



# **SOROTERAPIA**

**Produção de antivenenos policlonais e monoclonais**

**Guilherme Cesar Martelossi Cebinelli**

- 1. Histórico da produção de soros**
- 2. Definições**
- 3. Produção e aplicação de soros homólogos**
- 4. Produção e aplicação de soros heterólogos**
- 5. Alternativas na produção de soros heterólogos**

**Primeira metade de 1880s  
Imperial Health Office - Berlin**



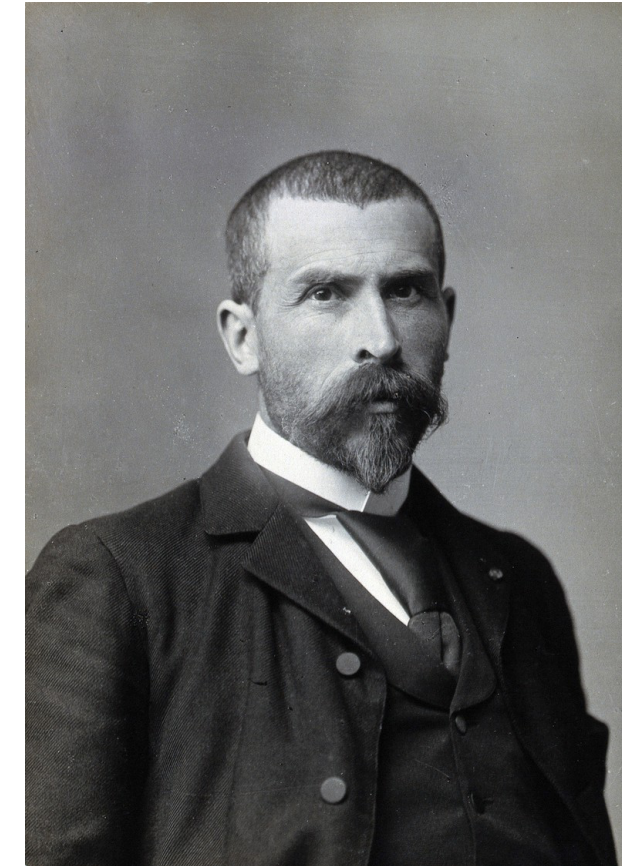
Friedrich Loffler

**Identificação do organismo  
que causava difteria**

*Corynebacterium diphtheriae*

**Os sintomas eram vistos  
em diversas partes do  
corpo em que a bactéria  
não estava presente**

**Instituto Pasteur - Paris**



Pierre Paul Émile Roux



Alexandre Yersin

**Toxinas eram capazes de causar os  
sintomas de difteria**

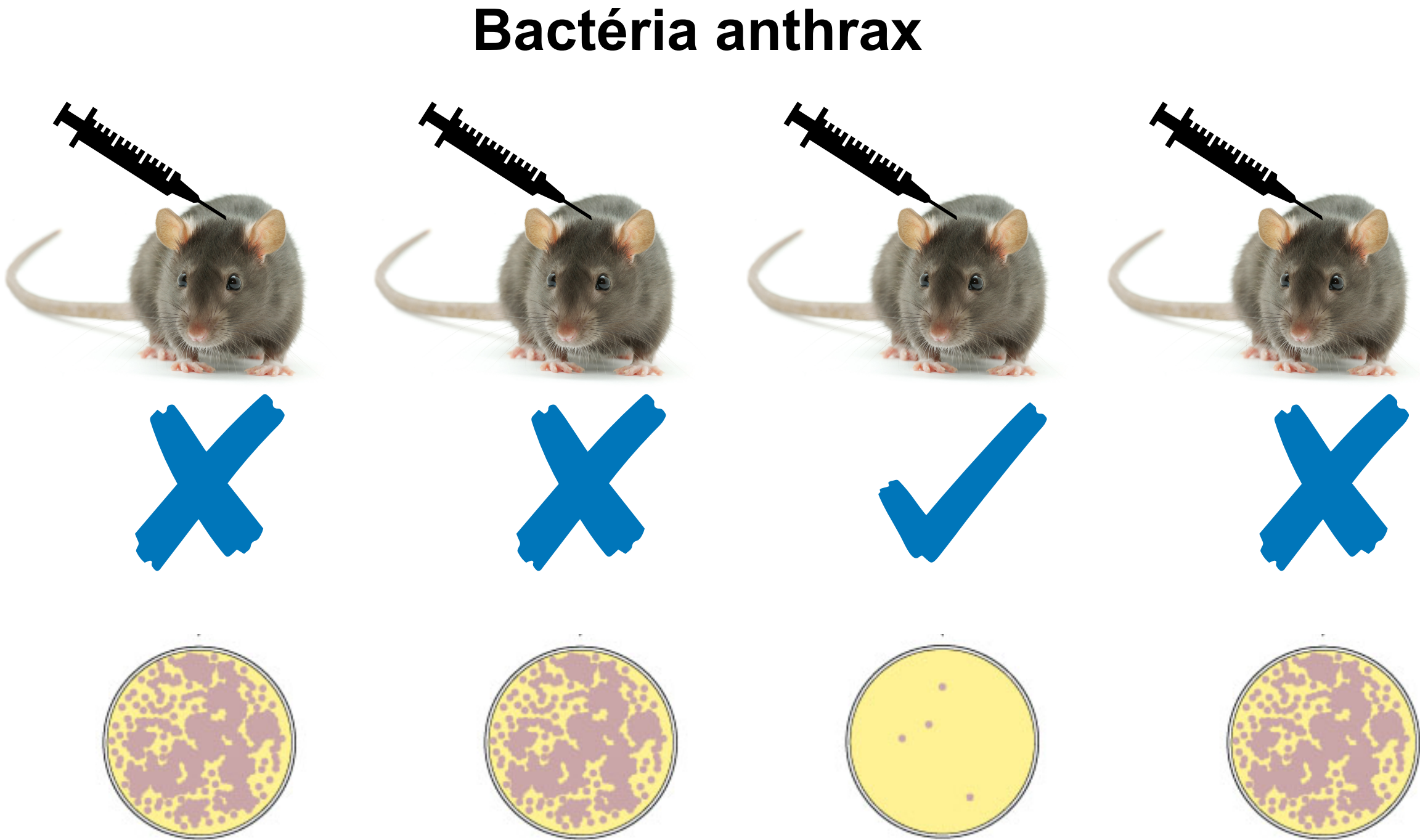
## Instituto de Higiene - Berlin 1890s



Emil von Behring together with his colleagues Wernicke (left) and Frosch (center) in Robert Koch's laboratory in Berlin.

### Analizou as pesquisas de Loeffler e Roux

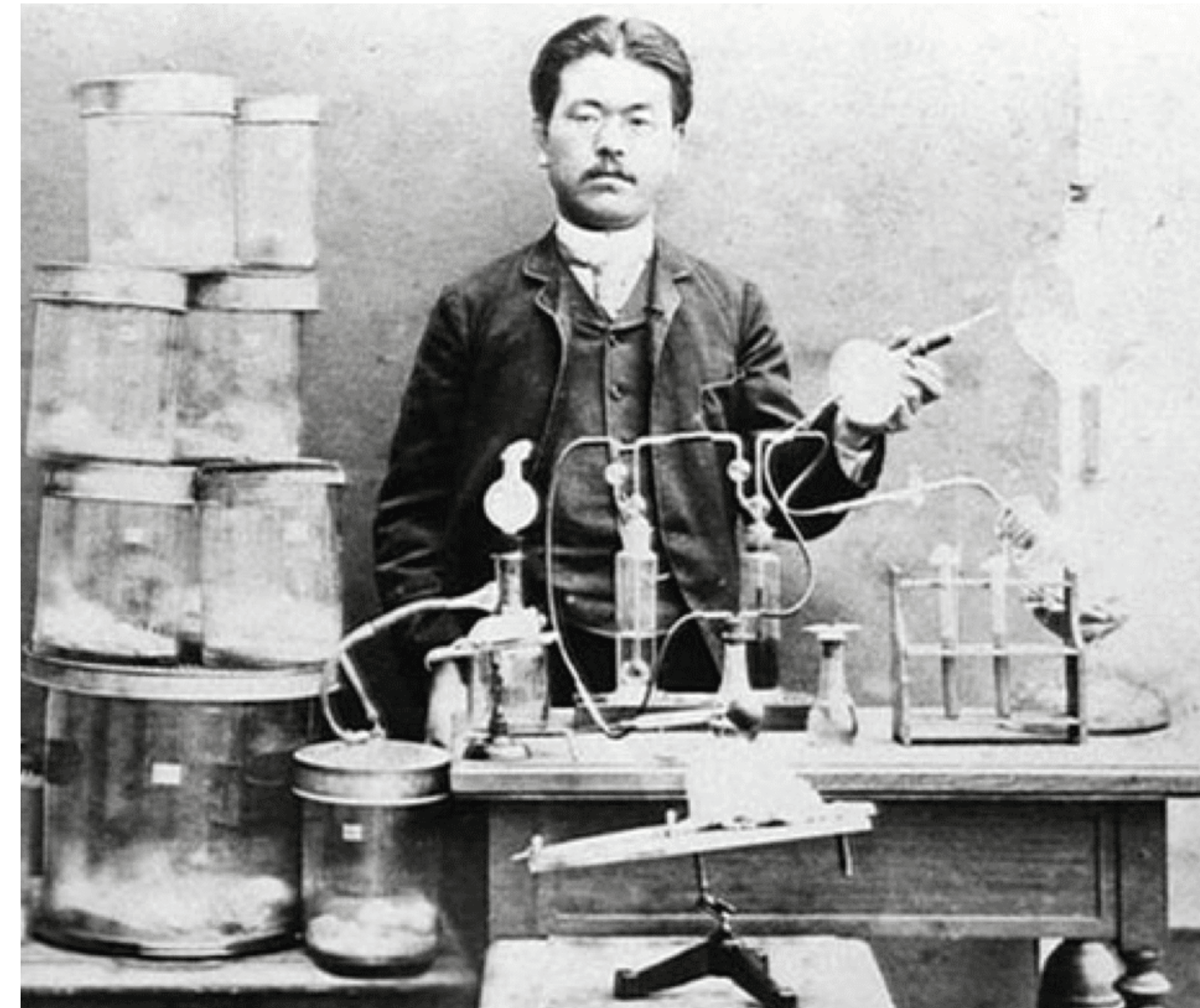
Objetivo de produzir um remédio para tétano e difteria



## Instituto de Higiene - Berlin



Emil von Behring together with his colleagues Wernicke (left) and Frosch (center) in Robert Koch's laboratory in Berlin.



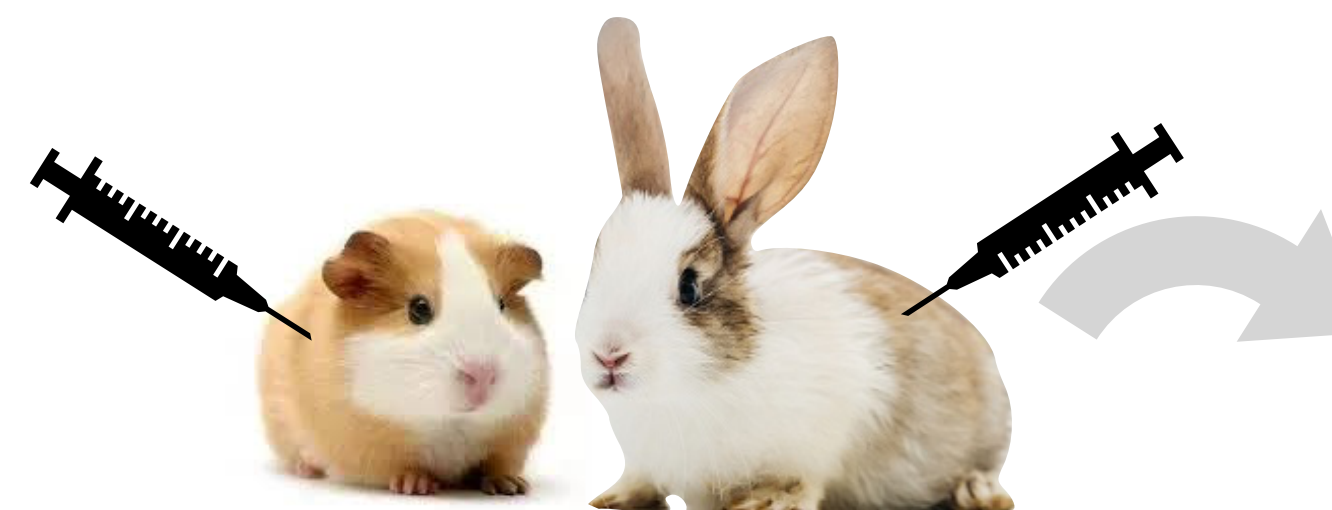
Shibasaburo Kitasato. In a laboratory in Japan.

# Histórico: descoberta da soroterapia

**Tétano** *Clostridium tetani*

**Difteria** *Corynebacterium diphtheriae*

**Imunização - forma atenuada**



Cobaias Coelhos



**Antitoxinas**

**Forma infectante**



Coelhos Cobaias



Soro  
Imunizado

**Animal curado**

**Forma infectante**



Coelhos Cobaias



Soro  
Não imunizado

**Animal com sinais da doença**



**O sangue de animais imunes tem a habilidade de neutralizar ou destruir a toxina tetânica**  
**Esta habilidade mantém efetiva quando se transfere o soro para outro animal**  
**Esta propriedade não é presente no soro de animais que não foram previamente expostos ao patógeno**

Behring e Erich Wernicke

**Primeiro sucesso da soroterapia: verão de 1891**

**Antes disso, 50.000 crianças morriam de difteria na Alemanha**



*Corynebacterium diphtheriae*



*Crianças com difteria*

**Paris - Mortalidade de ~50%  
Tratamento diminuiu para 23,6%**

First Cure for Diphtheria by Antitoxin as Early as 1891. Annals of Science, 1997  
Diphtheria serum and serotherapy. Development, Production and regulation in *fin de siècle* Germany. 2007

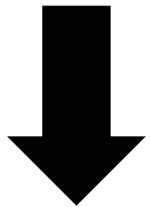


Albert Calmette



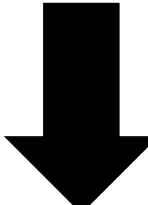
**-1891 - Calmette**

Iniciou pesquisas  
Produção Soro Antiofídico



**-1894 - Calmette**

Instituto Pasteur de Lille - França



**Afirmou:** Soro ativo contra a peçonha de *Naja* mostrou-se igualmente ativo para outras espécies de serpentes asiáticas.



*Naja tripudians*



**Soro polivalente**





Estudava a utilização de plantas para o tratamento de acidentes ocasionados por serpentes

## Vital Brazil Mineiro da Campanha

(1865, Campanha/MG – cresceu Caldas/MG)

Vital Brazil tomou conhecimento dos trabalhos de **Calmette**, na França (soro para *Naja*). Como não poderia desenvolver experimentos de soroterapia e imunologia em Botucatu, transferiu-se para a capital, São Paulo, onde conseguiu, em julho de 1897, um lugar de assistente no **Instituto Bacteriológico**, sob a direção de Adolfo Lutz.



Brasil, (1991-93), 10,000 Cruzeiros, "Snake Venom Note"



*Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus terrificus*



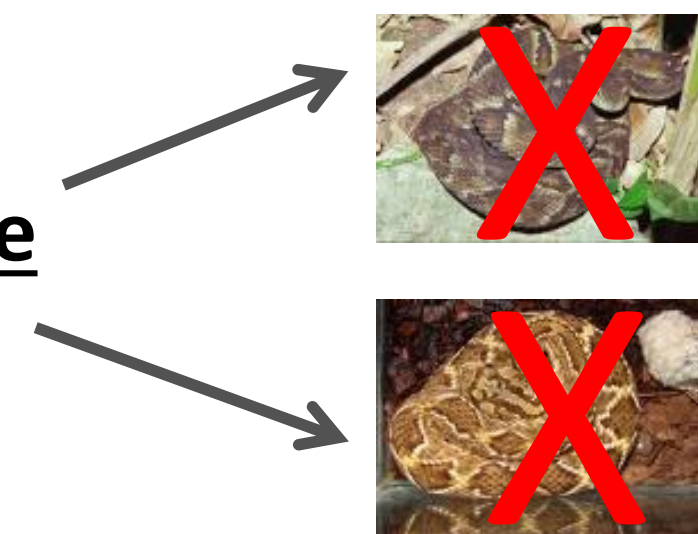
especificidade antigênica

~~Polivalente (Calmette)~~



Monovalente (Vital)

Soro de Calmette



**-1899** — convocado surto em Santos — Febre Amarela

- constatou surto epidêmico de peste bubônica (*Yersinia pestis*)

-confirmado por Oswaldo Cruz



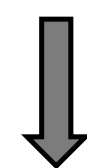
Soro era importado da Europa



A necessidade de produzir no Brasil



Emílio Ribas - diretor do Serviço Sanitário do Estado de São Paulo- propôs ao Governo a criação de um Instituto Soroterápico



Adolfo Lutz, Oswaldo Cruz e Vital Brazil escolheram como local adequado para instalação do novo Instituto, a fazenda Butantan, distante 9km da Capital, com uma área de 4.000.000 m<sup>2</sup>.





(11 anos após a descoberta de Behring)

**1901** - os soros anticrotálico, antibotrópico e misto foram liberados para uso no homem.

- a instalação de um serpentário no Instituto (serpentes por soro)
- A mortalidade por acidentes ofídicos no País caiu verticalmente e milhares de vidas foram poupadas na zona rural.





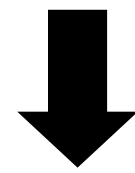
Paul Ehrlich



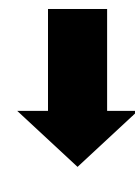
## 1904 - Teoria

- *Side-chains* (cadeias laterais)
- *Magic bullets* (balas mágicas)

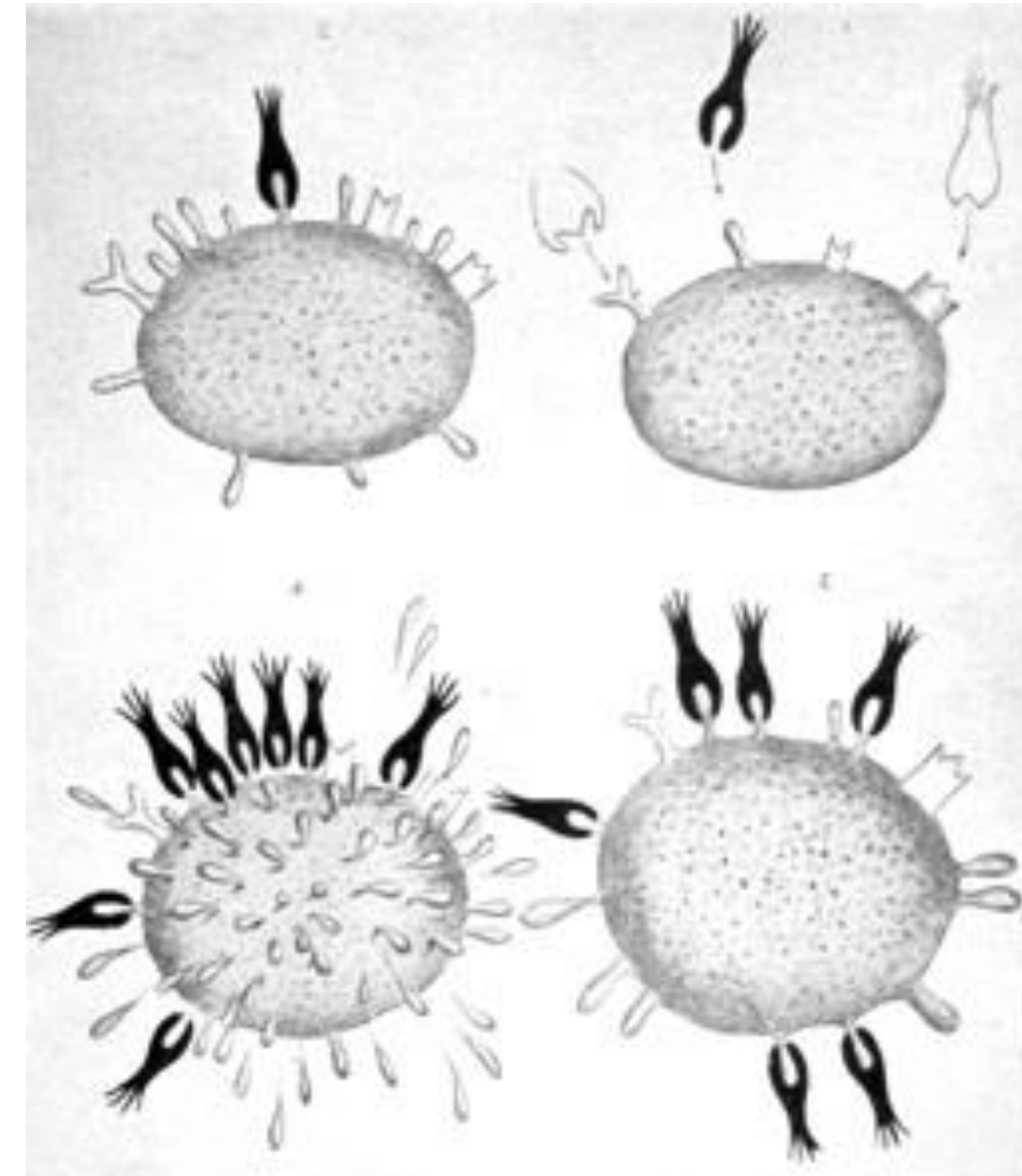
Receptores de membrana celular se ligariam a antígenos  
(*side-chains*)



Após essa ligação os receptores se desprenderiam da membrana  
(*magic-bullets*)



Receptores seriam substituídos nos novos receptores  
(*novas side-chains*)



EHRlich's SIDE-CHAIN THEORY IN THE LIGHT OF  
PRESENT IMMUNOLOGY

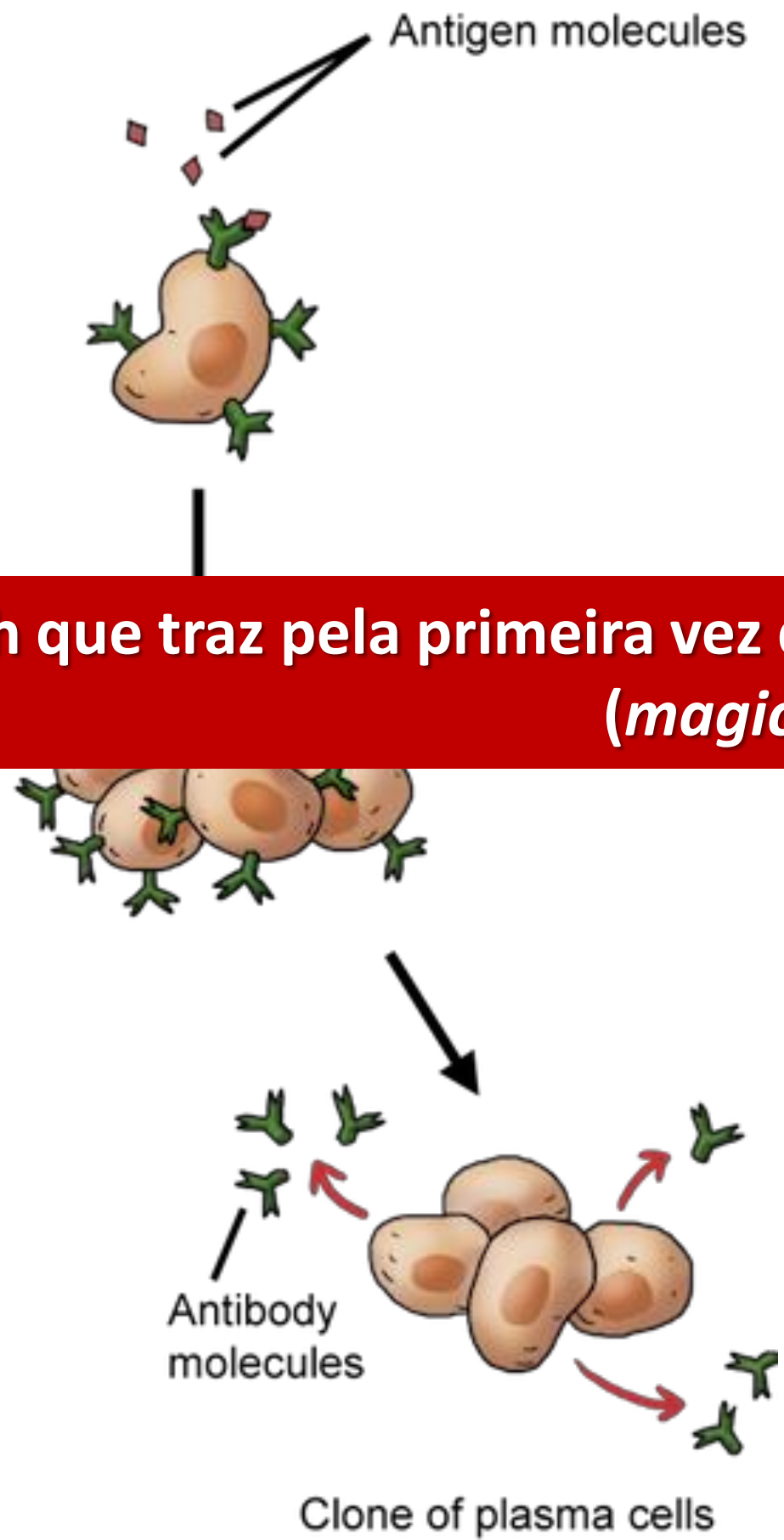
By Ernest Witebsky

*Professor of Bacteriology and Immunology, University of Buffalo School of Medicine;  
Bacteriologist, Buffalo General Hospital, Buffalo, N. Y.*

## Dados Históricos da produção de soros

Recordando....

Aula: Ativação de Linfócitos B



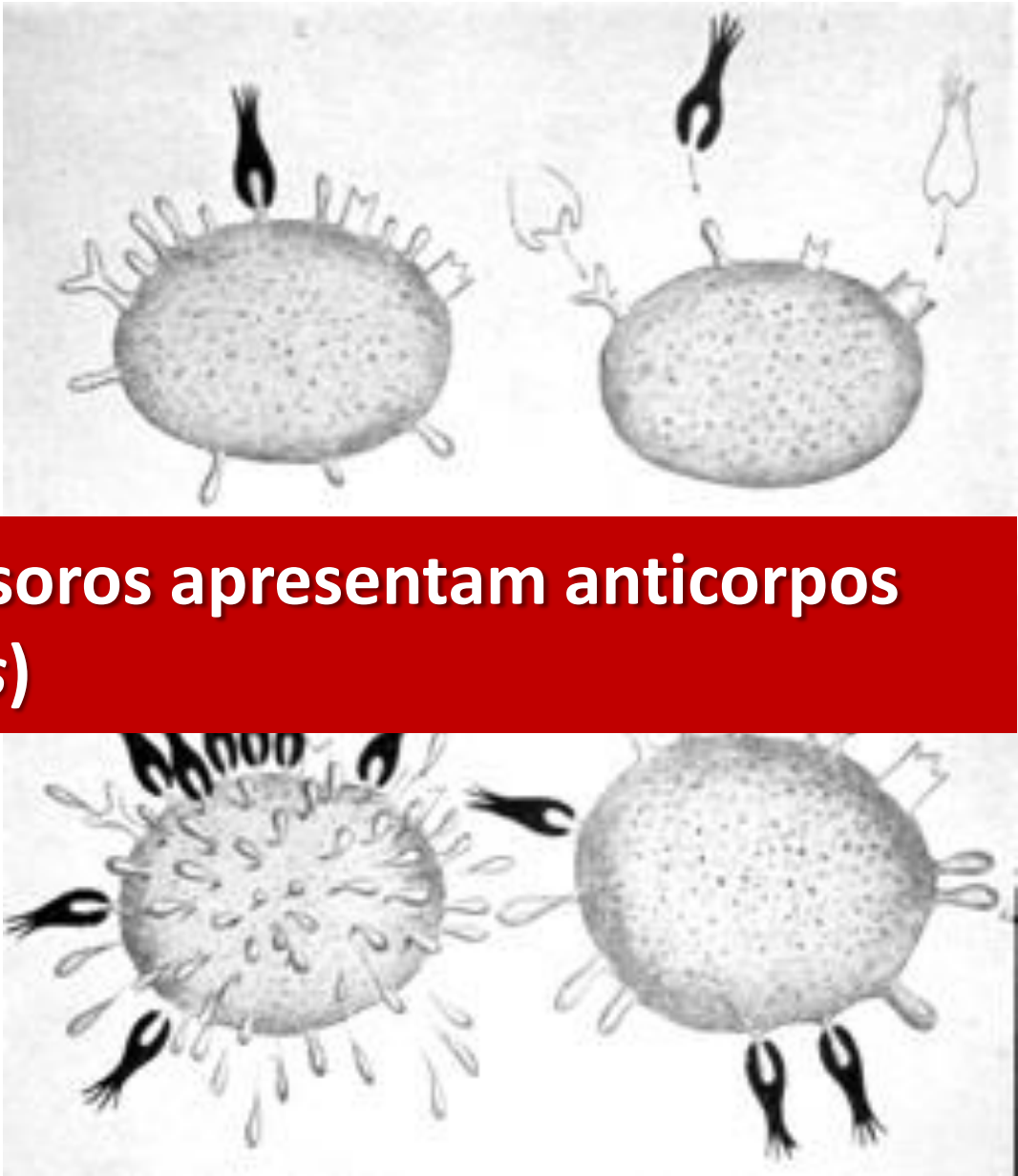
Ehrlich que traz pela primeira vez que os soros apresentam anticorpos (*magic bullets*)



1908

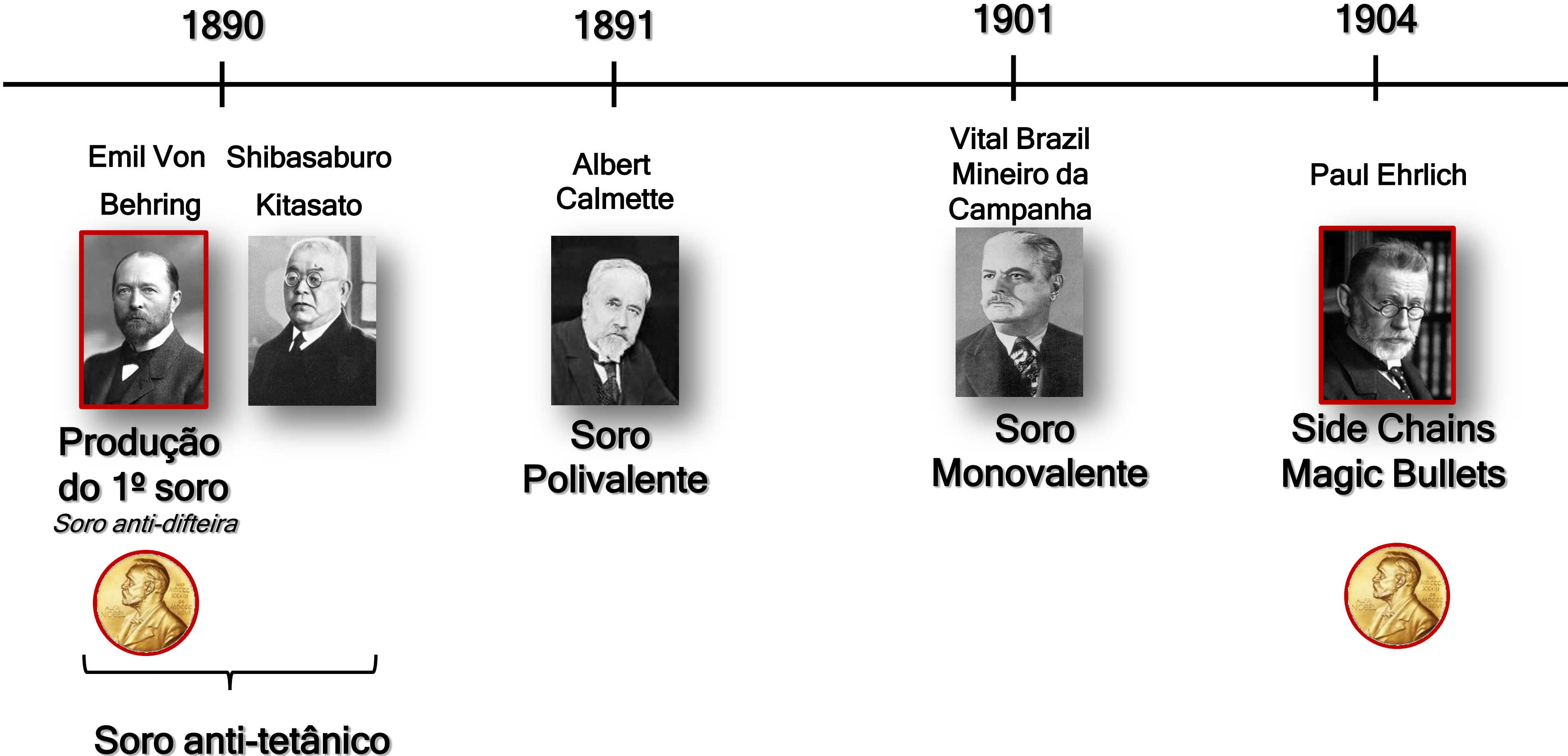


Ehrlich estava certo!



*Side-chains*: receptores de linf. B (IgM/IgD)

*Magic-bullets*: anticorpos



## ✓ A produção de antivenenos no Brasil



**1915** – Vital foi convidado para participar Congresso Científico Pan-Americano em Washington (EUA). De passagem por Nova York, foi informado que John Toomey, tratador de serpentes do Jardim Zoológico do Bronx Park, havia sido mordido por *Crotalus atrox* do Texas.



*Crotalus atrox*

↓  
permanganato de potássio e o soro produzido por Calmette, mas só piorava



Ao saber da presença de Vital Brazil no país, a direção do hospital solicitou que seu soro, produzido a partir da peçonha de *Crotalus terrificus*, fosse injetado no paciente, já moribundo. O quadro começou a regredir e o paciente sobreviveu.



## USE NEW SNAKE-BITE CURE.

### Dr. Brazil's Antitoxin May Save Bronx Zoo Keeper.

John Toomey, the Bronx Zoo keeper who was bitten by a Texas rattlesnake on Thursday, was reported early this morning at the German Hospital to be slightly improved and to stand a fair chance of recovery. The improvement in his condition is attributed to four injections of an antitoxin brought from South America by Dr. Ritol Brazil, who has made a specialty of curing the bites of deadly reptiles. The antitoxin is obtained from snakes which have been inoculated with their own poison. Dr. Brazil was at the hospital for several hours yesterday, and gave Toomey four injections, which began to react almost immediately and, it is expected, will save his life.

His condition was most desperate as every means had been taken to save him and seemingly without avail. Head Keeper Snyder sucked the poison from the wound almost immediately after the snake had bitten him; the surgeon cut away the surrounding flesh from the incisions; whiskey, one of the best remedies, was administered to Toomey and he had also received three injections of a serum which has been used very successfully in other cases of the bites of deadly snakes.



Instituto Butantan tornou-se local de visita obrigatória de autoridades nacionais e internacionais, e recebeu a visita do presidente norte-americano Theodore Roosevelt.

*The New York Times*

Published: January 29, 1916

Copyright © The New York Times

"Fiz uma parte do que gostaria de fazer pela humanidade".  
**Vital Brazil**

JORNAL DO BRASIL — TERÇA-FEIRA, 9 DE MAIO DE 1950

## EVOCÇÃO DE UM DIA GLORIOSO

O BRASIL REVERENCIA NOS SEUS GRANDES FERIDOS TODOS OS QUE CONTRIBUÍRAM PARA A VITÓRIA

Já cinco anos são decorridos após a grande nova que agitou a cidade inteira e fez com que as multidões, num frenesi incontrolável manifestassem todo o seu regozijo sincero. O Brasil, mais uma vez, na sua história abateu o inimigo, mais uma vez, forçara-o, dentro do setor que lhe estava afeto, a depor as armas e a pedir a paz. A Itália dessa vez foi o nosso campo de batalha, campo de batalha inteiramente desconhecido, mas do qual saímos com honra e galhardia. Jamais conheceramos as tempestades de gelo. Jamais escalaramos montanhas altíssimas onde o adversário nos espreitava de mirada certa e mortífera, para em vão, tentar abater-nos! Demos um exemplo no Mundo de nosso valor, de nosso animo, nossa tenacidade! Tivemos um ideal: a conquista da liberdade para todos os povos oprimidos. E norteava-nos também um encontro aprazado de muito longe que iríamos vingar nossos inocentes trucidados em plena costa brasileira.

Nunca foi tão alto hasteado o Pavilhão Nacional! De vitória em vitória, através as cidades e aldeias que vamos tomando, levámo-lo ao topo de Monte Castelo onde toda uma coorte maldita se renderá. Muitas das nossas não puderam chegar ao alto da famosa penedra, porque rolaram de armas nas mãos para se irem sepultar no gelo! Outros, tiritantes, feridos, continuaram a lutar e a vencer! Mas o que interessava era a sobrevivência do Brasil, a sua continuidade imperecível em honra e glória. E foi isso o

## PERDE O BRASIL UM DE SEUS MAIORES CIENTISTAS

### O DESAPARECIMENTO DE VITAL BRASIL, GLÓRIA DA CIÊNCIA BRASILEIRA

Com o falecimento do Dr. Vital Brasil, ontem ocorrido, a ser pesado a seus genitores.

Depois de 29 anos em Butantan, seguiu para Niterói e lá fundou o Instituto Vital Brasil. O Governo Brasileiro, em 1949, reconhecendo-lhe os meritos invulgares e o muito que fez pela ciência brasileira, nomeou-o Intendente do Gen. al. Rondon e o professor Carlos Fontes no Livro do Menor.

Quando esteve pela primeira vez nos Estados Unidos, verificou-se espelaculamente a primeira aplicação de soro ofídico com a cura imediata da vítima, mordida por cascavel, e que, já se estava em dores horroresas, presença de morte certa. Esse primeiro caso no Exterior teve lugar na pessoa de um modesto empregado do Jardim Zoológico de Bronx (Nova York) fato que lhe deu de um momento para outro renome universal.

Esteve também uma segunda vez nos Estados Unidos juntamente com o professor Carlos Fontes, onde foram representar o Brasil num Congresso Interamericano de Cientistas.

Deixa mulher numerosa. Foi casado duas vezes, sendo sua primeira esposa, D. Maria da Conceição Brasil, e a segunda, Dona Dama Viana Brasil. É do primeiro casamento, seu filho, já falecido Vital Brasil, que seguiu a



Vital Brasil

teve a sua primeira batalha de cientista e mSantos, quando a convite do Profetura local ex-

## Os que povo, pr declara o mir no Leg Como transco madas for

A Câmara do Distritou na tarde de co e brilhante homenage pedionaria Brasileira comemorações da "Se na"

A's 12 horas, com pletas de famílias, co entrada no recinto co rocas e os convidados quanto no saguão ext

Vital morreu em 1950 aos 85 anos, deixando 18 herdeiros (9 de cada casamento).

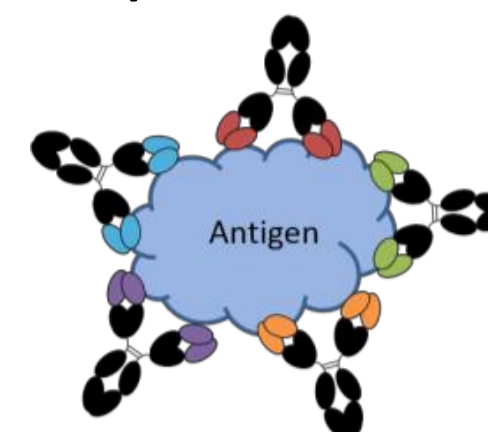
1917 - recebeu a patente do soro antiofídico, que imediatamente doou à população brasileira

## - Imunidade Passiva

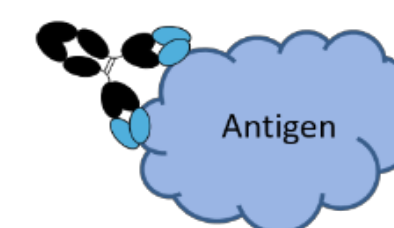


Transferência de Anticorpos Prontos

**Policlonais:** anticorpos com diferentes especificidades



**Monoclonais:** anticorpos com a mesma especificidade



## - Imunidade Ativa Vacina



Inoculação de antígenos que estimularão a produção de anticorpos pelo organismo.

## Definições

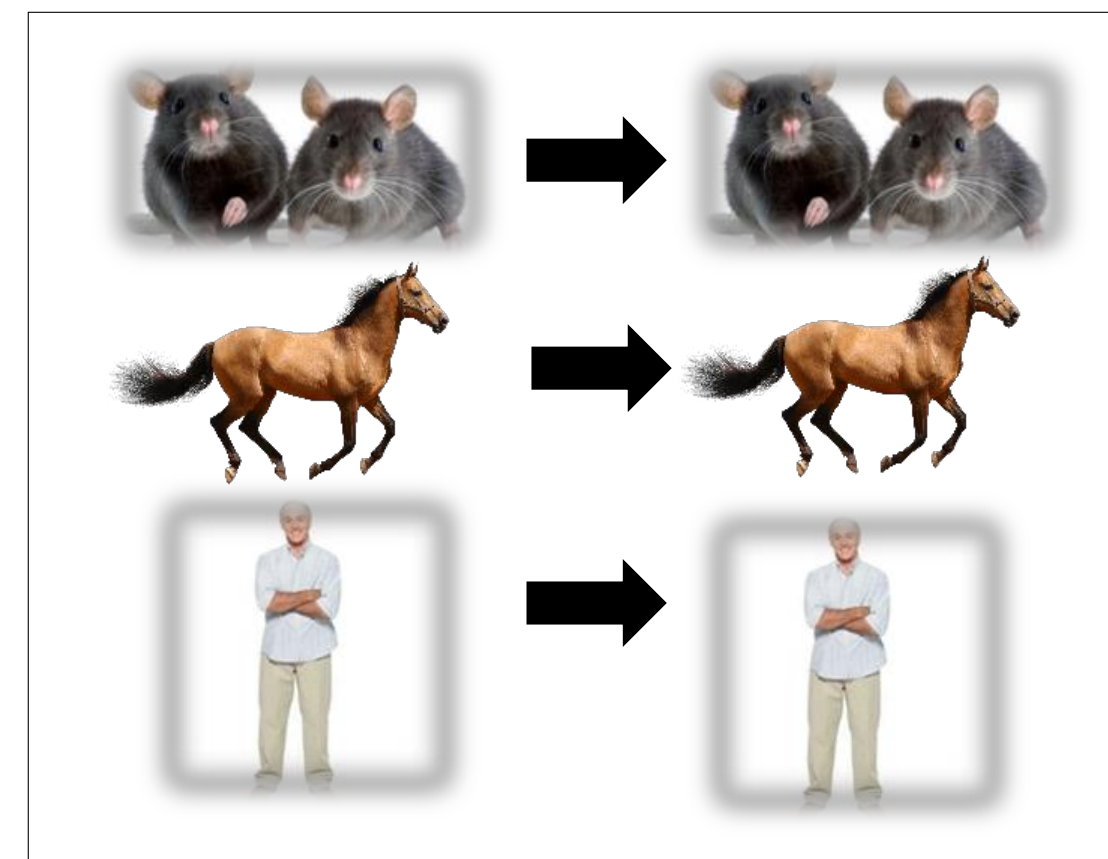
## Uso de Soro (anticorpos policlonais): soroterapia

### Soroterapia

Se dá pela transferência de anticorpos formados anteriormente em um indivíduo doador para outro indivíduo receptor

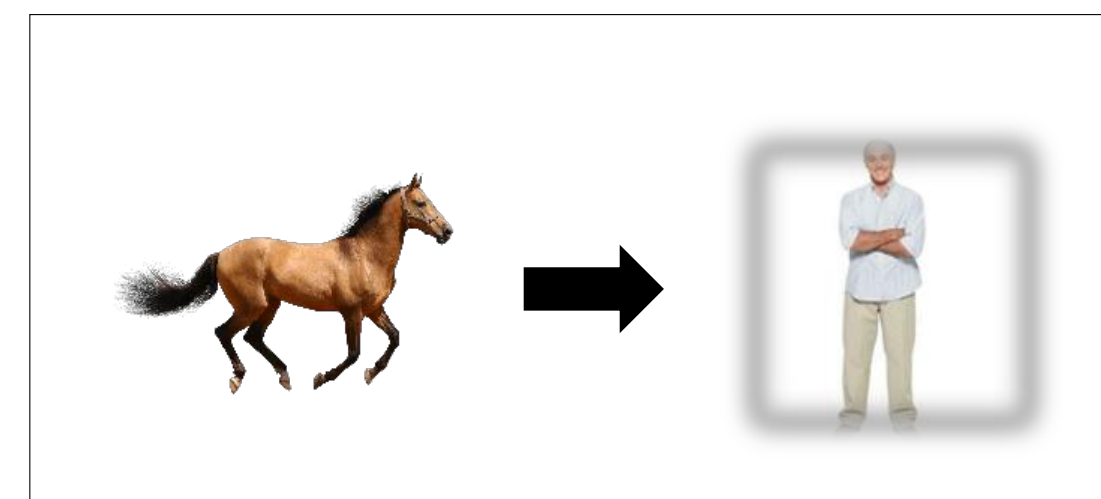
#### -Homóloga

Soro é produzido e administrado em uma mesma espécie



#### -Heteróloga

Soro produzido em uma espécie e administrado em outra



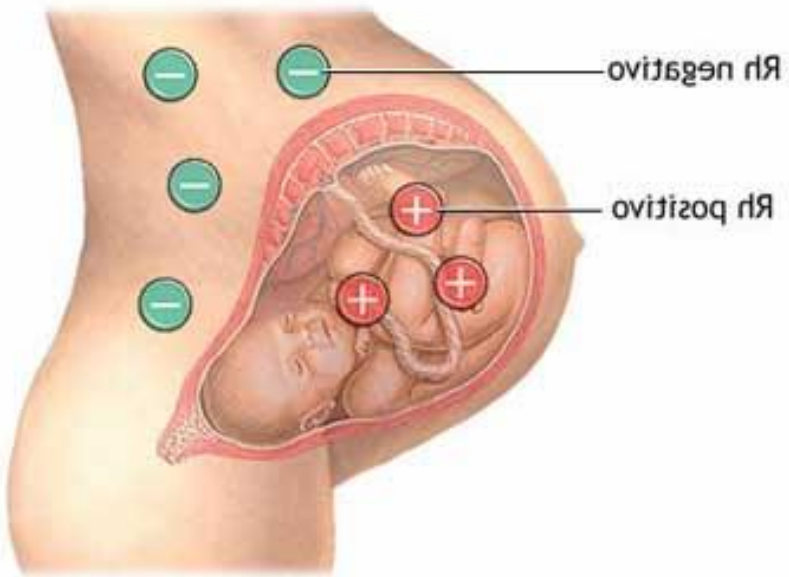
## Produção e aplicação de anticorpos policlonais: Soroterapia

### EXEMPLOS:

### -Homóloga

Soro é produzido e administrado em uma mesma espécie

### Doadores saudáveis



Prevenir Doença hemolítica do recém Nascido em 2 gestação

RHESONATIV®  
imunoglobulina anti-Rho(D)  
Octapharma Brasil Ltda.  
Solução injetável

# -Heteróloga

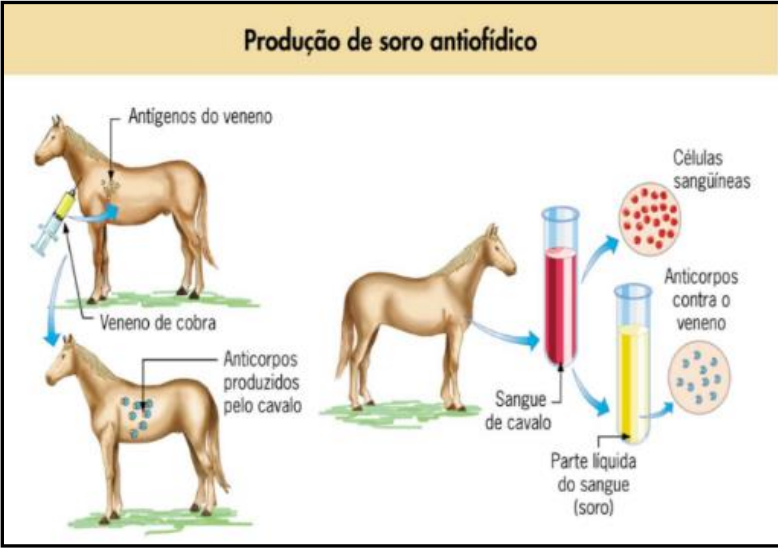
Soro produzido em uma espécie e administrado em outra

**“Soros heterólogos são produzidos rotineiramente por diversas Instituições no mundo”**

## ANIMAIS



- Instituto Butantan/SP
- Fundação Ezequiel Dias - FUNED/BH
- Instituto Vital Brazil/RJ
- Centro de Produção e de Pesquisa de Imunobiológicos do Paraná – CPPI/PR



## Produção de soro em equinos



**1- Hiperimunização** (doses crescentes)- 20-30 dias

**2- Sangria explanatória** (título de Anticorpos)

**3- Sangria** (6L) – 2% peso animal (300kg)

**4- Plasmaferese** (algumas vezes)



## Soros heterólogos



-ampolas

-uso: injeção intravenosa, conforme indicações da bula.

-Deve ser estocado de 4<sup>o</sup> C a 8<sup>o</sup> C – validade 3 anos.

**Anti-botrópico** - contra acidentes com jararaca, jararacuçu, urutu, caiçaca, cotiara.

**Anti-crotálico** - contra acidentes com cascavél.

**Anti-laquétrico** - contra acidentes com surucucu.

**Anti-escorpiônico** - contra acidentes com escorpiões brasileiros do gênero *Tityus*.

**Anti-lonomia** - contra acidentes com taturanas do gênero *Lonomia*.

**Anti-latrodetico** - contra acidentes com a aranha viúva-negra

**Anti-loxocélico** – contra acidentes com a aranha marrom.



### OUTROS SOROS HETERÓLOGOS

**Anti-tetânico** - para o tratamento do tétano.

**Anfi-rábico** - para o tratamento da raiva.

**Anti-diftérico** - para tratamento da difteria.

**Anti-botulínico "A"** - para tratamento do botulismo do tipo A.

**Anti-botulínico "B"** - para tratamento do botulismo do tipo B.

**Anti-botulínico "ABE"** - para tratamento de botulismo dos tipos A B e E.



2001- Forças Armadas  
2005- Liberado

## Soro Antiofídico em Pó

*Liofilizado*

Possui as mesmas características do soro convencional.

-deve ser dissolvido em água, e depois diluído em soro glicosilado.

- Tolera até 50°C, e possui validade superior (5 anos).

Soro liofilizado: *Bothrops* (jararaca e jararacuçu), *Crotalus* (cascavel), *Lachesis* (surucucu) e *Micrurus* (coral). Para aplicar, basta diluí-lo a água esterilizada.



### Butantã apresenta primeiro soro antiofídico em pó do país.



O Instituto Butantã, órgão da secretaria da Saúde de São Paulo, anuncia amanhã, na 6ª Jornada de Doenças Tropicais do Baixo Amazonas, em Santarém (PA), o primeiro soro antiofídico liofilizado (em pó) do país. O produto, segundo os técnicos, facilita a armazenagem e distribuição de soro, pois dispensa refrigeração e tem uma vida mínima de cinco anos, dois a mais que o soro líquido convencional.

O Instituto Butantã conseguiu transformar em pó soros contra serpentes dos gêneros *Bothrops* (jararaca e jararacuçu), *Crotalus* (cascavel), *Lachesis* (surucucu) e *Micrurus* (coral). Para aplicar, basta diluí-lo a água esterilizada, do tipo WFI.

Previsto para ser lançado em 2005, o novo soro foi disponibilizado para as Forças Armadas em 2001, para a realização de testes de estabilidade em campo, e será encaminhado, depois de testes finais, para registro junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda aos países tropicais que adotem esse tipo de soro, mas até agora só a Europa desenvolveu o produto.

"O soro em pó será uma alternativa para pessoas que vivem em regiões longínquas e com menos estrutura. Com o soro líquido é preciso energia elétrica para manter a refrigeração, o que não é necessário com o novo produto", afirma o diretor do Instituto Butantã, Otávio Azevedo Mercadante. Ele será distribuído gratuitamente para todas as secretarias estaduais e municipais de Saúde.

Fonte: Agência Brasil  
Publicado em: 26/07/2004



## DESVANTAGENS

Rebanho equino: oneroso

Redução da vida média do animal

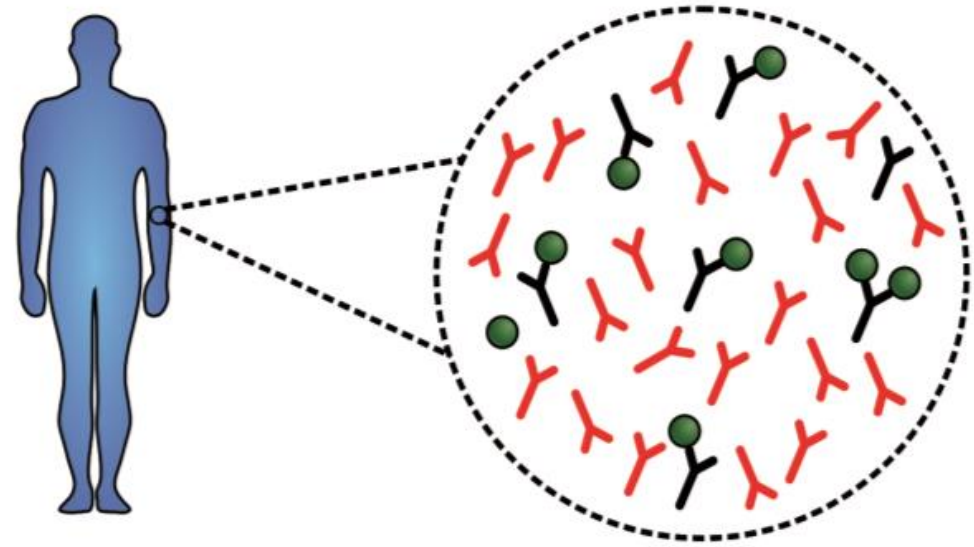
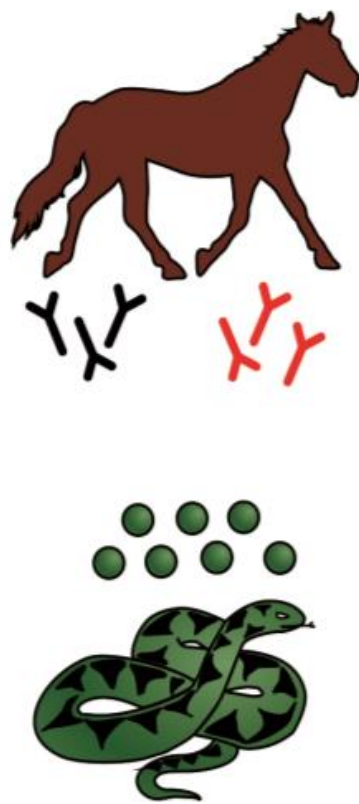


# DESVANTAGENS

Rebanho equino: oneroso

Redução da vida média do animal

Presença de anticorpos não-neutralizantes (> 70 %)



70% of non-neutralizing antibodies



## DESVANTAGENS

Rebanho equino: oneroso

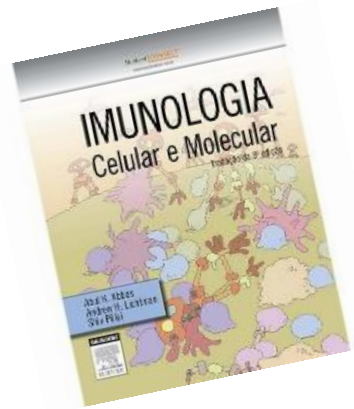
Redução da vida média do animal

Presença de anticorpos não-neutralizantes (> 70 %)

Doença do Soro

## Doença do Soro

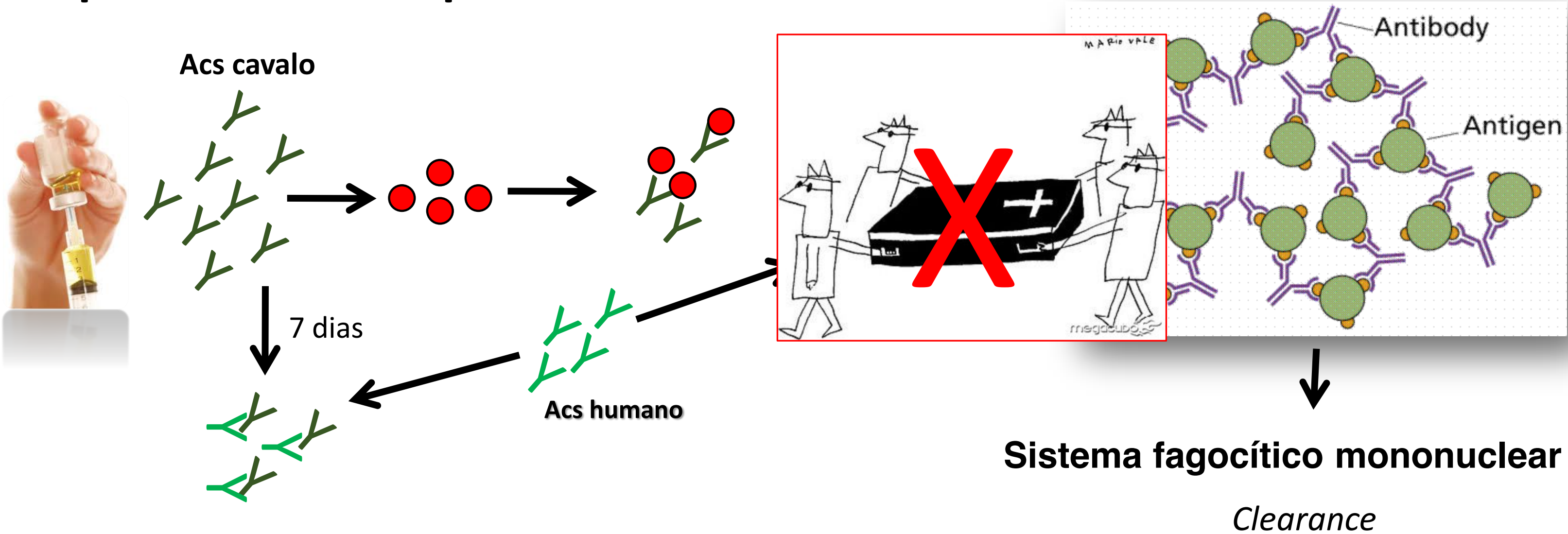
### Aula: Hipersensibilidades



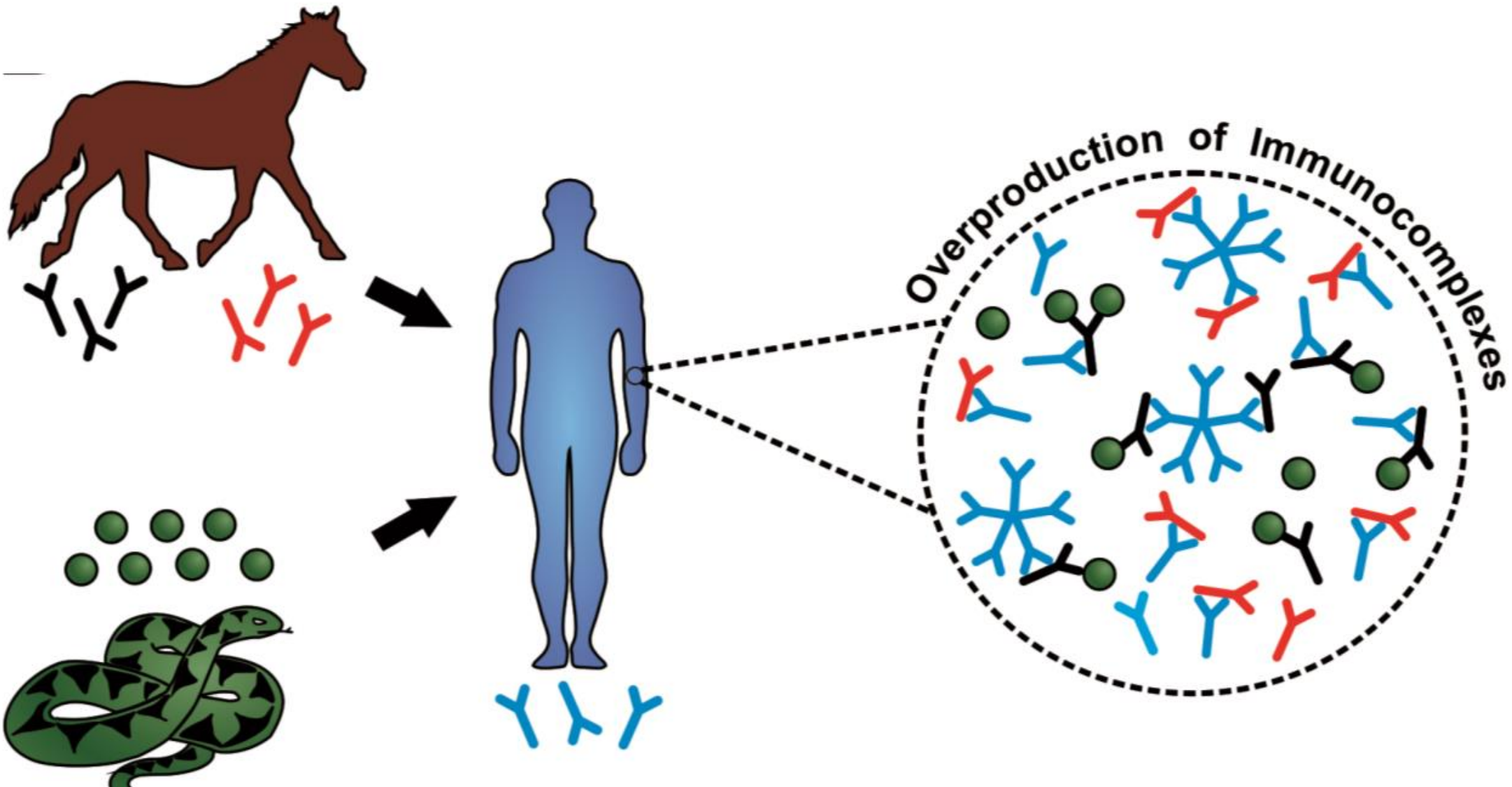
### Hipersensibilidade do Tipo III

(mediada por Imunocomplexos)

### O que é imunocomplexo?

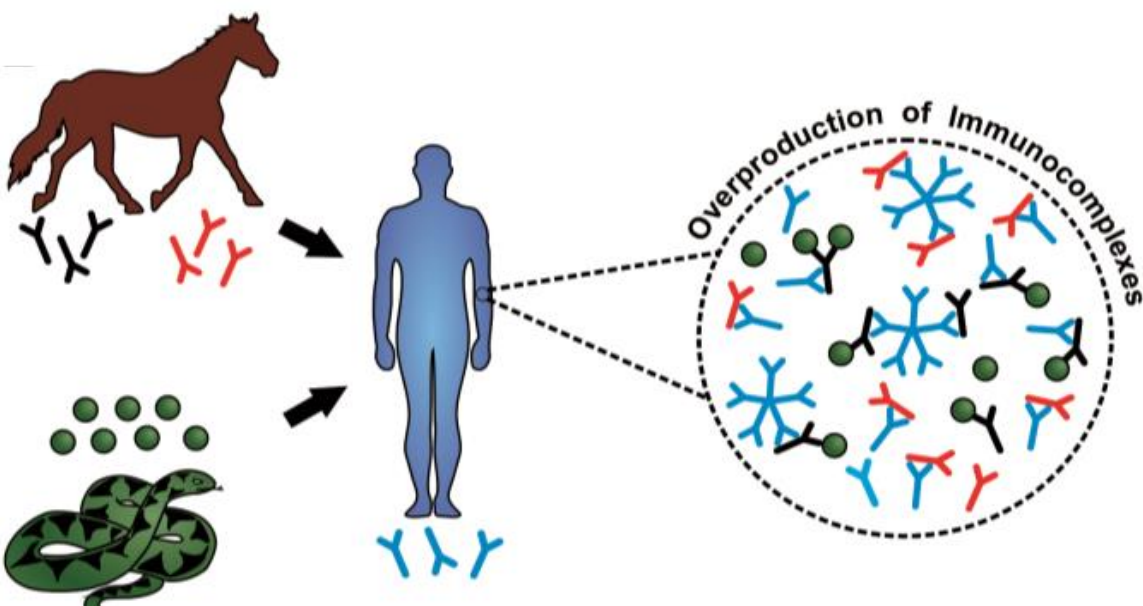


Doença do Soro



## Desvantagens dos Soros Heterólogos Policlonais

### Doença do Soro



#### Serum Sickness

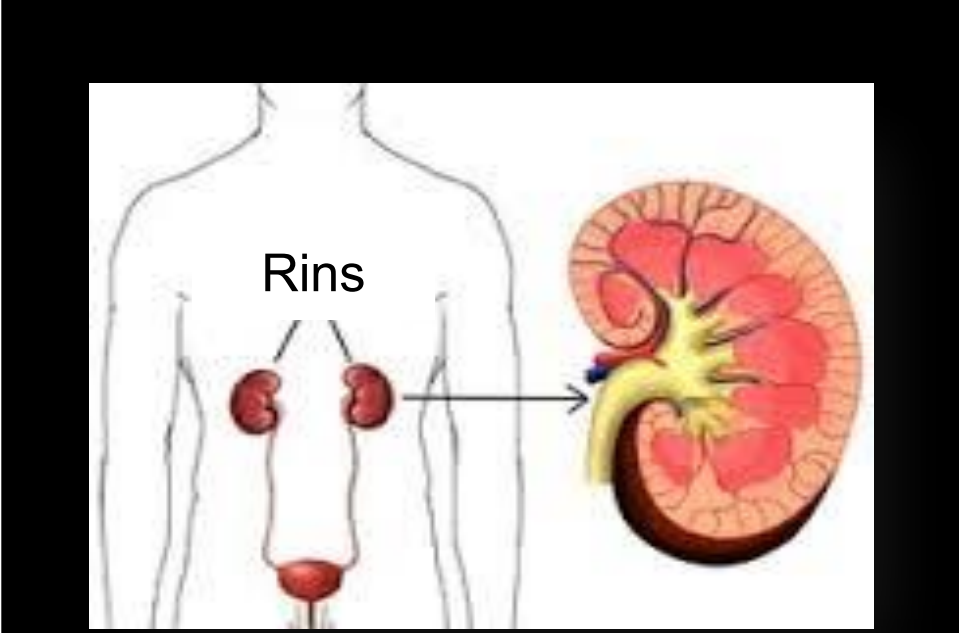
- Vasculitis
- Glomerulonephritis
- Arthritis



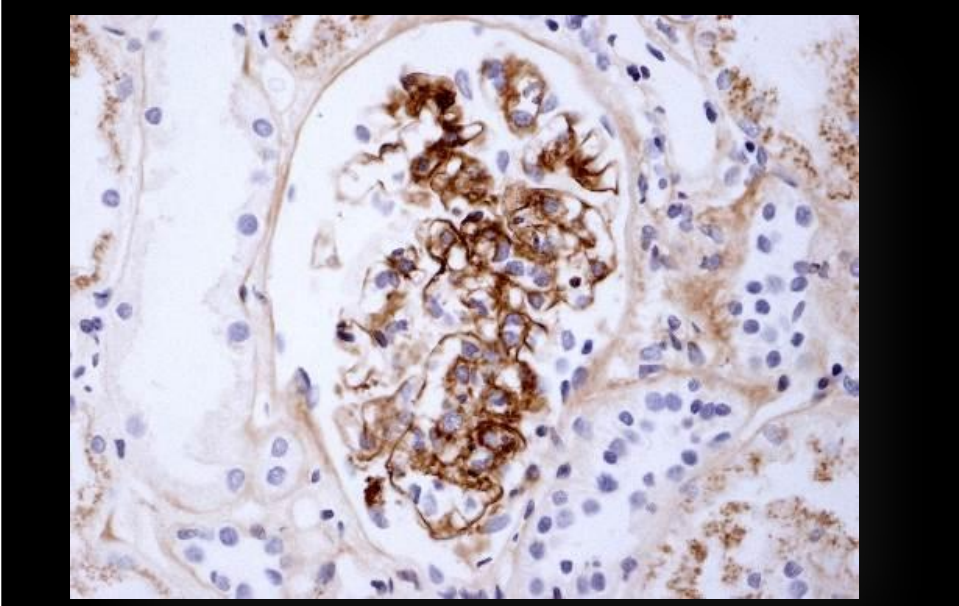
Vasculite



Artrite



Nefrite





## DESVANTAGENS

Rebanho equino: oneroso

Redução da vida média do animal

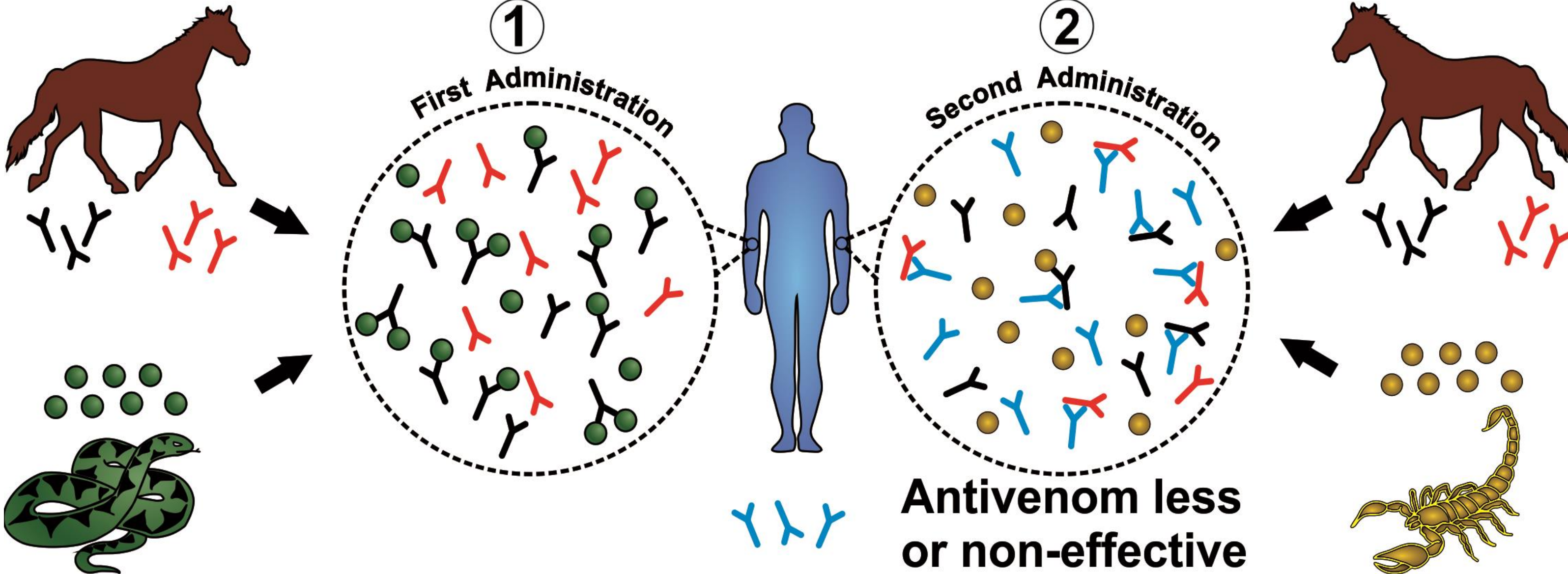
Presença de anticorpos não-neutralizantes (> 70 %)

Doença do Soro

2º Administração: soro menor eficácia



2º Administração: soro menor eficácia





## DESVANTAGENS

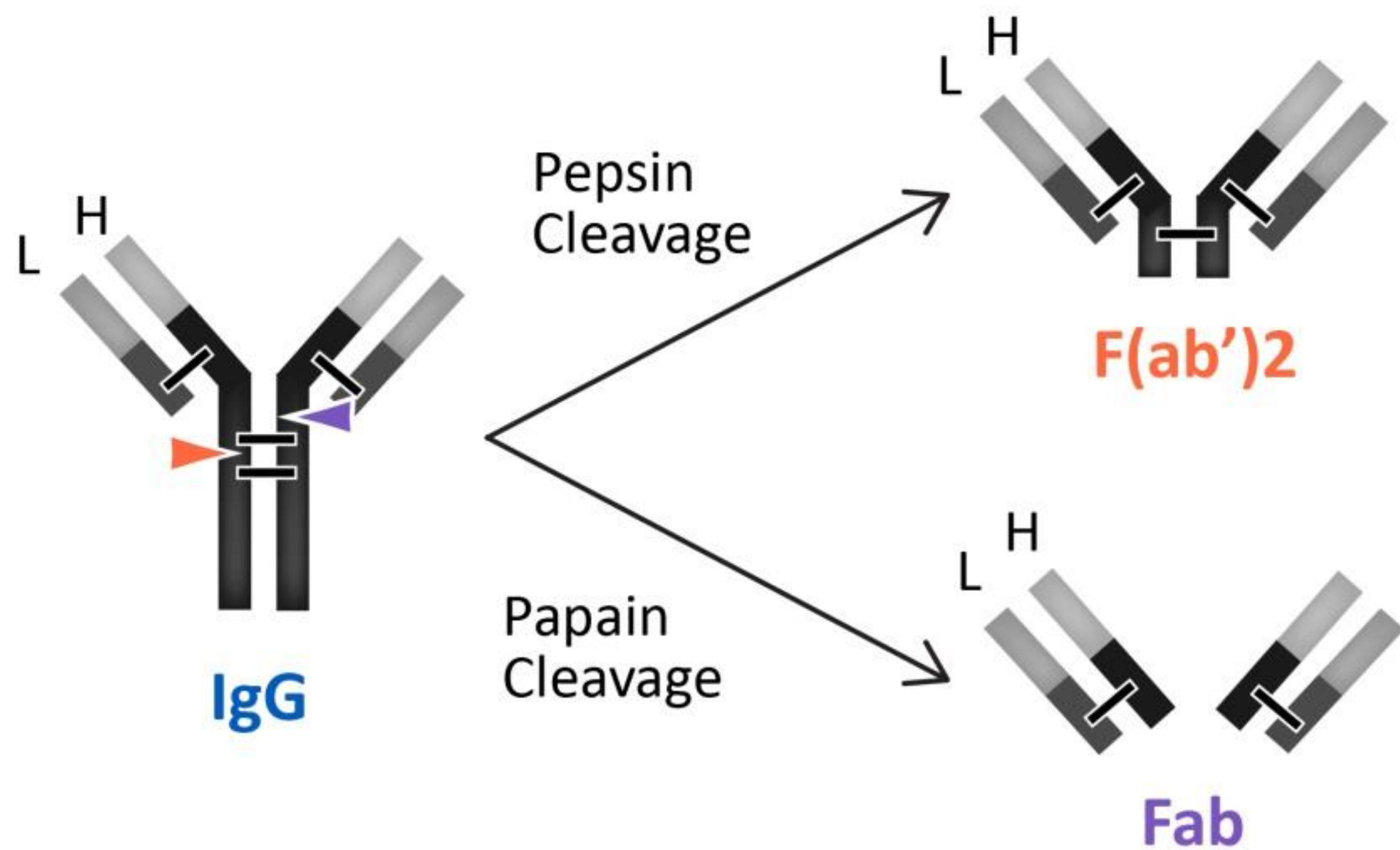
Rebanho equino: oneroso

Redução da vida média do animal

Presença de anticorpos não-neutralizantes (> 70 %)

Doença do Soro

2º Administração: soro menor eficácia



## Vantagens:

- Por ser menores são distribuídos mais rapidamente (55 kDa);
- São menos imunogênicos  
(menor chance de desenvolver doença do Soro)

## Desvantagem:

- Continuam sendo heterólogos



**Pillars Article: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 1975, 256 (5517): 495–497.**

This information is current as of May 17, 2013.

G. Köhler and C. Milstein

*J Immunol* 2005; 174:2453-2455; ;  
<http://www.jimmunol.org/content/174/5/2453.citation>

## Técnica do Hibridoma



Niels K. Jerne



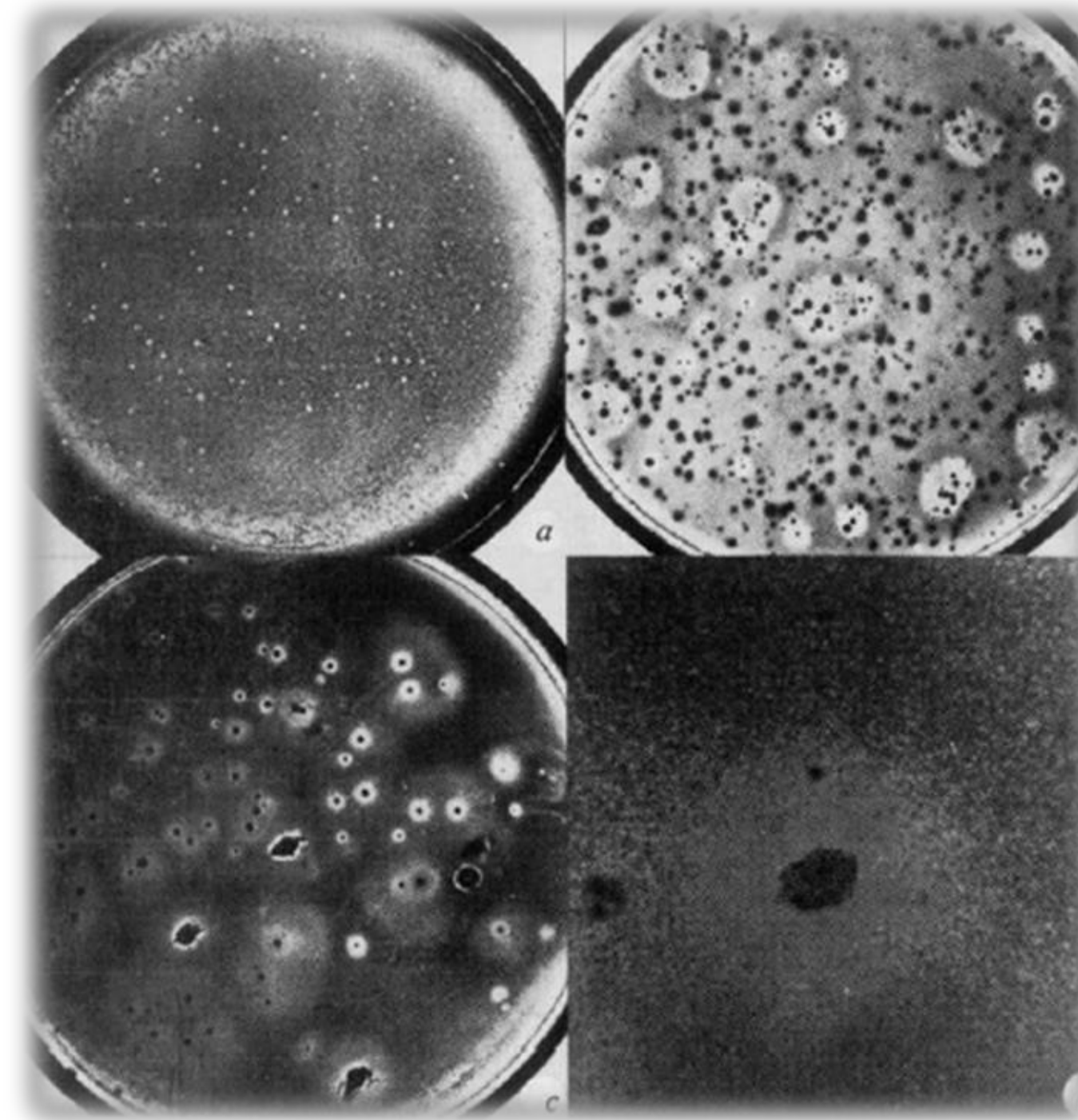
Georges J.F. Köhler



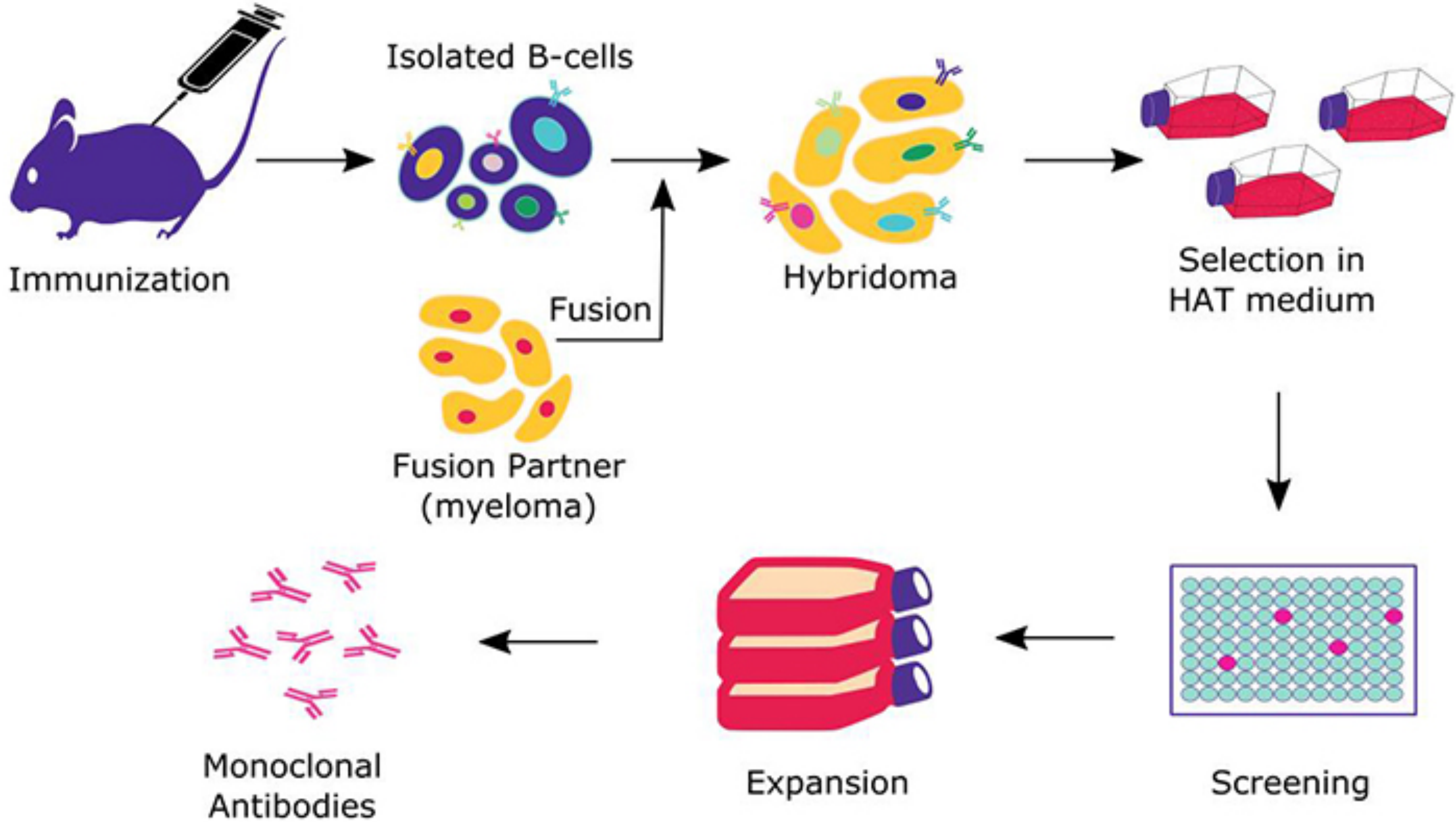
César Milstein

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1984 was awarded jointly to Niels K. Jerne, Georges J.F. Köhler and César Milstein "for theories concerning the specificity in development and control of the immune system and the discovery of the principle for production of monoclonal antibodies".

*Nature* Vol. 256 August 7 1975



# HYBRIDOMA TECHNOLOGY



## **Vantagens:**

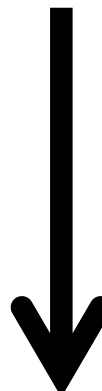
- Não utiliza o cavalo (menor custo);
- Produz alta quantidade de anticorpos.

## **Desvantagem:**

- Continuam sendo heterólogos.

- Administração única
- Pode causar Reações de Hipersensibilidade (Ac. heterólogo)

Anticorpos totalmente humanos



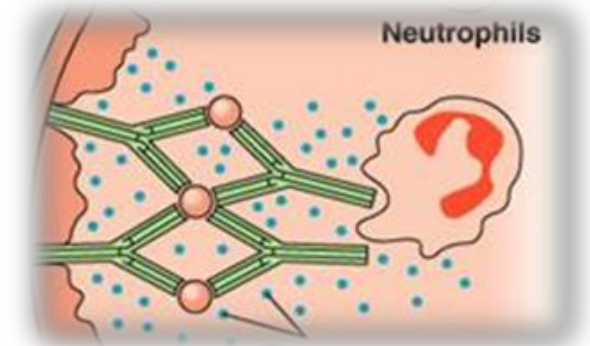
*Phage Display*



~~Rebanho Equino~~



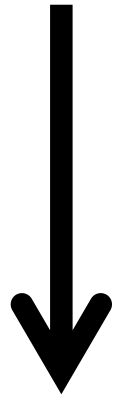
~~Doença do Soro~~



~~Baixa eficácia da 2ª Administração~~

~~Anticorpos não neutralizantes (70%)~~

Anticorpos totalmente humanos



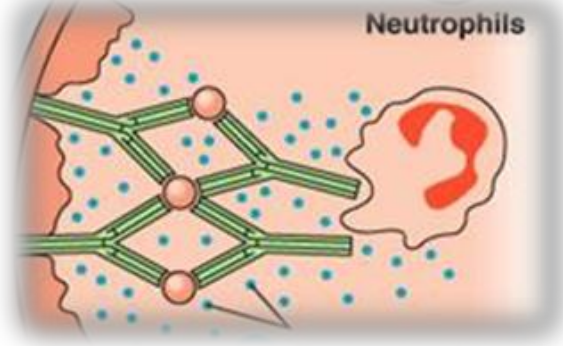
**Phage Display**



~~Rebanho Equino~~



~~Doença do Soro~~

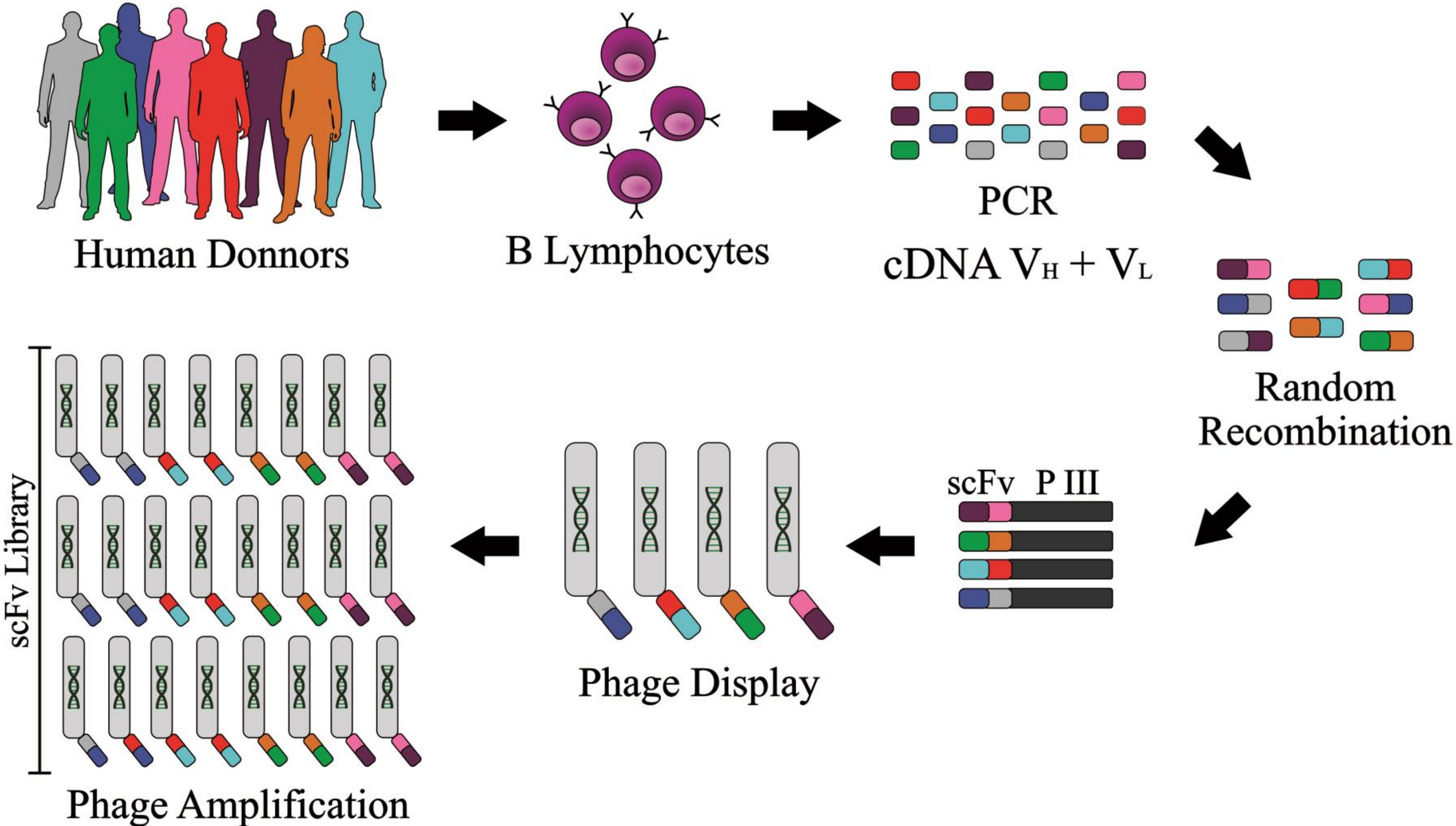


~~Baixa eficácia da 2ª Administração~~

~~Anticorpos não neutralizantes (70%)~~



*Bibliotecas de Fragmentos de Anticorpos*





➤ **Ser homólogo e não desencadear Doença do Soro;**



➤ **Possuir 100% de anticorpos neutralizantes;**



➤ **Ser eficaz mesmo em uma 2ª administração;**



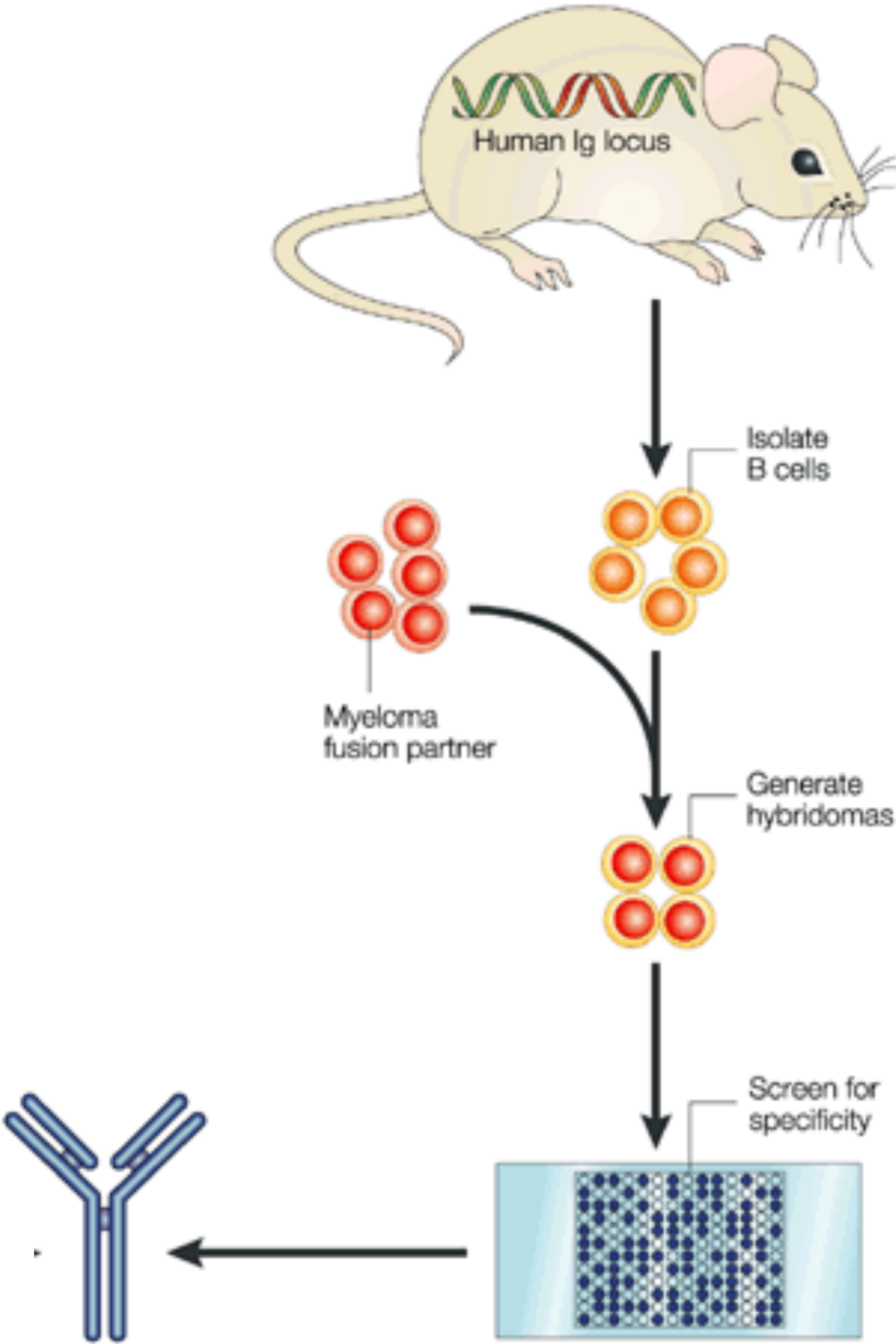
➤ **Não necessitar de grande quantidade de peçonha;**



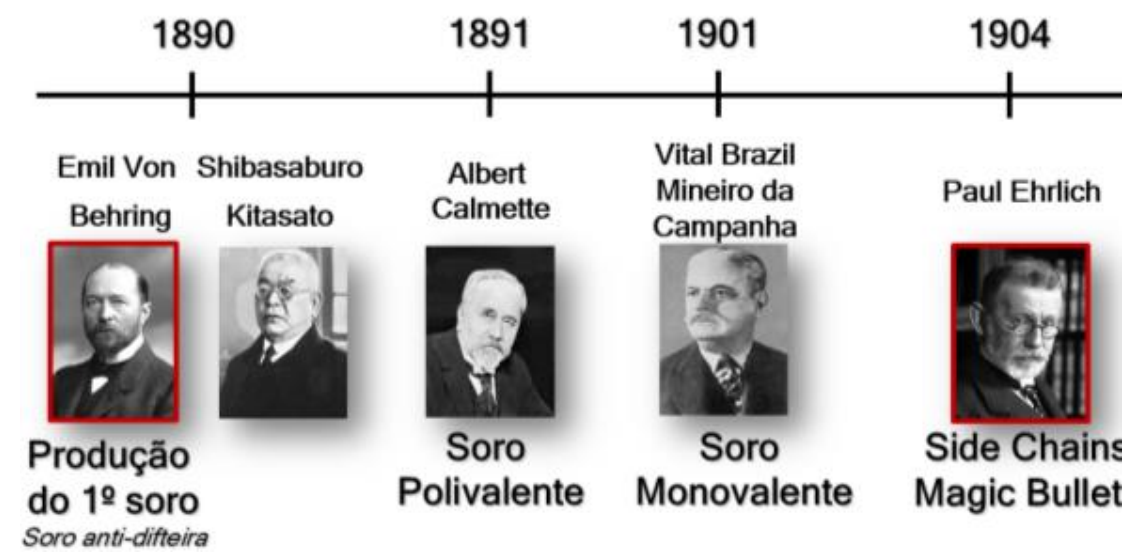
➤ **Ser pequeno, distribuindo-se rapidamente pelos tecidos.**

**b Transgenic mouse technology**

Immunization



## Resumo



## História

## Definições de Termos

- **Imunidade Passiva/Ativa**
- **Anticorpos policlonais/monoclonais**
- **Soroterapia homóloga/heteróloga**

## Produção e aplicação de anticorpos policlonais: Soroterapia



## DESVANTAGENS

Rebanho equino: oneroso

Redução da vida média do animal

Presença de anticorpos não-neutralizantes (> 70 %)

Reações de Hipersensibilidade  
*Anafilaxia e Doença do Soro*

2ª Administração: soro menor eficácia

## ALTERNATIVAS

Soro heterólogo tipo Fab ou F(ab')<sub>2</sub>

Anticorpos monoclonais

Phage Display

Até o momento nenhum anticorpo monoclonal para peçonhas animais no mercado

