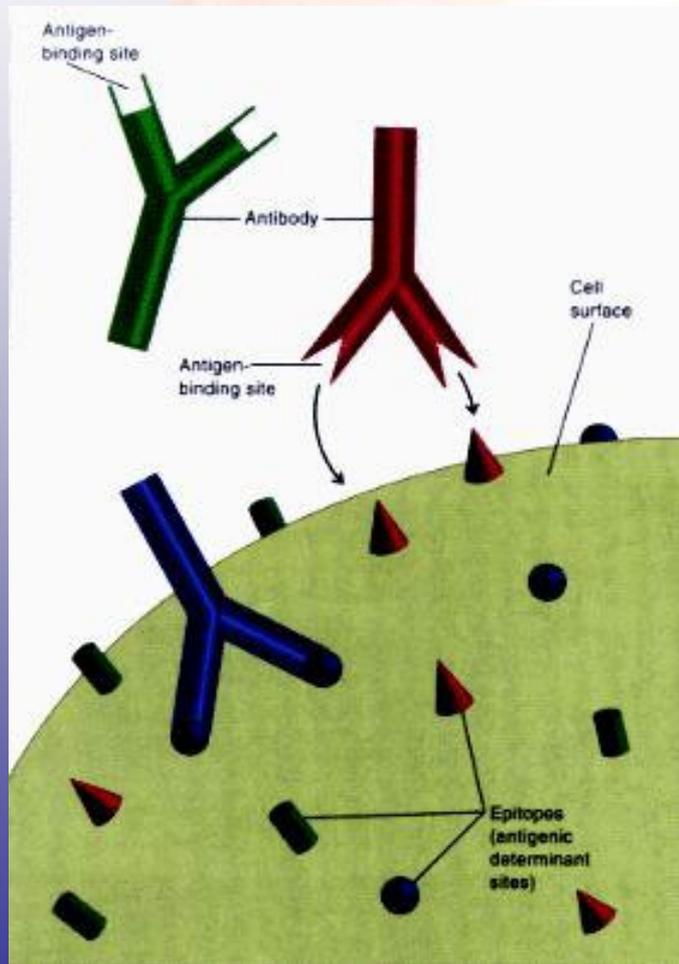
(antimeningocócico, antipneumocócico)

#### **Antivirais**

(anti-rábico e  $\gamma$ -globulina)

#### **Antipeçonhentos**

(antibotrópico, anticrotálico, antiáquético, antielapídico, antilonômico, antiaracnídico, antiescorpiônico)





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## ANTÍGENOS

### Venenos Como Antígenos

Composição

Fisiopatologia

Medidas de Toxicidade

Métodos de Destoxificação

Aldeídos

(Formoldeído e Glutaraldeído)

Aquecimento

Radiação

Purificação





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## ANTÍGENOS

### Vírus Como Antígenos

Composição

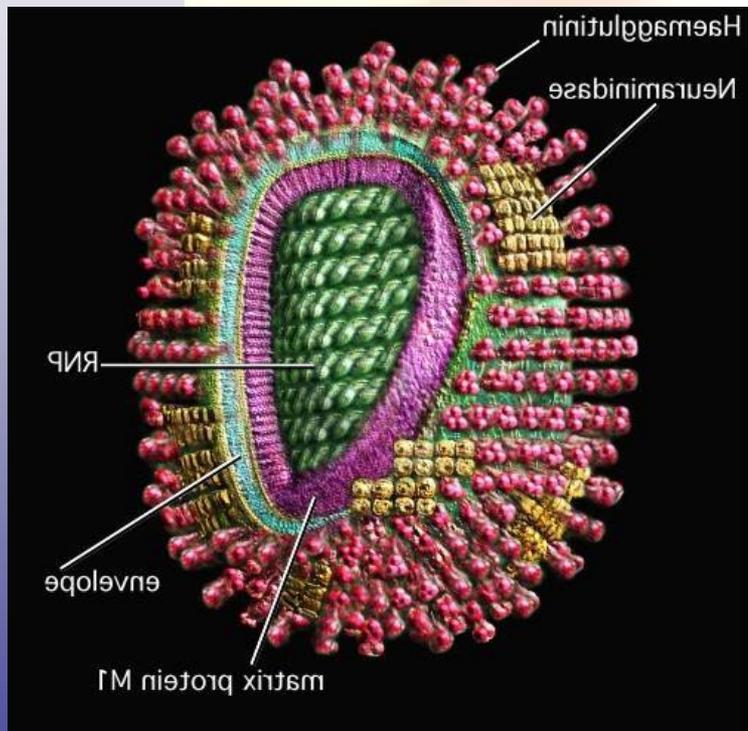
Fisiopatologia

Medidas de Toxicidade

Métodos de Destoxificação

b-propiolactona

BEI –binário de etilenamida





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## ANTÍGENOS

### Toxinas Como Antígenos

Composição

Fisiopatologia

Medidas de Toxicidade

Métodos de Destoxificação

Aldeídos

(Formoldeído e Glutaraldeído)

Aquecimento





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## ANTÍGENOS

### Bactérias Como Antígenos

Composição

Fisiopatologia

Medidas de Toxicidade

Métodos de Destoxificação

Aldeídos

(Formoldeido e Glutaraldeido)

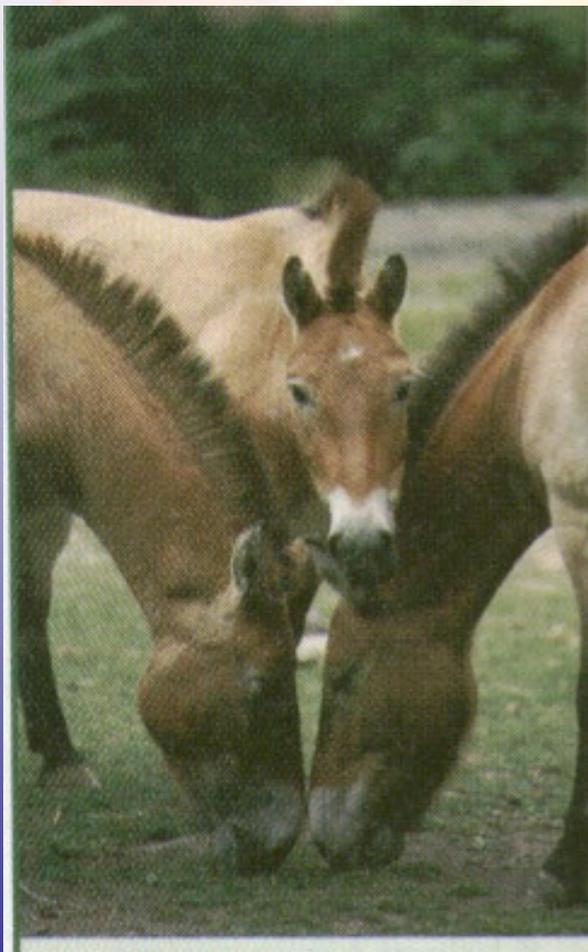
Aquecimento

Envelhecimento





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS



## Imunização

### **Escolha do Animal**

(Equídeos, bovinos, ovinos, caprinos e logomorfos)

### **Adjuvante**

(emulsões e particulados)

### **Esquema de Imunização**

(primário e secundário)

### **Sangria Exploradora**

### **Sangria para obtenção do Plasma**



# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS



## Imunização para Produção de Soros

### Objetivo da Imunização

Produção de Anticorpos

Produção de Células de Memória

Manutenção dos Títulos Soroneutralizantes

### Fatores que influenciam a resposta Imune

Genética e Ambiental

$$VT = VH + VG$$



# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## Imunização para Produção de Soros

### Imunologia dos Equídeos

Células Apresentadora de Antígeno

Células Efetoras da resposta Imune

Células T e Células B

Sistema Complemento

Imunoglobulinas

IgG (IgGa, IgGb, IgGc, IgGT)

IgM, IgA e IgE

$\gamma$  1 Componente (?)





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## Métodos de Fracionamento de Proteínas Plasmáticas

### 1a. Por diferença de Solubilidade

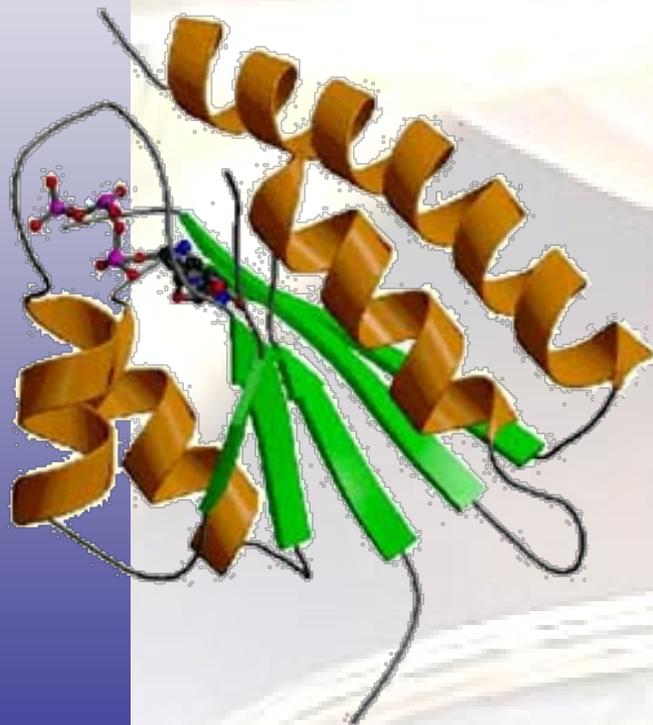
crioprecipitação

precipitação isoelétrica

precipitação de euglobulinas

“salting-out” c/ sais neutros ou aminoácidos

precipitação por polímeros neutros (exclusão)





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## Métodos de Fracionamento de Proteínas Plasmáticas

### 1a. Por diferença de Solubilidade

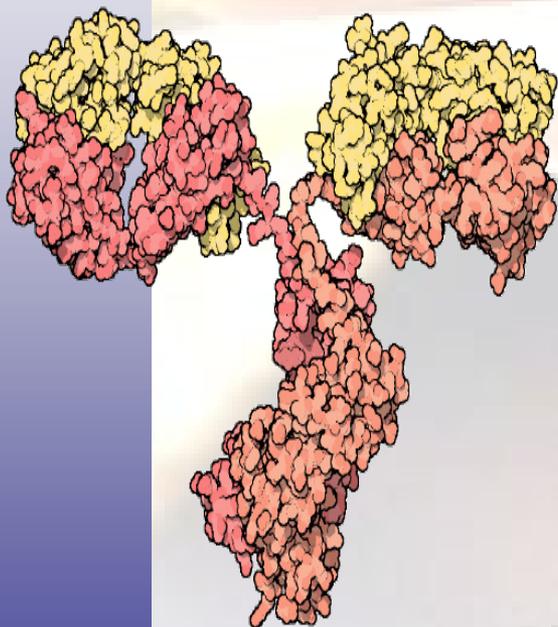
solventes orgânicos - sistema aquoso miscibilidade

partição em sistemas multifásicos

ordenação através de complexos de íons metálicos

íons orgânicos

precipitação aniônica solúvel - Ác. Graxos, TCA.





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## Métodos de Fracionamento de Proteínas Plasmáticas

### 1b. Por diferença de Solubilidade (menos recomendados)

sulfato de amônio

sulfato de sódio

polietileno glicol

ácido caprílico

rivanol (2-ethoxy-6,9-diamino acridine)





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## Métodos de Fracionamento de Proteínas Plasmáticas

### 2. Interação com meio sólido

Adsorção generalizada sobre superfícies

Troca iônica, incluindo interações polieletrólítica

Cromatografia de interação hidrofóbica

Cromatografia de afinidade a um grupo específico

Cromatografia de afinidade bio-específico





# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## Métodos de Fracionamento de Proteínas Plasmáticas

### 2. Interação com meio sólido

gel filtração (cromatografia de gel permeação)

separação por membrana neutra (ultra-filtração)

interação por membrana carregada iônica

interação com membranas absovitivas

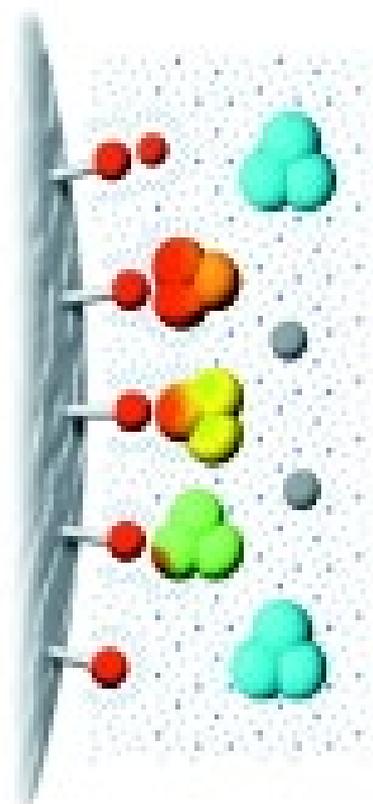




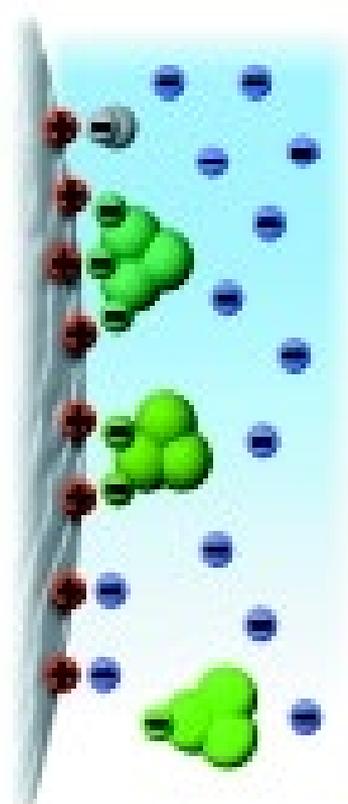
# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS



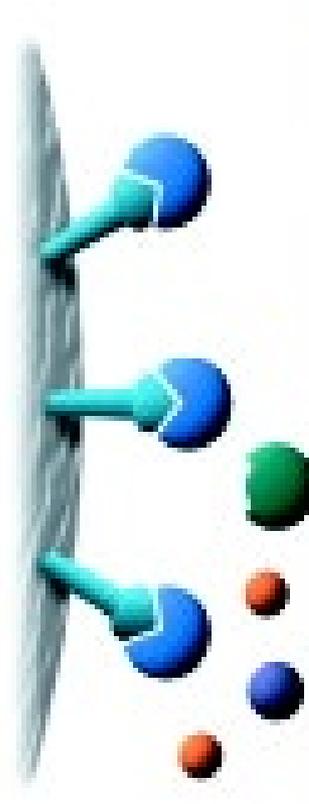
Gel filtration



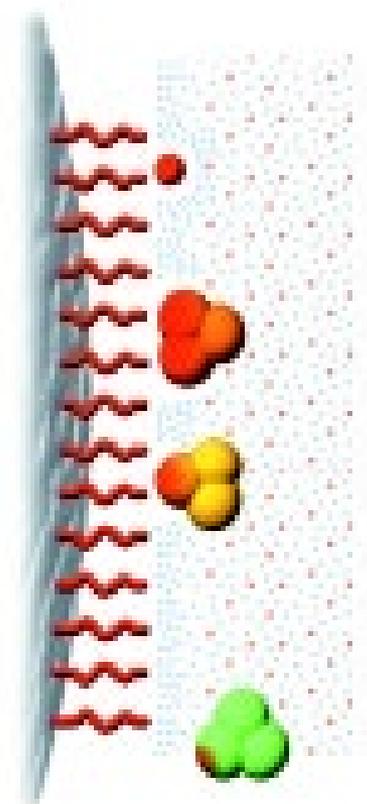
Hydrophobic interaction



Ion exchange



Affinity



Reversed phase



# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## Vantagens da Utilização da Cromatografia na Purificação dos Soros Hiperimunes

### PLASMA ANTICROTÁLICO

Atividade = 0,9 mg/ml	Atividade = 0.88 mg/ml
Volume = 298 Litros	Volume = 305 Litros
Proteína = 89,8mg/ml	Proteína = 87,1 mg/ml
Especificidade = 10,02 $\mu\text{g}/\text{mg}$	Especificidade = 10,10 $\mu\text{g}/\text{mg}$

### SORO ANTICROTÁLICO

Atividade = 3,40 mg/ml	Atividade = 3,03 mg/ml
Volume = 30 Litros	Volume = 31 Litros
Proteína = 61,4 mg/ml	Proteína = 41,59 mg/ml
Especificidade = 55,37 $\mu\text{g}/\text{mg}$	Especificidade = 86,32 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (+ 56%)
Índice de Pureza = 5,53	Índice de Pureza = 8,55 (+ 60%)
Nº de ampolas = 6.710	Nº de ampolas = 6.179 (-8%)
Proteína/ampola = 274.5mg	Proteína/ampola = 208,6mg (-25%)



# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## CONTRIBUIÇÃO DO USO DA CROMATOGRAFIA



**Redução de Lipoproteínas em 95%**

**Redução de Biliverdina 99%**

**Redução de Albumina 80%**

**Redução alfa-macroglobulina 99%**

**Redução de 30% das Proteínas Totais**

**Eliminação de Pirogênio derivados de LPS**

**Perda de 5% da atividade**



# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS

## CONTRIBUIÇÃO DO USO DA CROMATOGRAFIA

### CUSTOS

**Sistema Completo: U\$ 450.000,00**

**10 lotes de 2000 ampolas com pirogênio recuperados pagam o custo.**

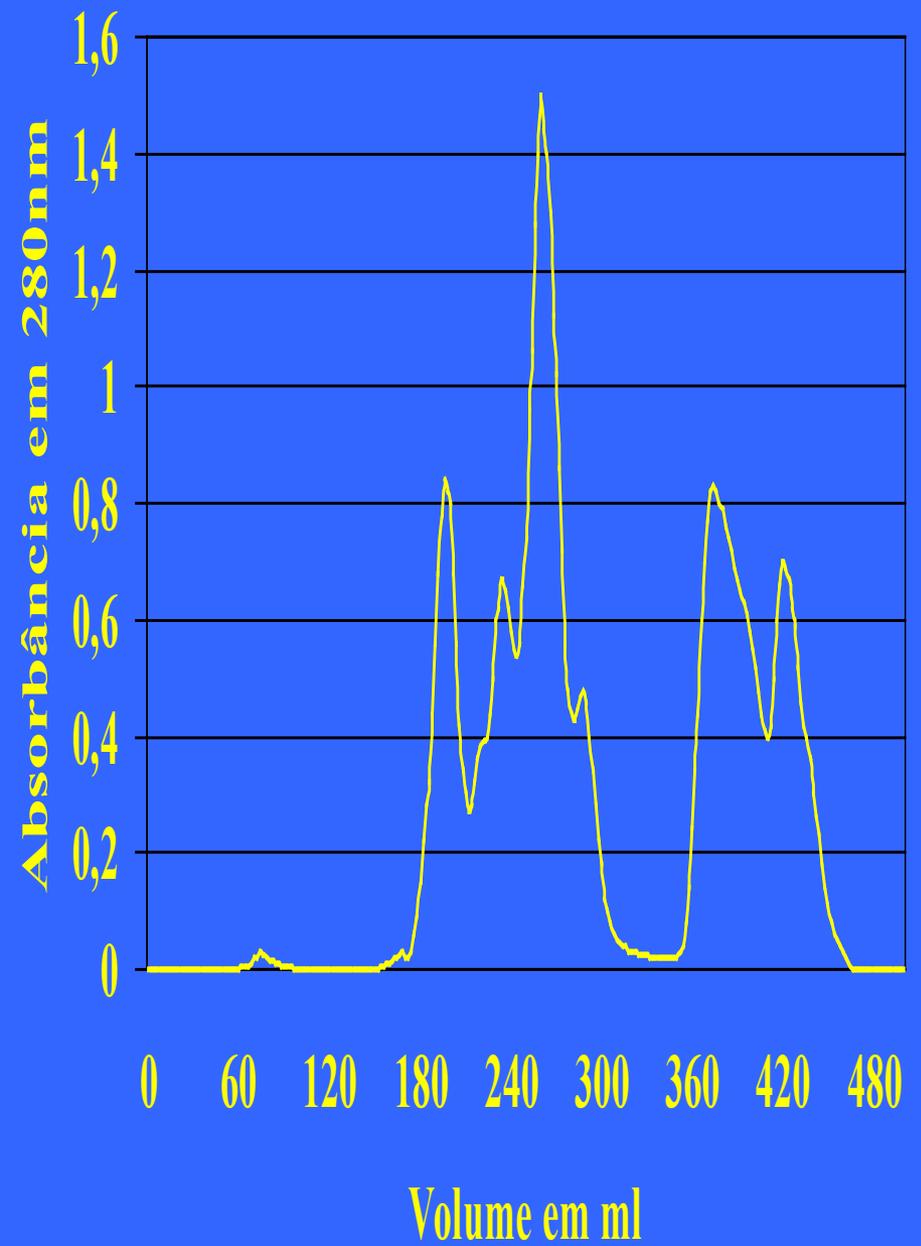
**Eliminação da Filtração clarificante.  
(U\$ 300,00 por filtração)**

**Durabilidade da resina com 40 processos por ano é em média de 5 anos.**





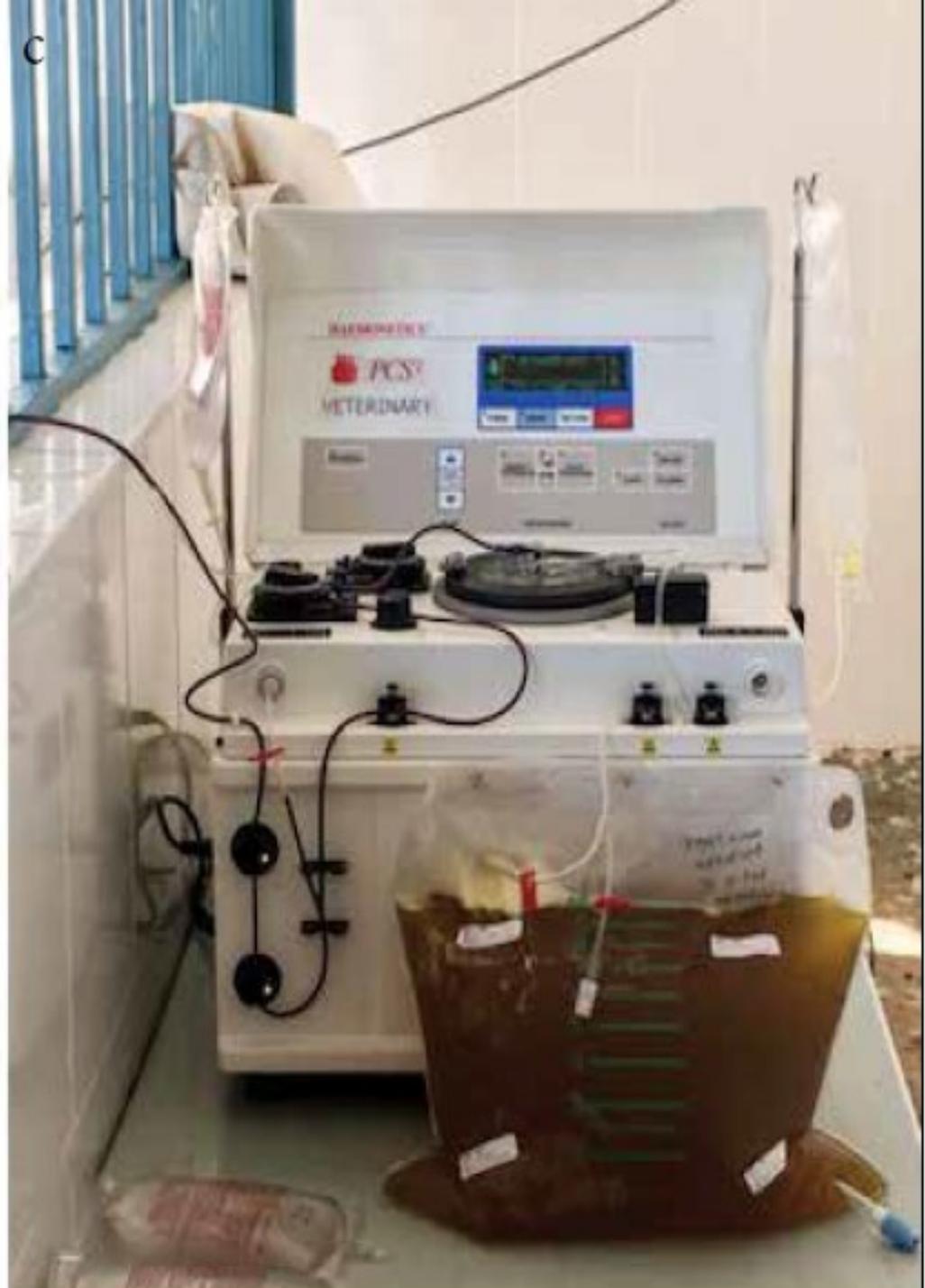














# PRODUÇÃO DE SOROS TERAPÊUTICOS HETERÓLOGOS











