

BIOTECNOLOGIA E BIOSSEGURANÇA NA PRODUÇÃO DE VACINAS E KITS DIAGNÓSTICO

Biossegurança no desenvolvimento de vacinas e kits de diagnóstico

José Procópio Moreno SENNA¹

Empresas voltadas para a produção de imunobiológicos (vacinas, anticorpos monoclonais e imunodiagnóstico) precisam estabelecer uma ampla gama de medidas de biossegurança, capazes de garantir a segurança de seus funcionários, do público (objetivo final) e do próprio produto nas suas várias etapas.

Os laboratórios de pesquisa devem estar habilitados ao manuseio de patógenos. Podemos destacar os cuidados com o armazenamento/conservação, bem como as condições de crescimento/cultura, cuidados com o manuseio e o descarte do patógeno em questão.

O desenvolvimento de vacinas e testes de imunodiagnóstico inicia em escala laboratorial, onde o objetivo é a demonstração da eficácia do processo em desenvolvimento – para vacinas: a capacidade de impedir o desenvolvimento do patógeno e, para testes de diagnóstico – a capacidade de detectar o patógeno com a maior sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade possível.

Durante o *scale-up* – etapa de escalonamento intermediário, – as normas de biossegurança empregadas devem estar de acordo com o preconizado pelas normas oficiais internacionais, a fim de assegurar que o processo de produção ou o produto final possam ser comercializados em outros países. Esta etapa serve para a produção de lotes do produto que serão utilizados nos testes de validação.

Desenvolvimento de vacinas:

Desde a primeira tentativa de obtenção de uma vacina pelo processo de variação, ocorrido na China em 1000 AC até os dias atuais, temos uma ampla variedade de estratégias vacinais, entre as quais podemos subdividir em vacinas de primeira e segunda geração, destacando:

Primeira geração:

- vacinas inativadas;
- vacinas atenuadas;
- vacinas de subprodutos inativados (toxóides);
- vacinas de subunidades (polissacarídeo capsular);

Segunda geração: tecnologia do DNA recombinante:

- vacinas de proteínas recombinantes;
- vacinas de DNA e,
- vacinas de vetores bacterianos geneticamente modificados - OGMs (*E. coli*, *Shigella* sp. auxotróficas, *Lactococcus lactis*).

¹ Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Biomanguinhos/Fiocruz; email: jprocopio@bio.fiocruz.br

Apesar da variedade de opções vacinais que temos atualmente, todas as vacinas partilham uma fase em que os cuidados de biossegurança devem ser cuidadosamente observados: a fase inicial, onde temos o patógeno viável – estado em que o mesmo é capaz de causar doença.

Seja qual for o tipo de abordagem no desenvolvimento de uma vacina, as condições de manuseio do patógeno devem seguir rigorosamente as normas de biossegurança estabelecidas de acordo com a classificação de risco do patógeno; de modo a garantir a segurança do operador.

Desenvolvimento de vacinas em modelos animais: critérios para os níveis de biossegurança para animais vertebrados

Caso sejam usados animais experimentais, a administração da instituição deverá fornecer:

- instalações adequadas,
- equipe para cuidar dos animais;
- estabelecer práticas que assegurem níveis apropriados para qualidade, segurança e cuidados com o meio ambiente.

As instalações para animais de laboratório consistem de *um tipo especial de laboratório*.

Como princípio geral, os níveis de biossegurança indicados para o trabalho envolvendo agentes infecciosos *in vivo* e *in vitro* são similares.

Comitê de ética

Todo o protocolo de experimentação animal deve ser submetido à análise pelo Comitê Institucional de Tratamento e Uso de Animais (No caso da Fiocruz, temos a CEUA – Comitê de ética para o uso de animais) onde devem

ser observados os seguintes aspectos:

- descrição detalhada do protocolo de imunizações;
- cuidados para evitar sofrimento desnecessário dos animais;
- condições de isolamento de animais infectados;
- como será feito o descarte de carcaças e
- observação das normas de biossegurança.

Toda a vacina que tenha sua eficácia comprovada na etapa do desenvolvimento (escala laboratorial), deverá ter sua escala de produção aumentada para a obtenção de lotes piloto (scale-up). Durante esta mudança de escala, as condições de biossegurança devem ser observadas e adaptadas para esta nova escala de produção. Estes lotes têm a finalidade de permitir a realização de ensaios clínicos de fase I a III, visando a validação junto aos órgãos oficiais de saúde e vigilância sanitária (ANVISA), que permitirão a comercialização do produto final. Os ensaios de fase clínica também tem por finalidade assegurar a (bio)ssegurança (ausência de toxicidade, efeitos colaterais) do produto para o consumo da população.

Desenvolvimento de kits de imunodiagnóstico

Os kits de diagnóstico de patógenos causadores de doenças infecciosas podem ser subdivididos em dois grupos: aqueles que fazem a detecção direta do agente infeccioso e aqueles que fazem a pesquisa de anticorpos, fornecendo-nos perfis sorológicos, cuja interpretação nos levará a estimar o estágio em que a doença se encontra ou se o paciente em questão é apenas portador de

memória imunológica contra o patógeno em questão.

As etapas iniciais no desenvolvimento de testes de imunodiagnóstico podem ser muito semelhantes às observadas no desenvolvimento de vacinas, bem como os cuidados de biossegurança a serem observados. Ressalta-se novamente um maior cuidado no manuseio inicial onde o patógeno encontra-se viável e capaz de causar doença.

No caso de diagnóstico direto – identificação do patógeno (antígenos de superfície), pode-se trabalhar com o desenvolvimento de anticorpos monoclonais, que poderão ser empregados em testes tipo ELISA, testes de aglutinação com partículas inertes (látex) entre outros.

Para a geração de anticorpos monoclonais é necessário proceder à imunização em modelo animal para a seleção dos mesmos. Durante este processo é importante observar como será feita a imunização. Todos os processos vacinais anteriormente descritos podem ser utilizados para esta finalidade e as condições de biossegurança a serem observadas dependerão do processo de imunização empregado.

Para os testes baseados em diagnóstico indireto – pesquisa de anticorpos - utiliza-se como antígeno proteínas imunogênicas, que podem ser obtidas diretamente do patógeno, inativado ou não, ou por tecnologia recombinante, onde as mesmas podem ser produzidas em sistemas heterólogos, a partir de bactérias, leveduras ou culturas de células.

A validação de um imunodiagnóstico requer uma etapa diferente das anteriormente observadas no desenvolvimento de

vacinas. Aqui os testes são validados frente a bancos de soros positivos e negativos analisados previamente por outros métodos de diagnóstico. Nesta etapa as condições de biossegurança são fundamentais para assegurar a integridade do operador. Deve-se ficar atento não somente a doença que está sendo investigada, mas a outras que podem estar presentes na coleção de soros. Por exemplo, um banco de soro para HIV pode também ter amostras soropositivas para hepatite C, citomegalovírus e outras doenças.

Biossegurança em kits de imunodiagnóstico para os usuários: Os kits a serem ter suas instruções descritas com a maior clareza possível. Quando houver a inclusão de controles positivos deve-se assegurar sempre que possível sua inocuidade.

Biomanguinhos: produção e desenvolvimento de vacinas e kits de imunodiagnóstico.

O Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) é a unidade técnico-científica da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) que produz e desenvolve imunobiológicos para atender às demandas da saúde pública. Sua linha de produtos é composta por vacinas, kits de reativos para diagnóstico laboratorial e biofármacos. Fundado em 1976, Bio-Manguinhos é uma referência no setor e ocupa posição de destaque no mercado. Atualmente, o Instituto é o maior fornecedor de imunobiológicos do Ministério da Saúde, suprindo 47% da demanda de vacinas do Programa Nacional de Imunizações (PNI)*.

BioManguinhos produz as seguintes vacinas:

- Febre amarela
 - Poliomielite
 - DTP e Hib
 - Meningite A e C
 - Sarampo, caxumba e rubéola.
 - Testes para imunodiagnóstico:
 - Dengue – EIE - IgM
 - Chagas – EIE e IFI (parasita fixado)
 - HIV 1 e 2 (teste rápido – imunocromatografia e fluxo lateral)
 - Leishmaniose visceral canina – EIE
 - Leptospirose EIE – IgM
- BioManguinhos - Desenvolvimento tecnológico:

Linha de Atuação**Alvos**

Vacinas	Meningite meningocócica, leptospirose, leishmaniose, pneumococos, hepatites, dengue, febre amarela, sarampo e rubéola, entre outros.
Reativos para diagnóstico	HIV, leishmaniose, leptospirose, dengue, doença de Chagas, malária, hepatites virais, diarreias virais, entre outros.
Biofármacos	Linfomas, hepatites virais, infecções por estafilococos, esclerose múltipla, anemias, entre outros

Um exemplo prático:

O desenvolvimento de uma vacina anti *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) empregando o patógeno inativado: Vantagens e desvantagens à luz da biossegurança.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Manual de segurança biológica em laboratório. Organização Mundial da Saúde, terceira edição. 2004.

Procedimentos para a manipulação de microrganismos patogênicos e/ou recombinantes na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), 2004.

BARROZO DA COSTA, M.F. E F. DA COSTA, M. A. **Biossegurança**

de OGM – saúde humana e ambiental. 2003.

FLEMING D. O. AND HUNT D.L. **Biological Safety – Principles and Practices**, 4th edition, ASM Press, 2006.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (www.anvisa.gov.br).

Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância em Saúde – Depto de Vigilância Epidemiológica.

Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia. 3^a ed., 2004.