

PREPARAÇÃO DE SORO ALBUMINA EQÜINA POR FRACIONAMENTO SULFATO DE AMÔNIO — ETANOL — CALOR.

José Roberto MARCELINO *
Rosalvo GUIDOLIN *

RESUMO: A Técnica de Schneider foi adaptada para o aproveitamento do soro albumina eqüina, como subproduto derivado do fracionamento de plasmas eqüinos destinados à preparação de soros hiperimunes heterólogos. A adaptação consistiu na separação prévia da albumina, por precipitação com 32% de sulfato de amônio das outras proteínas, seguida de ultrafiltração da solução de albumina. A técnica proposta produziu albumina relativamente pura, com um rendimento aproximado de 90% em relação à albumina original.

UNITERMOS: Soro albumina eqüina, soros hiperimunes heterólogos.

INTRODUÇÃO

Na preparação de soros específicos, antipeçonhentos ou antitóxicos, de origem eqüina (heterólogos), grandes volumes de solução de albumina são produzidos e desprezados. O aproveitamento desse soro albumina eqüina (SAEq.) como subproduto para utilização laboratorial ou em clínica veterinária é possível pelo processo de fracionamento com álcool etílico e aquecimento a 68°C, segundo a técnica de Schneider modificada^{1,2}, como proposto neste trabalho. As experiências foram feitas com até 20 litros de solução inicial de albumina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado plasma hiperimune de cavalos produtores de antiveneno botrópico, tratado de acordo com o esquema abaixo.

* Instituto Butantan — Seção de Concentração e Fracionamento de Soros.
Recebido para publicação em 27.12.1990 e aceito em 21.8.1991

PLASMA EQÜINO HIPERIMUNE diluído a 1/2 em água destilada, precipitação com 32% P/V de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sólido, a pH 7,0, agitação de 200rpm durante 1 hora, repouso de 4 horas. Temperatura ambiente.

CENTRIFUGAÇÃO — em centrífuga Alfa-Laval de fluxo contínuo

PRECIPITADO — produção de soro hiperimune

SOBRENADANTE — albumina e outras proteínas em solução

ULTRAFILTRAÇÃO — em cassette "Pelicon" até eliminação do $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

ADIÇÃO DE ETANOL 98°GL — até concentração de 9% V/V e 0,004 M v/v de ácido caprílico, sob agitação de 200rpm. Ajuste de pH a 6,5 com NaOH 20%

AQUECIMENTO EM BANHO-MARIA — 68°C durante 30 minutos

AJUSTAR o pH a 4,4 com HCl 2,5M

FILTRAÇÃO EM PAPEL WATHMAN n° 50

PRECIPITADO — descartado

SOBRENADANTE

ULTRAFILTRAÇÃO — para concentração da albumina. Correção do pH a 7,0 com solução de NaOH a 20%

FILTRAÇÃO ESTERILIZANTE — em membrana 0,22 μ "Millipore".

Os recipientes e hastes de agitação eram de aço inoxidável. As temperaturas nas diferentes fases foram as ambientes (ao redor de 25°C) a não ser quando especificamente mencionadas.

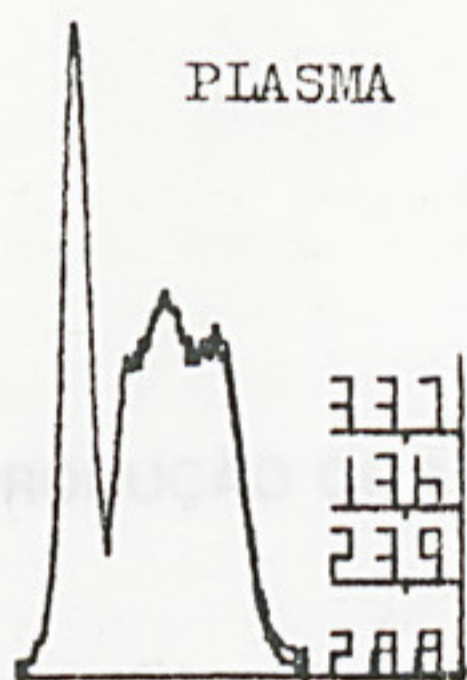
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antes da concentração por ultrafiltração, obteve-se uma solução de cor amarelo-palha, transparente, contendo aproximadamente 90% da albumina original. Nesta fase, a concentração de SAEq foi 1,6%, resultado esse plenamente concordante com aquele obtido por Schneider (1,2) quando utilizou plasma humano fracionado diretamente com 9% de álcool, a 68°C, seja, sem uma precipitação prévia com o sulfato de amônio. Em experiências realizadas com plasma eqüino hiperimune, seguindo exatamente a técnica descrita por Schneider, foi verificada uma grande dificuldade na filtração da albumina, fato também citado^{1,2} pelo autor, sugerindo a necessidade de introdução no sistema de um filtro com características especiais (filtração aluvial). No entanto, com o fracionamento prévio pelo sulfato de amônio, grande parte de outras proteínas é eliminada, condição esta que favorece substancialmente a filtração após a precipitação alcoólica a quente.

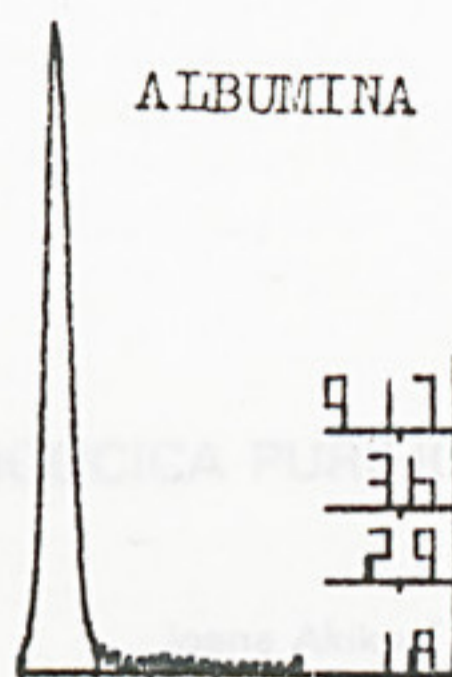
A pureza da SAEq preparada conforme o esquema é apresentada no eletroferograma II, podendo, em seguida, ser submetida a técnicas cromatográficas que melhorem a sua pureza; à concentração por ultrafiltro ou, ainda, à secagem.

Eletroferograma I plasma antibotrópico hiperimune

Eletroferograma I
Plasma antitoxigênico hiperimune



Eletroferograma II da SAEq. com 1,6% de albumina após tratamento.



AGRADECIMENTO

Ao Dr. Marco A. Stephano pelas provas de eletroforese.

ABSTRACT: The Schneider's technique was adapted in order to utilize the equine serum albumin as a sub-product, arise from the equine plasma fractionation destined to produce heterologous hyperimmune sera. The adaptation consisted in the previous albumin isolation after 32 per cent ammonium sulphate precipitation of the other proteins and followed by the ultrafiltration of the albumin solution.

KEYWORDS: Equine serum albumin, heterologous hyperimmune sera.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CURLING, J. M. Separation of plasma proteins — Pharmacia Fine chemicals AB, UPPSALA, 1983.
2. SCHNEIDER, W., WOLTER, D., MCCARTY, L. J. Technical improvement in heat-ethanol isolation of serum albumin. *Blut*, v. 33, p. 275 — 280, 1976.

