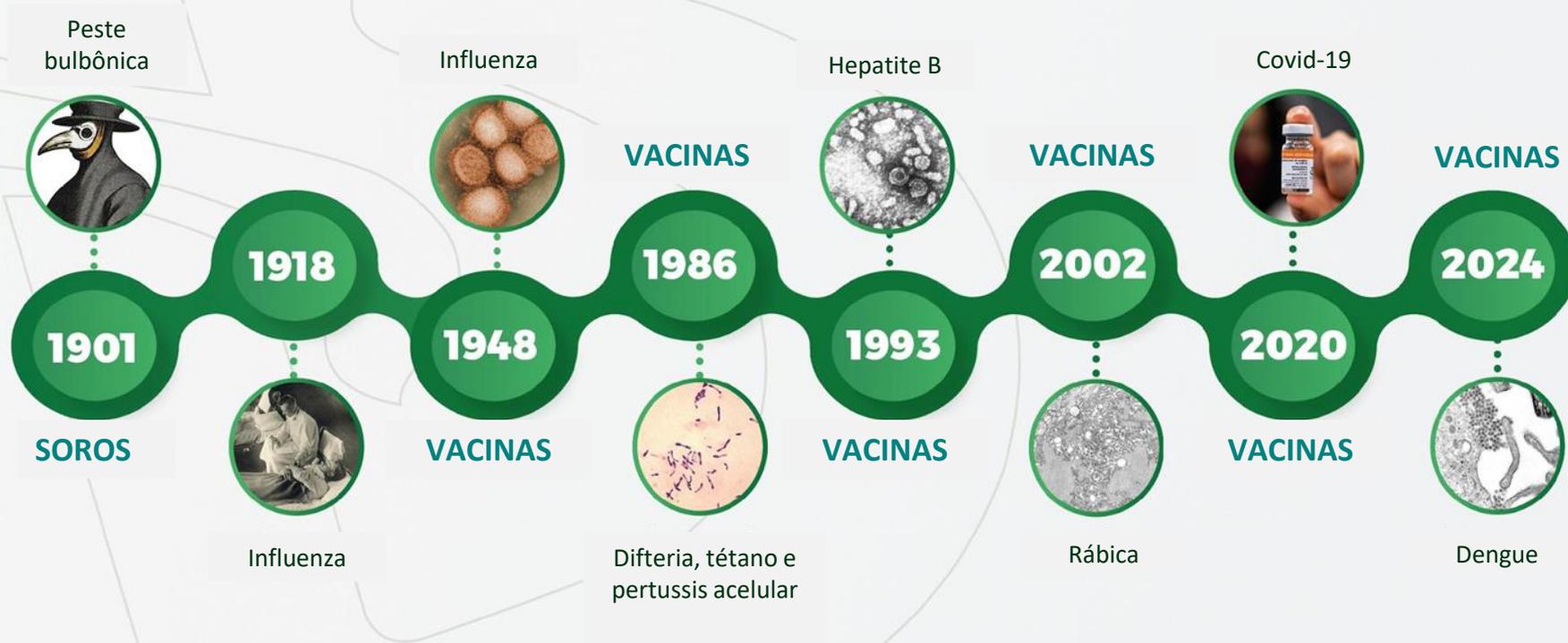


IMPLEMENTAÇÃO DO MAT

Análise de soros hiperimunes

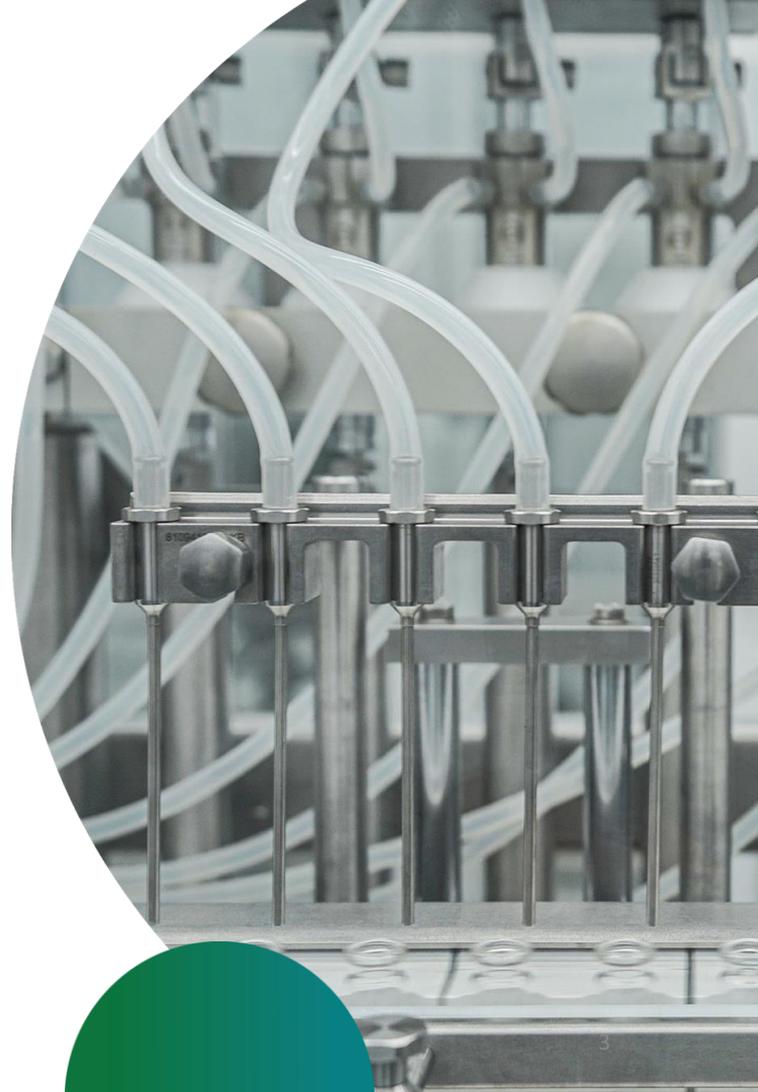
Debora Ferreira Ferrarin
Instituto Butantan/ Fundação Butantan





PRODUÇÃO DE SOROS E VACINAS

Nós somos os **maiores produtores** de soros e vacinas da **América Latina** e referência mundial em **eficiência e qualidade.**



560 mil

Vials de soro
por ano

Contra veneno de animais,
toxinas bacterianas e o vírus
rábico

Em 2019, o **processo de obtenção de plasma equino** foi automatizado para **plasmaferese**, melhorando assim a qualidade da matéria-prima dos soros



Antiveneno

antibotrópico (pentavalente)
 antibotrópico (pentavalente) e antielaquético
 anticrotálico
 antibotrópico (pentavalente) e anticrotálico
 antielapídico (bivalente)
 antiescorpiônico
 antiaracnídico (*Loxosceles*, *Phoneutria* e *Tityus*)
 antilonômico



Antitoxina

antidiftérico
 antitetânico
 antibotulínico AB (bivalente)
 antibotulínico E

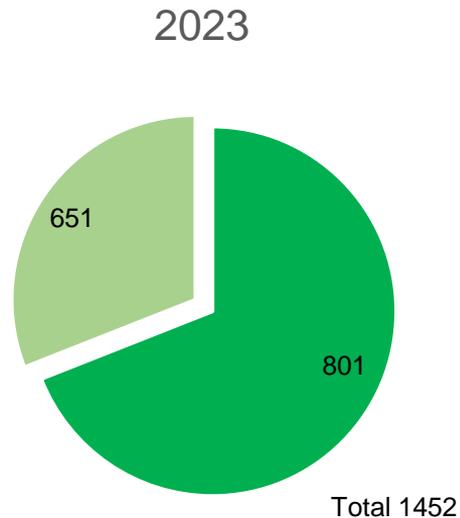
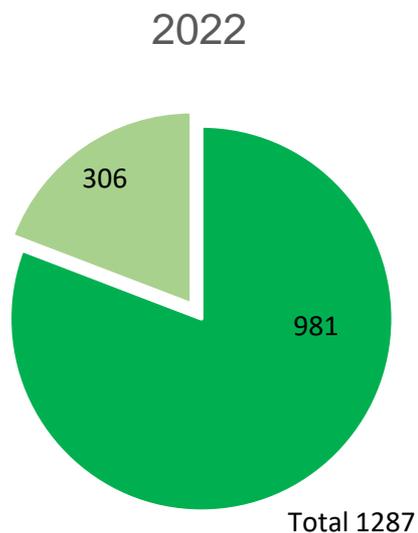


Antiviral

antirrábico

TESTE DE PIROGÊNIO

Número total de coelhos utilizados no teste de pirogênio para soros hiperimunes.



- Número de coelhos utilizados para concentrado e concentrado a granel
- Número de coelhos utilizados para produto terminado

- Número de coelhos utilizados para concentrado e concentrado a granel
- Número de coelhos utilizados para produto terminado

TESTE DE PIROGÊNIO

Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA)

Resolução nº45, de 22 de outubro de 2019

- Art. 2º Para os efeitos desta Resolução Normativa, o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal reconhece o método alternativo Teste de Ativação de Monócitos para avaliação da contaminação pirogênica em produtos injetáveis.
- Parágrafo único. Com o reconhecimento do método alternativo descrito no art. 2º desta Resolução Normativa, fica estabelecido o prazo de até 5 (cinco) anos como limite para substituição obrigatória do método original pelo método alternativo.

TESTE DE PIROGÊNIO

Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA)

Resolução nº68, de 21 de outubro de 2024

- Art. 1º **Fica prorrogado por um ano** o prazo previsto no parágrafo único do art. 4º da Resolução Normativa CONCEA nº 45, de 22 de outubro de 2019, **para a substituição do teste de pirogênio em coelhos** pelo Teste de Ativação de Monócitos - MAT, **para todos os produtores de Soros Hiperimunes** em território nacional, **contado de 25 de outubro de 2024**.

Farmacopeia Brasileira

- Uma das atualizações da 7ª edição da Farmacopeia Brasileira foi a **inclusão do MAT no capítulo 5.5.2.1. TESTES PARA AVALIAÇÃO DE PIROGÊNIOS**.

TESTE DE PIROGÊNIO

A busca por testes alternativos...



O começo

Kit comercial com células totais do sangue (PyroDetect). ❌



2017

Grupo de Pesquisa Nacional para explorar novos métodos.

ARTIGO
<https://doi.org/10.22239/2317-269x.01082>



Métodos alternativos para a detecção de pirogênios em produtos e ambientes sujeitos a Vigilância Sanitária: avanços e perspectivas no Brasil a partir do reconhecimento internacional do Teste de Ativação de Monócitos

Alternative methods for the detection of pyrogens in products and environment subject to public health surveillance: advances and perspectives in Brazil based on the international recognition of the Monocyte Activation Test



2022

Kit comercial com PBMC (MAT Biotech). ✅

VALIDAÇÃO DO MAT



Validação da metodologia analítica

- Seletividade;
- Limite de detecção (LOD);
- Curva padrão de endotoxina (linearidade),
- Exatidão.



Adequabilidade do método para soros

- Interferência do produto no teste de ELISA;
- Interferência do produto na detecção de endotoxina (LPS) e não endotoxina (HKSA),
- Precisão intermediária.

Capítulo 2.6.30 da European Pharmacopoeia e a RDC 166/2017 da ANVISA (Agência Regulatória Brasileira).

VALIDAÇÃO DO MAT



Validação da metodologia analítica

- Seletividade ✓
- Limite de detecção (LOD): 0,016 EU/mL ✓
- Curva padrão de endotoxina (linearidade): $r^2 \geq 0,975$
- Exatidão: 50 a 200% ✓



Adequabilidade do método para soros

- Interferência do produto no teste de ELISA;
- Interferência do produto na detecção de endotoxina (LPS) e não endotoxina (HKSA),
- Precisão intermediária.

Capítulo 2.6.30 da European Pharmacopoeia e a RDC 166/2017 da ANVISA (Agência Regulatória Brasileira).

VALIDAÇÃO DO MAT



Validação da metodologia analítica

- Seletividade;
- Limite de detecção (LOD);
- Curva padrão de endotoxina (linearidade),
- Exatidão.



Adequabilidade do método para soros

- Sem interferência do produto no teste de ELISA ✓
- Sem interferência do produto na detecção de endotoxina (LPS) e não endotoxina (HKSA) ✓
- Precisão intermediária: $CV \leq 20\%$ ✓

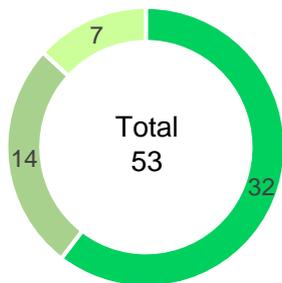
Capítulo 2.6.30 da European Pharmacopoeia e a RDC 166/2017 da ANVISA (Agência Regulatória Brasileira).

CONCLUSÃO

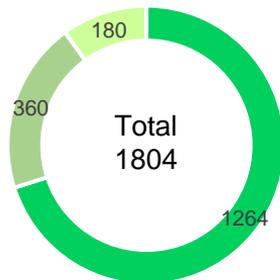
O **MAT** foi considerado **validado** e **adequado** para implementação no Controle de Qualidade para **análise de pirogênio em soros hiperimunes**.

TESTE DE ATIVAÇÃO DE MONÓCITOS (MAT)

Número de testes



Horas Analista



Investimento (Consumíveis)



Investimento com mão-de-obra



- Desenvolvimento analítico
- Validação do método analítico
- Adequabilidade do método analítico

- Desenvolvimento analítico
- Validação do método analítico
- Adequabilidade do método analítico

- Desenvolvimento analítico
- Validação do método analítico
- Adequabilidade do método analítico

- Desenvolvimento
- Validação do método analítico
- Adequabilidade do método analítico

DESAFIOS

A implementação de um novo método sempre traz desafios...

- Busca da **plataforma mais apropriada** para a execução dos testes uma vez que, **adaptá-la a diferentes tipos de produtos, pode ser complexa**. É necessário **garantir que o método seja adequado para o tipo de amostra**, e que os **resultados sejam reprodutíveis e precisos**.
- **Substâncias presentes na amostra** (como proteínas ou outros componentes do produto) **podem interferir no teste**, prejudicando os resultados e tornando a **quantificação da endotoxina imprecisa**.
- Durante o desenvolvimento, nós observamos que algumas substâncias do **soro hiperimune concentrado a granel** interfere no MAT. **Para o concentrado e o concentrado a granel, será utilizado o método LAL já validado e o teste de rFC**.

DESAFIOS

A implementação de um novo método sempre traz desafios...

- O teste deve ser **sensível o suficiente para detectar níveis baixos de endotoxinas**, mas ao mesmo tempo deve ser **capaz de diferenciar entre concentrações relevantes e interferências**.
- O **elevado custo dos kits de MAT disponíveis** no mercado uma vez que, atualmente, eles são importados e ainda não existem opções nacionais disponíveis para a realização desse teste.
- **Estabelecimento de parâmetros essenciais para o ensaio**, como o modelo de regressão a ser utilizado para a curva padrão de LPS.
- **Estabelecimento das especificações para o produto**, levando em conta a diversidade de soros com diferentes concentrações e dosagens.

TIME DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO



Patricia Carneiro
Diretora



Rafael Silvestrin
Gerente



Juliana Galvão
Coordenadora



Caroline Perez
Supervisora



Adriana Andrade
Analista de P&D



Ana Maciel
Analista de P&D



Aline Lima
Analista de P&D



Cláudia de Souza
Analista de P&D



Debora Ferrarin
Analista de P&D



Deivid dos Anjos
Analista de P&D



Fabio Sato
Analista de P&D



Flavia Lopes
Analista de P&D



Iris Costa
Analista de P&D



Ursula de Oliveira
Analista de P&D



OBRIGADO!

debora.ferrarin@fundacaobutantan.org.br

fabio.sato@fundacaobutantan.org.br

pd.da@butantan.gov.br

**FUNDAÇÃO
BUTANTAN**
Gestão é uma ciência

I **INSTITUTO
BUTANTAN**
A serviço da vida

S **SÃO PAULO**
GOVERNO DO ESTADO
SÃO PAULO SÃO TODOS