

# Aplicabilidade do Teste de Ativação de Monócitos em soros hiperimunes

Gustavo M. C. Lopes, Ronald S. Silva, Renata N. C. Nundes

## INTRODUÇÃO

Pirogênicos são substâncias metabolizadas por microrganismos que podem ativar mecanismos que induzem a febre no ser humano. Em bactérias gram-negativas essa substância é a endotoxina, enquanto que em bactérias gram-positivas, fungos e vírus há os chamados pirogênicos não-endotoxina (NEPs), como o ácido lipoteicóico, lipoproteínas e peptidoglicanos. Os pirogênicos, principalmente quando em produtos injetáveis, podem desencadear quadros como febre, alterações vasculares e podem levar a óbito, se tornando assim um problema de saúde pública.

A avaliação de pirogênicos em produtos injetáveis se faz necessária para garantir a qualidade e segurança para o uso em humanos e, na Farmacopeia Brasileira, o modelo preconizado é, além do Teste de Pirogênio em Coelhos (RPT), o Teste de Endotoxina Bacteriana (BET), porém esse método identifica a presença apenas de endotoxinas. Assim, o Teste de Ativação de Monócitos (MAT) surge como um potencial e vantajoso método alternativo. O seu uso, além de não utilizar animais, ainda apresenta a vantagem de indicar a presença não só de endotoxinas como também a de NEPs.

Além disso, a Resolução Normativa CONCEA nº 45, de 22 de Outubro de 2019 reconhece o MAT como método alternativo para avaliação da contaminação pirogênica em produtos injetáveis, uma vez que o método foi validado internacionalmente e possui aceitação regulatória, sendo publicado como uma monografia na Farmacopeia Europeia. A resolução do CONCEA estabeleceu um prazo de até 5 anos para substituição obrigatória do método *in vivo* (RPT), pelo método alternativo (MAT).

Os soros hiperimunes são produtos injetáveis e, dessa forma, necessitam de uma avaliação do controle da qualidade para verificar a presença ou não de pirogênicos. O Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), sendo referência nacional, recebe diversos soros para avaliação e liberação dessas amostras.

## OBJETIVOS

O objetivo principal do trabalho é avaliar a aplicabilidade do Teste de Ativação de Monócitos na avaliação da contaminação pirogênica de soros hiperimunes e comparar seu desempenho frente ao Teste de Pirogênio em Coelhos, a fim de realizar a completa substituição de testes em animais em produtos de interesse sanitário.

## METODOLOGIA

Amostras de soros hiperimunes antiaracnídico, antidiftérico, antibotulínico e antilonômico recebidos no INCQS entre os anos de 2021 a 2023, e que foram testadas por RPT serão reavaliadas, após obtenção de licença junto ao Comitê de Ética em Pesquisa, pelo método do MAT.

Com o MAT já validado para uso em soros hiperimunes, será realizado o método qualitativo com sangue total humano fresco e a dosagem de IL-1 $\beta$ . O resultado do ensaio é avaliado através da liberação dessa interleucina e, comparativamente com o controle positivo, é feita uma medição indireta de pirogênicos, com dados expressos em Unidade Equivalentes de Endotoxina (UEE/mL).

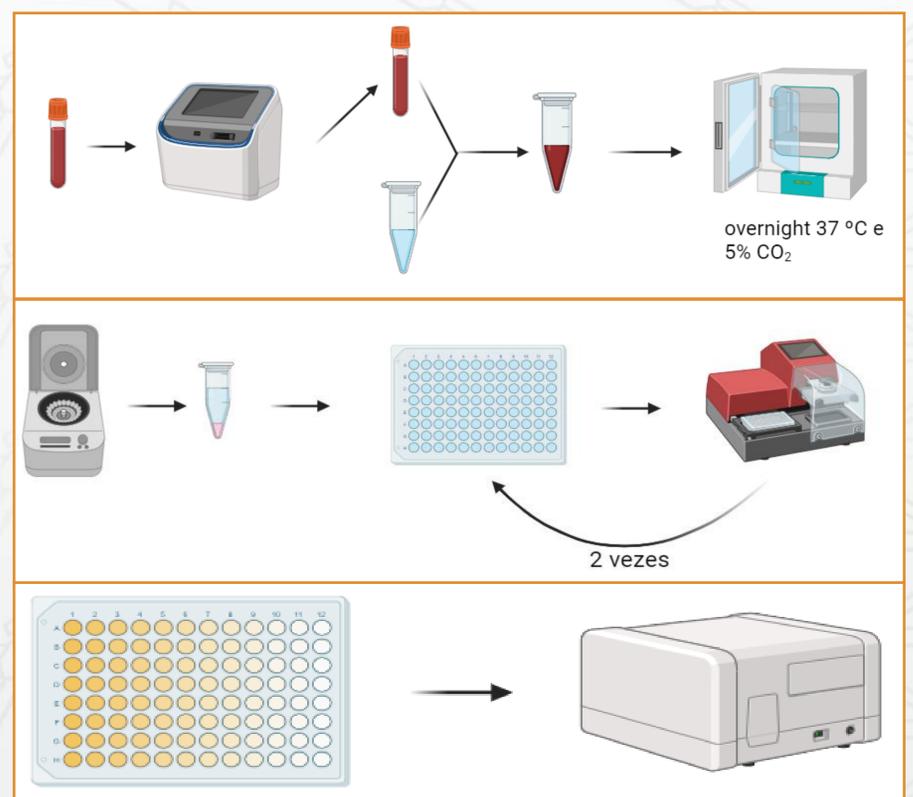


Figura 1: Ilustração resumida das etapas Teste de Ativação de Monócitos

## RESULTADOS ESPERADOS

De acordo com a literatura, é esperada uma maior sensibilidade do Teste de Ativação de Monócitos em relação ao Teste de Pirogênio em Coelhos, uma vez que em uma única análise o MAT é capaz de detectar a presença de pirogênicos, mesmo em produtos que são duvidosos para o RPT e necessitam de repetição com mais animais.

## REFERÊNCIA

- Silva, C. C. da, Presgrave, O. A., Hartung, T., Moraes, A. M. de, & Delgado, I. F. (2016). Applicability of the Monocyte Activation Test (MAT) for hyperimmune sera in the routine of the quality control laboratory: Comparison with the Rabbit Pyrogen Test (RPT). *Toxicology in Vitro*, 32, 70-75. DOI: 10.1016/j.tiv.2015.12.004.
- Daneshian, M., von Aulock, S., & Hartung, T. (2009). Assessment of pyrogenic contaminations with validated human whole-blood assay. *Nat Protoc*, 4(12), 1709-1721. DOI: 10.1038/nprot.2009.159.
- CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. RESOLUÇÃO Nº 45, DE 22 DE OUTUBRO DE 2019. 22 set. 2019.

## AGRADECIMENTOS

