

Nova Alternativa para Produção de Soro Anti-elapídico Utilizando Veneno Irradiado

Ed Carlos Santos e Silva e Patrick Jack Spencer
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN

INTRODUÇÃO

O soro anti-elapídico brasileiro é produzido com uma mistura de 50% de veneno de *M. frontalis* e 50% de veneno de *M. corallinus* como imunógeno. Estudos indicam que o soro resultante não neutraliza o veneno de algumas espécies deste gênero ¹. Além disso, o baixo rendimento de veneno e as dificuldades de manutenção destas serpentes em cativeiro dificultam a produção de soro, não suprimindo a demanda nacional. Assim, um método alternativo para a produção de soro anti-elapídico nacional seria de grande valor e urgência. Vários autores têm mostrado que os venenos de elapídeos brasileiros contêm toxinas com um elevado grau de homologia com as de suas congêneres australianas. Além disso, demonstrou-se que o soro comercial anti-*Notechis* neutraliza o veneno de *Micrurus fulvius* norte-americana ², sugerindo que venenos de serpentes australianas poderiam ser utilizados para produzir anticorpos que neutralizam o veneno de elapídeos brasileiros. A alta letalidade do veneno leva a óbito uma parcela significativa dos animais soroprodutores, o que compromete a produção de soro. Uma opção para tal problema poderia ser a redução da toxicidade pelo uso da radiação ionizante ^{3, 4, 5, 6}. Estudos têm demonstrado que a irradiação de venenos e toxinas promove uma diminuição significativa da sua toxicidade com preservação da imunogenicidade.

OBJETIVO

O presente trabalho tem por objetivo avaliar

a possibilidade do uso do veneno de serpentes australianas, após irradiação, como alternativa para a produção de soro anti-elapídico nacional.

METODOLOGIA

O soro anti-elapídico australiano polivalente foi produzido pela CSL Limited (Austrália). O veneno de *Micrurus frontalis* e o soro anti-elapídico brasileiro foram adquiridos no Instituto Butantan (São Paulo / SP). O soro polivalente foi doado pela Venom Supplies Pty. Ltd. (Tanunda, Austrália). A reatividade cruzada foi testada por Western-blot (Fig. 1) e ELISA (fig. 2), e a capacidade neutralizante por soroneutralização em camundongos BALB-c machos inoculados com uma solução pré-incubada com concentrações decrescentes (fator de diluição de 1,5) de soros anti-elapídicos brasileiro ou australiano com 5 doses letais 50% (5 DL₅₀) de veneno de *Micrurus frontalis* (Tabela 1).

RESULTADOS

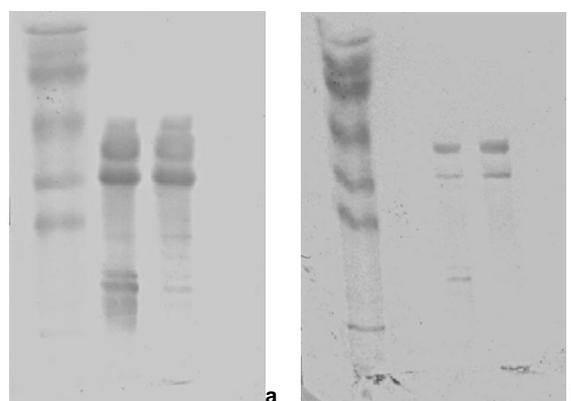


Figura 1 - Western-blot: Veneno total de *Micrurus frontalis* não denaturado e denaturado, respectivamente em ambos a) Utilizando o soro nacional antielapídico, e b) utilizando o soro antielapídico australiano.

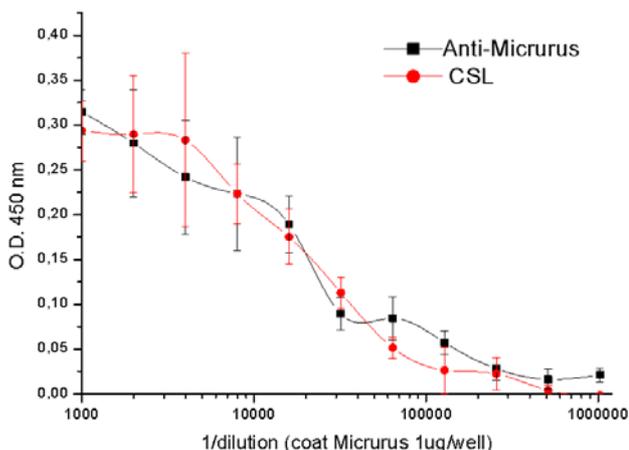


Figura 2 – Ensaio imunoenzimático (ELISA): do veneno de *M. frontalis* com o soro anti-elapídico brasileiro (em preto) e com soro anti-elapídico australiano polivalente (em vermelho).

TABELA 1 – Soroneutralização *In vivo*. Inoculação de veneno de *Micrurus frontalis* (5 DL50) pré-incubado com soro brasileiro (1 a 4) ou australiano CSL (5 a 8), (+) Controle positivo inoculado apenas com veneno de *Micrurus frontalis* e (-) controle negativo inoculado apenas com solução salina

Grupo	Veneno/animal (µg)	Soro (Diluição)	Salina (µl)	Óbitos
1	110µg	Puro		0/5
2	110µg	1:1,5		0/5
3	110µg	1:2,25		0/5
4	110µg	1:3,375		0/5
5	110µg	Puro		0/5
6	110µg	1:1,5		0/5
7	110µg	1:2,25		0/5
8	110µg	1:3,375		0/5
+	110µg	0	300µl	2/3
-	0µg	0	200µl	0/2

CONCLUSÕES

Os dados obtidos evidenciam a existência de homologia entre os dois venenos, com um nível elevado de reatividade cruzada entre os soros. Além disso, os ensaios preliminares de soroneutralização em camundongos sugerem níveis similares de proteção para ambos os soros. Outras investigações vão se concentrar na neutralização cruzada entre soro polivalente Australiano e o veneno de outras espécies

de *Micrurus*, também naquelas cujo veneno não é neutralizado pelo soro brasileiro, e vice versa, devido a escassez de veneno de *Micrurus*. As serpentes australianas utilizadas para a produção de soro polivalente se reproduzem com mais facilidade, são mais fáceis de manusear e produzem maiores quantidades de venenos do que as corais brasileiras. Conclui-se que o veneno de serpentes australianas tem o potencial de substituir o veneno de *Micrurus* brasileiras na produção de soro anti-elapídico, sendo uma melhoria atraente para a produção do soro. O presente estudo evidenciou a capacidade neutralizante do soro polivalente australiano frente ao veneno de coral. Em uma próxima etapa, os estudos imunológicos serão refinados, visando identificar os venenos australianos mais promissores, para então iniciar os estudos de irradiação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]Tanaka, G.D.; Furtado, M.F.D.; Portaro, F.C.V.; Sant'Anna O.A. & Tambourgi, D.V. *PLoS-Neglected Tropical Diseases*, 4, p.1-12, 2010.
- [2]Wisniewski, M.S.; Hill, R.E.; Havey, J.M.; Bogdan, G.M.; & Dart, R.C. *Journal of Toxicology*, 41, p. 7-10, 2003.
- [3]Murata, Y. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 1988.
- [4]Guarnieri, M.C. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 1992.
- [5]Nascimento, N; Seebart, CS; Francis, B; Rogero, JR; Kaiser, II. *Toxicon*. v. 34 (1),p.123-131, 1996.
- [6]Spencer, P.J. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2000.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

CNPq