

SORO ANTIAPÍLICO

Do desenvolvimento aos ensaios clínicos

As abelhas são capazes de picar apenas uma única vez. Ao contrário das vespas, isso ocorre porque logo após a penetração, o ferrão é preso na pele da vítima devido à sua estrutura farpada.

Um dos maiores desafios na produção de anticorpos por procedimentos de imunização dos cavalos é a falta de imunogenicidade de várias das principais toxinas do veneno.

As abelhas são insetos sociais que vivem em comunidades hierarquicamente bem organizadas. Estes insetos têm fornecido, ao longo da história da humanidade, vários produtos como mel, cera, pólen, geleia real e propólis. Além disso, são responsáveis por cerca de 80% da polinização de importantes culturas, tais como frutas, legumes, oleaginosas, plantas ornamentais, medicinais, entre outras.

No Brasil, em outubro de 1957, 26 enxames de abelhas africanas escaparam acidentalmente de um apiário na cidade de Rio Claro, interior de São Paulo, iniciando uma das maiores migrações de uma espécie já vistas no planeta Terra, com uma taxa de expansão de 300 a 500 km por ano.

O sucesso das abelhas africanizadas nas Américas não aconteceu por acaso, e sim por uma combinação de fatores ecológicos e genéticos, que lhes proporcionaram maior aptidão física e capacidade adaptativa em comparação às abelhas nativas. Neste sentido, podemos citar taxas reprodutivas mais elevadas; um ciclo de desenvolvimento mais curto (ou seja, as abelhas operárias levam 19 a 20 dias, em vez de 21, e as rainhas levam 14 dias, em vez de 16 dias para amadurecer); maior produção/abundância de zangões, taxas mais altas de enxameamento (realocação

forçada de colônias em caso de escassez de alimentos); maiores taxas de formação de enxame (expansão e reprodução natural das colônias, que se dá 6 a 12 vezes por ano em caso de abundância de alimentos); menores necessidades de armazenamento de mel, pois a produtividade é alta; resistência às doenças, e menor seletividade ao escolher novos locais para abrigar o enxame .

As abelhas africanizadas são mais defensivas do que as demais, o que significa maior propensão em atacar a partir de um pequeno estímulo, recrutando também um maior número de abelhas que coacitam a uma distância maior da colmeia do que o habitual, insistindo assim em perseguir intrusos por um longo período de tempo.

Ainda, no caso de picadas, estas são capazes de liberar volumes maiores de veneno. Devido a todas estas características, ficaram conhecidas mundo afora como killer bees ou abelhas assassinas.

Devido à incidência significativa de picadas de abelha no Brasil, este envenenamento tornou-se notificação compulsória e representa um grande problema de saúde pública em nosso País, em especial na região Sudeste, onde o número de óbitos supera todos os demais acidentes por animais peçonhentos.





O tratamento ideal contra os graves efeitos tóxicos do veneno seria o antiveneno. Entretanto, até o presente momento, não existem antivenenos específicos disponíveis comercialmente.

Em 2000, 1.440 casos e três mortes foram relatadas. A partir de 2006, este acidente passou a ser de notificação obrigatória e registrou 4.671 casos com 13 óbitos.

Este número cresceu substancialmente, chegando a 16.988 casos com 48 óbitos no ano de 2017. Apesar desse aumento impressionante na incidência e na mortalidade, muitos especialistas acreditam que esses números permanecem subnotificados, principalmente, devido ao fato de a causa mortis, muitas vezes, ser fruto de algum efeito secundário ao envenenamento como a falência renal. O gráfico abaixo demonstra esse crescimento.

O ferrão das abelhas é originário da evolução do aparelho ovipositor, que pode ser dividido funcionalmente em duas partes: a primeira é uma estrutura quitinosa muscular, que suporta e permite a penetração do ferrão e subsequente inoculação de veneno; a segunda é uma porção glandular responsável pela produção, armazenamento e distribuição do veneno pela abelha.

As abelhas são capazes de picar apenas uma única vez. Ao contrário das vespas, isso ocorre porque logo após a penetração, o ferrão é preso na pele da vítima devido à sua estrutura farpada.

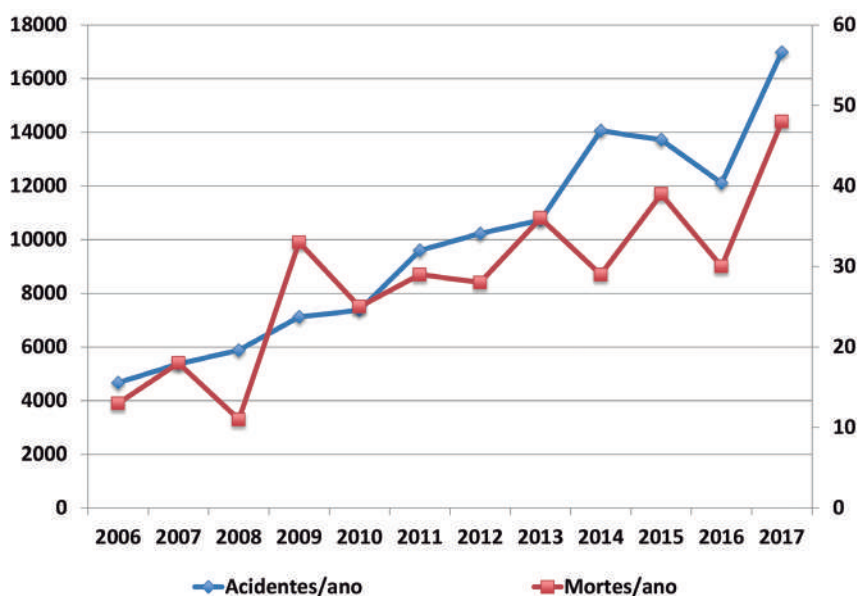
O ferrão, a musculatura e o saco de veneno são extraídos do abdômen da abelha, levando à sua morte após algumas horas. Devido a esse processo, a musculatura do ferrão continua a bombear, por mais alguns minutos, o restante do veneno remanescente no saco de veneno para dentro da pele da vítima.

Quando o ataque é maciço e causado por centenas ou milhares de abelhas, pode haver envenenamentos graves e o desenvolvimento da síndrome da resposta inflamatória sistêmica, caracterizada pela liberação de uma quantidade maciça de mediadores pró-inflamatórios, incluindo diversas citocinas, causando assim uma resposta inflamatória aguda que desencadeia distúrbios em todo organismo da vítima.

O componente principal veneno das abelhas africanizadas é a melitina, correspondendo de 50-60% em peso seco. Esta atua sinergicamente com a fosfolipase A2 (PLA2), uma enzima que constitui aproximadamente 11% do peso seco do veneno. Portanto, além da melitina ser o principal componente letal presente no veneno, tem a sua ação potencializada pela PLA2, agindo como agente citolítico, resultando em danos teciduais, como a rabdomiólise, além da hemólise intravascular.

Desta maneira, estes são os principais elementos tóxicos responsáveis pelos danos, causando a morte em muitos casos.

Gráfico 1. Distribuição temporal do número de casos relatados para picada de abelha africanizada no Brasil entre 2006 e 2017 (Fonte SINAN/MS).



O veneno ainda é constituído por diversos outros componentes tais como apamina, histamina hialuronidase, dopamina, noradrenalina, 5-hidroxitriptamina (5-HT), entre outros mais de 100 componentes, sem relevante importância médica. Isso porque diversas drogas existentes atualmente no mercado podem amenizar a ação destas moléculas.

A fisiopatologia deste envenenamento é complexa devido à interação entre os diversos componentes tóxicos, os possíveis órgãos-alvo e a resposta imune da vítima. Em geral, as picadas de abelhas podem evoluir para dois aspectos clínicos diferentes:

- **Anafilaxia:** esta reação ocorre, geralmente, em indivíduos alérgicos ao veneno de abelhas, pois uma única picada pode desencadear reações alérgicas generalizadas graves, com possibilidade de evolução para a morte. Assim, é sabido que essas consequências não estão relacionadas à toxicidade do veneno devido à pequena quantidade inoculada, e sim ao processo imunealérgico;
- **Envenenamento:** causado pela ação tóxica direta do veneno, que ocorre quando há um número substancial de picadas

- geralmente mais de 200 em indivíduos adultos. Nesse caso, o volume de veneno é suficiente para causar danos aos diversos órgãos e sistemas. Lesões diretas nos sistemas cardiovascular, muscular, neurológico, dermatológico, metabólico, hematológico, respiratório e renal podem levar à morte.

O envenenamento grave causado por múltiplas picadas se assemelha ao trauma agudo, que evolui para a síndrome da resposta inflamatória sistêmica.

O envenenamento causado por picadas de abelhas africanizadas pode resultar em manifestações clínicas leves, moderadas ou graves, dependendo, principalmente, do número de picadas e da sensibilidade individual ao veneno.

Podemos definir um ataque maciço de abelhas como quando o número de picadas é superior a 50. A dose letal média (LD50) em humanos para picadas de abelhas foi estimado em 19 picadas/kg, ou entre 500 e 1.400 picadas.

O acidente mais frequente é aquele em que um indivíduo que não é sensível ao veneno é acometido por algumas picadas. Nesses casos, o quadro clínico é limitado à reação inflamatória local, ocorrendo pápulas eritematosas, dor e calor. Na maioria dos casos, essa situação é resolvida sem a participação do médico. A idade, o peso, as comorbidades e os cuidados médicos adequados ao paciente também podem influenciar na gravidade.

Outra apresentação clínica é aquela em que um indivíduo previamente sensibilizado a um ou mais componentes do veneno manifesta hipersensibilidade imediata. Isso pode ser desencadeado por apenas uma picada e requer intervenção médica imediata. Em geral, o quadro clínico se manifesta por edema da laringe e broncoespasmo, acompanhado de choque anafilático.

A terceira apresentação é aquela causada por inúmeras picadas. Este tipo de acidente, geralmente, ocorre em campo aberto ou quando o enxame está migrando. É caracterizado pela inoculação de uma grande quantidade de veneno causada por centenas ou milhares de picadas, podendo levar um ser humano ou mesmo um cavalo de 500 kg ao óbito em minutos.

O tratamento inicial contra o envenenamento massivo de abelhas segue o mesmo curso de um caso grave de hipersensibilidade. As reações tóxicas alérgicas e sistêmicas são difíceis de diferenciar, principalmente nos primeiros minutos, e o choque anafilático é o perigo mais imediato para o paciente.

No entanto, uma vez estabelecido que um evento de hipersensibilidade não esteja presente, deve ser iniciado o tratamento específico. O tratamento ideal contra os graves efeitos tóxicos do veneno seria o antiveneno. Entretanto, até o presente momento, não existem antivenenos específicos disponíveis comercialmente.

Um dos maiores desafios na produção de anticorpos por procedimentos de imunização dos cavalos é a falta de imunogenicidade de várias das principais toxinas do veneno.

Diante deste enorme desafio, um grupo de pesquisadores do Centro de Estudos de Venenos e Antipeçonhentos (CEVAP), da



O envenenamento grave causado por múltiplas picadas se assemelha ao trauma agudo, que evolui para a síndrome da resposta inflamatória sistêmica.

A neutralização dos outros componentes do veneno, o protocolo clínico foi baseado no uso de drogas comerciais, e na experiência de mais de 50 anos no atendimento de pacientes no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP).

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu/SP (FMVZ) e da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), UNESP, que contou também com a colaboração de um pesquisador do Instituto Butantan, desenvolveu um novo antiveneno para tratamento de múltiplas picadas de abelhas africanizadas *Apis mellifera*.

Diante da dificuldade de produção de um soro específico contra o veneno, nos moldes tradicionais, os inventores propuseram a elaboração de um antiveneno específico contra apenas a melitina e a fosfolipase A2 (PLA2).

Estes componentes foram purificados por modernas técnicas biotecnológicas, concentrados e então injetados nos animais soroprodutores, gerando assim um elevado título de anticorpos específicos contra estes principais componentes tóxicos. Além disso, um robusto protocolo clínico foi desenvolvido para apoiar esta nova proposta.

A neutralização dos outros componentes do veneno, ou seja, aqueles que causam, principalmente, dor e processos imunológicos, o protocolo clínico foi baseado no uso de drogas comerciais, e na experiência de mais de 50 anos no atendimento destes pacientes no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP). Este protocolo encontra-se disponível para ser utilizado por todos os serviços médicos.

Esta abordagem é tratada pela literatura mundial como uma terapia de antiveneno de nova geração. Após inúmeras pesquisas acadêmicas e publicações em revistas científicas de impacto, o projeto foi apoiado pelo Instituto Vital Brazil (IVB), com o objetivo de se preparar lotes de produtos

acabados que possibilitassem a realização de ensaios clínicos visando o futuro registro na Anvisa. Desta maneira, nasceu o Soro Antiapílico (Figura 2 ao lado), o primeiro tratamento específico para picadas de abelhas africanizadas do mundo.

Para a realização dos ensaios clínicos, houve necessidade de se atender à RDC Anvisa, no.187, de 8 de novembro de 2017, que estabelece os requisitos mínimos para o registro dos Soros Hiperimunes, visando garantir a qualidade, a segurança e a eficácia destes imunobiológicos.

Diante desta iniciativa, o projeto recebeu um aporte financeiro do Departamento de Ciência e Tecnologia (DECIT), da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE), do Ministério da Saúde. Foram investidos recursos financeiros para a realização de um ensaio clínico em 20 indivíduos adultos, de ambos os sexos, acometidos por várias picadas de abelhas africanizadas *Apis mellifera*. Foi um estudo clínico multicêntrico, não randomizado, de fase aberta I/II para avaliar a segurança, confirmar a menor dose eficaz do soro antiapílico e determinar o perfil farmacocinético e proteômico dos participantes.


Este estudo finalizou-se no ano de 2019 e foi realizado na Unidade de Pesquisa Clínica (Upeclin), da Faculdade de Medicina da UNESP, no município de Botucatu/SP, e na Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), mais especificamente no Hospital Nossa Senhora da Conceição, no município de Tubarão/SC.

Para tanto, foram estudados 20 participantes, com idades variando entre 23 e 77 anos, sendo 13 do sexo masculino e 7 do feminino procedentes de Botucatu



Fig. 2. Soro Antiapílico

e de Tubarão. O tempo decorrido entre o acidente e o atendimento médico variou entre horas e 19 dias. O número de picadas variou entre 7 e 2.000. Dezesesseis participantes receberam duas ampolas, três receberam seis ampolas e um recebeu dez ampolas de soro antiapílico.

Os resultados preliminares permitiram concluir que o produto investigado é seguro para as doses propostas, e tem eficácia promissora, pela melhora clínica e queda na venenemia. O ensaio clínico fase III deverá ser multicêntrico para confirmar a eficácia do produto. Em caso afirmativo poderá se requerer o registro do produto junto à Anvisa, ajudando assim a salvar dezenas de vidas em nosso País. 

∴ Rui Seabra Ferreira Jr. é Membro Titular da Academia de Ciências Farmacêuticas do Brasil/Academia Nacional de Farmácia. CEVAP-UNESP/Botucatu/ SP.

E-mail: rui.seabra@unesp.br

∴ Benedito Barraviera é Membro Titular da Academia de Ciências Farmacêuticas do Brasil/Academia Nacional de Farmácia.