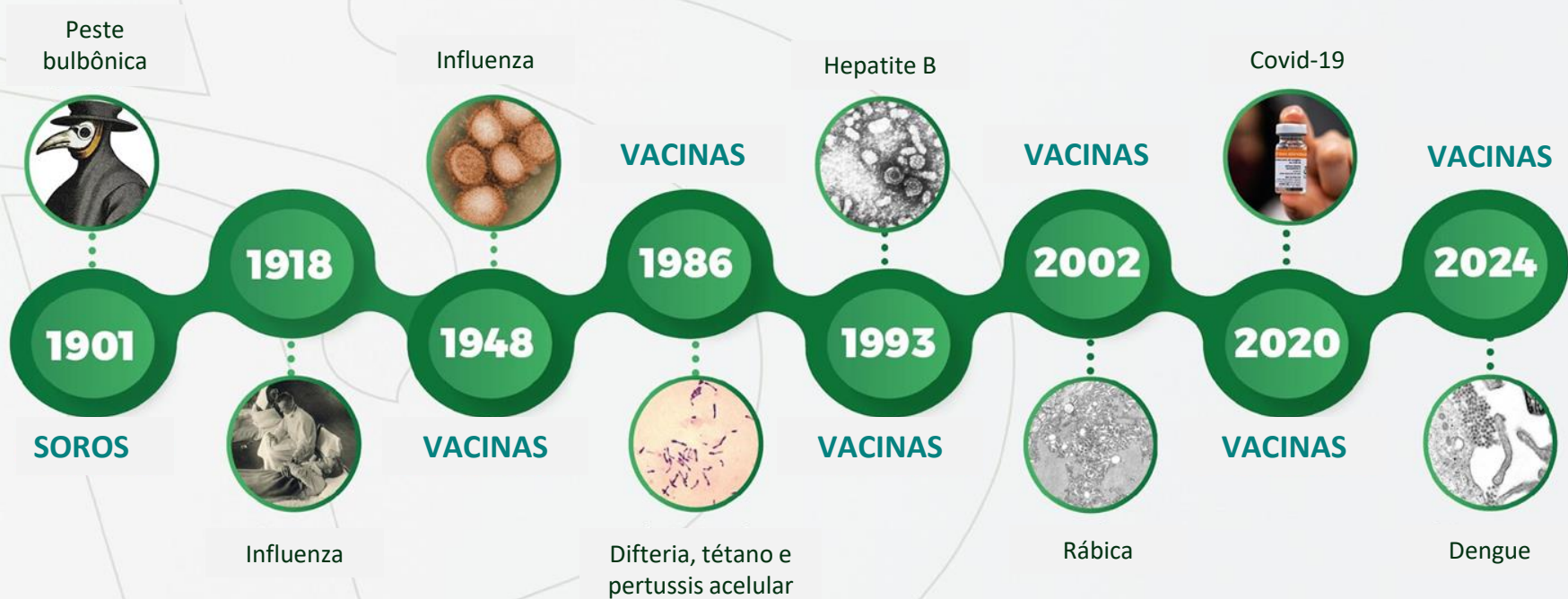


# IMPLEMENTAÇÃO DO MAT

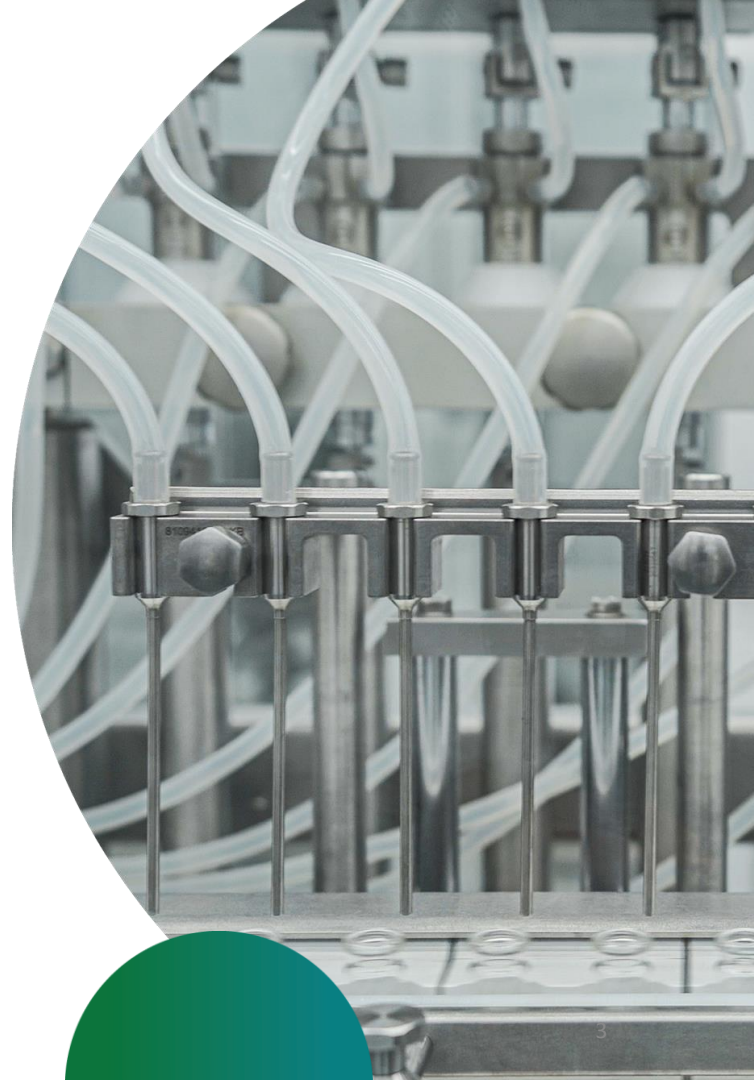
Análise de soros hiperimunes

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  
 antiaracnídeo (*Loxosceles*, *Phoneutria* e *Tityus*)  
 antilonômico



## Antitoxina

antidiftérico  
 antitetânico  
 antibotulínico AB (bivalente)  
 antibotulínico E



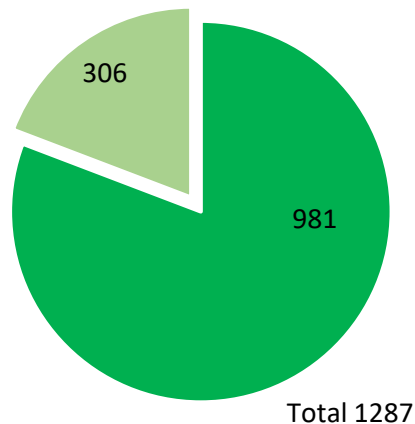
## Antiviral

antirrábico

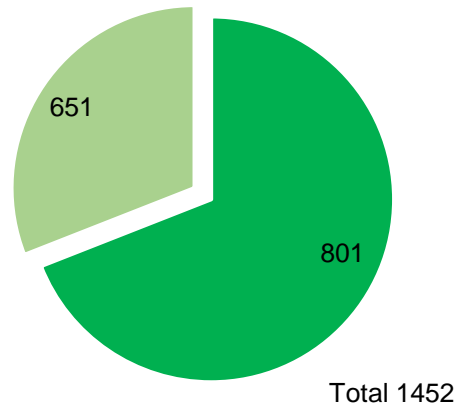
# TESTE DE PIROGÊNIO

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

2022



2023



- 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:  $CV \leq 20\%$  ✓

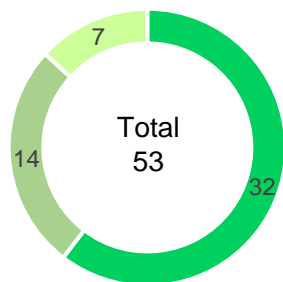
Capítulo 2.6.30 da European Pharmacopoeia e a RDC 166/2017 da ANVISA (Agência Regulatória Brasileira).

# CONCLUSÃO

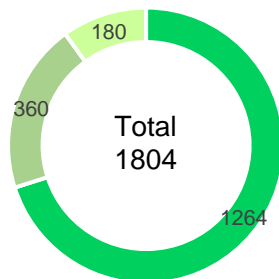
O **MAT** foi considerado **validado** e **adequado** para implementação no Controle de Qualidade para **análise de pirogênio em soros hiperimunes**.

# TESTE DE ATIVAÇÃO DE MONÓCITOS (MAT)

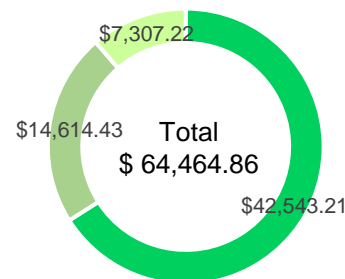
Número de testes



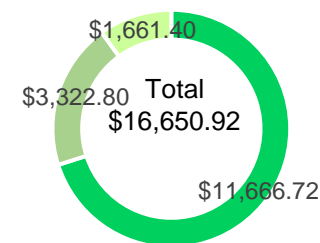
Horas Analista



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](mailto:debora.ferrarin@fundacaobutantan.org.br)

[fabio.sato@fundacaobutantan.org.br](mailto:fabio.sato@fundacaobutantan.org.br)

[pd.da@butantan.gov.br](mailto:pd.da@butantan.gov.br)

**FUNDAÇÃO  
BUTANTAN**  
Gestão é uma ciência

 **INSTITUTO  
BUTANTAN**  
A serviço da vida



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