

“Impulsando el interés y desarrollo de la ciencia, tecnología, innovación y calidad en Paraguay”

## FINANCIAMIENTO DE BECAS DE INVESTIGACIÓN (SEGUNDA CONVOCATORIA)

### ESTANCIA CIENTÍFICA BINV02-174: PRODUCCIÓN DE ANTIVENENOS Y CONTROL DE CALIDAD DE VENENOS USADOS EN LA MANUFACTURA DE INMUNOGLOBULINAS NEUTRALIZANTES

Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC)

Adolfo Borges – borges.adolfo@cedic.org.py / borges.adolfo@gmail.com

## RESUMEN

La Estancia Científica BINV02-174 tuvo como objetivo obtener adiestramiento en las metodologías sugeridas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) e implementadas en el Instituto Vital Brazil, uno de los cuatro laboratorios productores de sueros contra fauna tóxica del Brasil, para la producción y control de calidad de inmunoglobulinas neutralizantes presentes en antivenenos terapéuticos. Los accidentes en humanos por mordedura de serpientes tóxicas son causantes de elevada morbilidad y mortalidad en Paraguay, problema que afecta especialmente a los estratos socio-económicos más bajos. Los antivenenos disponibles en Paraguay son importados y han sido elaborados contra poblaciones de serpientes no endémicas, por lo que cabe la posibilidad que la fauna local produzca componentes tóxicos con antigenicidad única, lo cual precisaría el diseño de antivenenos ajustados a su biodiversidad, permitiendo autosuficiencia en la producción de estos inmunobiológicos. La elaboración de antivenenos específicos para el Paraguay requiere de la implementación de métodos de evaluación toxicológica de los venenos de importancia médica con el fin de asegurar su adecuada neutralización por inmunoglobulinas presentes en plasma de animales inmunizados. Así mismo, la producción de nuevos antivenenos requiere de un proceso de validación basado en estándares internacionales, que al igual que los métodos toxicológicos, son reglamentados por la OMS) y seguidos por todas las instituciones productoras de antídotos a nivel global. En vista de que no existen antecedentes en el país sobre la toxicología de venenos de ofidios y la fabricación de antídotos antiofídicos, se recibió entrenamiento en (1) evaluación de la letalidad de venenos, (2) determinación de la potencia neutralizante de antivenenos, (3) mantenimiento de caballos y en los procesos para inmunizar los animales mediante inyección de soluciones del veneno emulsificadas en adyuvante, con posterior sangría y separación del plasma hiperinmune, (4) en el fraccionamiento del plasma hiperinmune mediante digestión con pepsina, termocoagulación y precipitación con sulfato de amonio, a fin de producir fragmentos de IgG anti-toxina neutralizantes (F(ab)<sub>2</sub>), y (5) en la concentración de los faboterápicos producidos mediante la técnica de ultrafiltración tangencial, y en su envasado bajo condiciones de alta bioseguridad. Por último, se transfirieron los conocimientos obtenidos a la Dirección General de Vigilancia para la Salud, del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, mediante el dictado de conferencia. Se espera que a corto plazo este adiestramiento permita sentar las bases para una próxima producción de inmunobiológicos contra fauna venenosa en Paraguay.

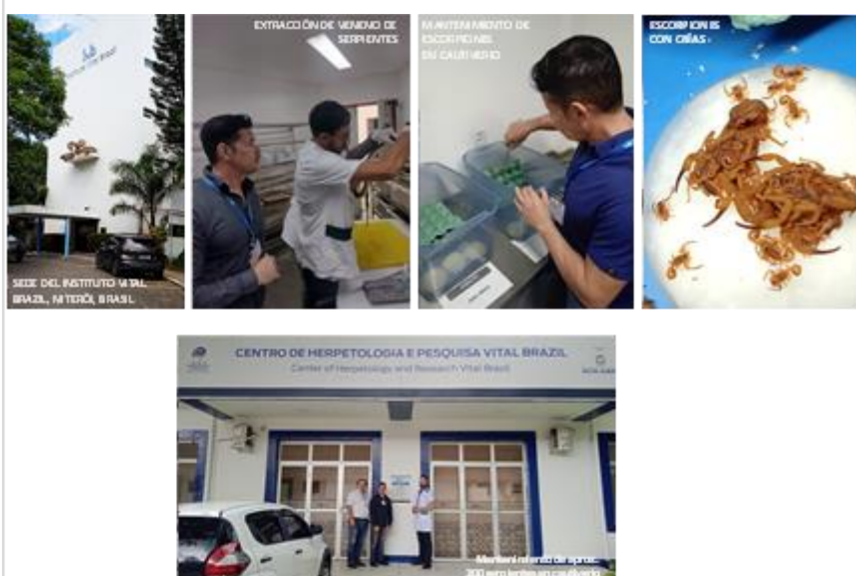
### OBJETIVOS

1. Adoptar las metodologías empleadas en el Instituto Vital Brazil (IVB) para el ensayo preclínico de la neutralización de antivenenos antiofídicos terapéuticos sobre actividades toxicológicas de venenos de serpientes.
2. Adoptar las metodologías empleadas en el IVB para la inmunización de equinos con venenos de serpiente.
3. Adoptar las metodologías empleadas en el IVB para el procesamiento de plasma equino hiperinmune con la finalidad de purificar inmunoglobulinas antiofídicas neutralizantes.
4. Adoptar las metodologías empleadas en el IVB para el control de calidad del antiveneno antiofídico finalmente preparado.
5. Presentar los resultados obtenidos durante la estancia de investigación a las autoridades nacionales de Salud a cargo de la problemática del Ofidismo.

### APORTES DE LA INVESTIGACIÓN

El accidente en humanos producido por el contacto con fauna tóxica es un problema de salud pública en Paraguay, cuyo tratamiento depende de antivenenos importados. En vista de la posible divergencia geográfica en toxicidad de los venenos de especies locales y considerando eventuales restricciones de acceso a inmunobiológicos extranjeros, se hace necesario asimilar tecnologías de producción y control de calidad de antivenenos antiofídicos generados en instituciones productoras reconocidas en la región que operen bajo condiciones de buenas prácticas de manufactura y siguiendo las regulaciones de la Organización Mundial de la Salud para la producción de antivenenos antiofídicos, a fin de garantizar a corto plazo la autosuficiencia del país en la producción de antivenenos poliespecíficos ajustados a su biodiversidad.

El entrenamiento recibido permitió asimilar las tecnologías de producción de inmunoglobulinas anti-toxina neutralizantes, estandarizadas con venenos y antivenenos de referencia en el Instituto Vital Brazil (IVB), para su futura implementación en Paraguay, a través del ajuste de parámetros críticos a las características toxicológicas de los venenos de las especies locales de importancia médica.



### ACTIVIDADES REALIZADAS

- 1.1. Determinación de la letalidad de venenos animales.
- 1.2. Determinación de la potencia neutralizante de antivenenos.
- 2.1. Entrenamiento en el mantenimiento de caballos usados en la producción de suero antiofídico y en los procesos de sangrado e inmunización.
- 3.1. Entrenamiento en purificación de inmunoglobulinas antiofídicas y en las etapas de control de calidad de procesos asociados.
- 3.2. Entrenamiento en concentración de inmunoglobulinas antiofídicas neutralizantes.
- 4.1. Entrenamiento en el control de calidad, envasado y sellado del producto final que corresponde al antiveneno antiofídico terminado.
- 5.1. Presentación a la Dirección General de Vigilancia de la Salud (DGVs, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social) de los resultados obtenidos durante la estancia de investigación en el IVB.



### RESULTADOS OBTENIDOS

1. Se obtuvo adiestramiento en las técnicas para la determinación de la letalidad de venenos (DL<sub>50</sub>) y el cálculo de la potencia neutralizante de antivenenos (DE<sub>50</sub>), mediante inyección intraperitoneal en ratones de dosis de venenos o mezclas veneno/antiveneno.
2. Se recibió entrenamiento en el mantenimiento de caballos y en los procesos para inmunizar los animales mediante inyección de soluciones del veneno emulsificadas en adyuvante, con posterior sangría y separación del plasma hiperinmune.
3. Se obtuvo entrenamiento en el fraccionamiento del plasma hiperinmune mediante digestión con pepsina, termocoagulación y precipitación con sulfato de amonio, a fin de producir fragmentos de IgG anti-toxina neutralizantes (F(ab)<sub>2</sub>).
4. Se obtuvo adiestramiento en la concentración de los faboterápicos producidos mediante la técnica de ultrafiltración tangencial, y en su envasado bajo condiciones de alta bioseguridad.
5. Se transfirieron los conocimientos obtenidos a la Dirección General de Vigilancia para la Salud, del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, mediante el dictado de conferencia.

### FRACCIONAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS NEUTRALIZANTES



### CONCLUSIÓN

La elaboración de antivenenos específicos para el Paraguay requiere de la implementación de métodos de evaluación toxicológica de los venenos de importancia médica con el fin de asegurar su adecuada neutralización por inmunoglobulinas presentes en plasma de animales inmunizados. Así mismo, la producción de nuevos antivenenos requiere de un proceso de validación basado en estándares internacionales, que al igual que los métodos toxicológicos, son reglamentados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y seguidos por todas las instituciones productoras de antídotos a nivel global. En vista de que no existen antecedentes en el país sobre la toxicología de venenos de ofidios y la fabricación de antídotos contra fauna venenosa, ambas metodologías fueron asimiladas y transferidas al Paraguay desde el Instituto Vital Brazil, una de las cuatro instituciones productoras de antídotos en Brasil, la cual cumple con las especificaciones de producción de la OMS. El entrenamiento en estas metodologías, empleando venenos y antivenenos de referencia, permitió la comprensión y puesta en práctica de los protocolos establecidos por la OMS en ese sentido, a fin de sentar las bases para una próxima producción de inmunobiológicos contra fauna venenosa en Paraguay.

### VISIÓN Y PLANES FUTUROS

Los resultados de la estancia permitirán la implementación en el CEDIC de las metodologías asimiladas en el IVB, en el marco de la línea de investigación “Prospección y producción biotecnológica de medicamentos de origen químico y/o biológicos a través de estudios experimentales y preclínicos” que incluye la producción biotecnológica de antivenenos para la autosuficiencia del Paraguay en producción de inmunobiológicos, en conjunto con las autoridades de Salud del país. Las metodologías a implementarse contribuirán con la formación de recursos humanos en el área, mediante el desarrollo de trabajos de grado y posgrado por estudiantes de instituciones académicas nacionales.

**“Esta estancia de investigación fue cofinanciada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con recursos del FEEI”**