

# BIOTECNOLOGIA E BIOSSEGURANÇA NA PRODUÇÃO DE VACINAS E KITS DIAGNÓSTICO

## Produção comercial de vacinas e kits de diagnóstico

Américo Martins CRAVEIRO<sup>1</sup>

As vacinas e kits de diagnóstico são importantes ferramentas para diagnóstico e prevenção de um grande conjunto de doenças que afetam a espécie humana e as espécies animais. Existem ainda diversos soros para tratamento, como os anti-ofídicos, anti-rábico e anti-tetânico. Ao conjunto de vacinas, kits de diagnóstico e soros denominamos produtos imunobiológicos.

Sempre que seja tecnicamente possível e os estudos epidemiológicos demonstrarem a importância de uma dada doença ou de um dado agente etiológico, a melhor forma de enfrentar o problema, é sem dúvida por medidas profiláticas.

Existem casos para os quais ainda não é possível, com o conhecimento científico disponível, ter uma vacina eficiente. Do mesmo modo que isso não é ainda viável contra o vírus HIV, analogamente na área veterinária não dispomos de vacinas eficientes contra tuberculose bovina, carrapatos que infestam bovinos ou cães, hemoparasitas, agentes causadores de mastite em gado de leite, etc.

Desse vasto universo de possibilidades, este trabalho abordará aspectos relevantes a considerar na produção de vacinas para uso veterinário.

É certo dizer que o desenvolvimento de vacinas para uso em animais segue as conquistas científicas e tecnológicas que pioneiramente foram alcançadas para a proteção da espécie humana.

Atualmente o uso de vacinas em animais pode ser dividido nas seguintes classes:

- Vacinas para animais de produção: aqui incluem-se vacinas aplicadas na forma injetável, típica para bovinos, suínos, ovinos e caprinos; vacinas injetáveis ou administradas na água, para peixes; vacinas administradas na água ou via aspersão, para aves
- Vacinas para animais de companhia, onde se incluem cães, gatos e eqüinos; são usualmente injetáveis, mas existem também de aplicação nasal.
- Vacinas para controle de animais silvestres que possam ser reservatório de microrganismos patogênicos ao homem, como é o caso da raposa em relação à raiva

Uma vacina é composta de diversos componentes:

- Antígeno: é responsável por promover a resposta imune no organismo a ser protegido. É muito comum uma vacina conter diversos antígenos, de modo que com um manejo simplificado dos animais, podemos deixá-los protegidos contra diversas doenças.
- Adjuvante: é uma substância, como hidróxido de alumínio ou saponina, que aumenta a resposta imune
- Conservantes ou estabilizantes: como por exemplo fenol e timerosal.

---

<sup>1</sup> Diretor de Gestão Tecnológica - Vallée S.A.

As vacinas podem ser classificadas como vivas ou inativadas. A vacina contra brucelose bovina, por exemplo, é uma vacina viva liofilizada. A grande maioria das vacinas são inativadas, como por exemplo contra aftosa, raiva, botulismo, leptospirose, etc.

No que tange à tecnologia podem ser classificadas como convencionais (raiva, aftosa) ou recombinantes; diversas tecnologias estão disponíveis ou em grande desenvolvimento para vacinas recombinantes, como: de DNA (encefalite eqüina), vetorial (cinomose), deletada (rinotraqueíte infecciosa bovina), de sub-unidade (doença de lyme), etc.

As vacinas disponíveis comercialmente para uso veterinário são para combate a doenças virais e bacterianas; quando se considera parasitas, ainda não verificamos produtos eficientes.

A produção industrial de vacinas envolve uma série de etapas que serão a seguir descritas. Para que se tenha uma produção eficiente, cada uma dessas etapas deve ser otimizada, para que o processo industrial resulte numa vacina com qualidade e preço competitivo.

1-Cepas: é essencial dispor-se de cepas eficientes, ou seja que sejam alto-produtoras dos antígenos de interesse. Essas estirpes devem passar por programas de melhoramento genético para serem cada vez mais eficientes.

É fundamental estruturar de modo adequado o Banco de Cepas, de modo a não perder as características requeridas dos microrganismos, visto que eles representam um patrimônio da empresa.

2-Cultivo em escala de bancada: nesta etapa estabelecem-se as melhores condições ambientais para o máximo crescimento celular ou de produção do antígeno de interesse (proteína).

As condições a serem otimizadas, a depender se o processo é conduzido na presença de oxigênio (aeróbio) ou na sua ausência (anaeróbio), são: temperatura, pH, potencial redox, concentração da fonte de carbono, concentração de macro-nutrientes, concentração de micro-nutrientes.

Algumas substâncias geradas no metabolismo micro-biano, ao longo do processo fermentativo também podem precisar ter suas concentrações controladas, pois podem ser fortes inibidoras dos processo; aqui inclui-se o amônio, o lactato, etc.

Para que se alcancem altas taxas de conversão dos substratos no produto desejado, o tipo de biorreator onde será conduzido o processo também pode ser um fator determinante da viabilidade do processo. Busca-se um comportamento cinético que assegure a máxima produção do produto de interesse, bem como que tal ocorra no menor tempo possível; isso é importante para que o volume dos equipamentos de produção, bem como o gasto com insumos sejam os menores possíveis, de forma a contribuir para o menor custo de produção possível.

Os biorreatores podem ser muito diferentes, principalmente quando se compara a produção das vacinas virais com as bacterianas. Biorreatores, dotados de sistemas de agitação são normalmente empregados para a produção de vacinas bacterianas.

A produção de vacinas virais é mais complexa, pois tem-se que

inicialmente produzir as células (de mamífero, tipo BHK, ou de insetos, como de *Spodoptera frugiperda*), para posteriormente infectar e promover a produção massiva de vírus. Diversos sistemas podem ser utilizados, desde biorreatores dotados de sistema de agitação, quando as células não precisam ficar ancoradas (caso da vacina anti-aftosa), ou sistemas ancorados (caso dos antígenos da vacina para proteção contra doenças do complexo respiratório/reprodutivo), como garrafas roller, bandejas (cell factories), cubos (cell cubes) e biorreatores com micro-carregadores.

### 3-Cultivo em escala industrial

Nesta etapa, faz-se ajustes do processo para que o aumento de escala efetuado não implique em perda de eficiência. Para tanto o próprio projeto do biorreator industrial deve ser feito mediante critérios adequados de escalonamento considerando relações geométricas, coeficientes de transferência de oxigênio, potência para agitação fornecida ao meio líquido por unidade de volume, etc.

### 4-Inativação do agente

Para vacinas inativadas é necessário proceder à inativação do agente, o que pode ser feito por via química ou térmica. Em ambos os casos é necessário determinar a cinética de inativação, de forma a ter uma vacina inócua.

### 5-Separação, purificação e concentração do produto

Não basta produzir bem os antígenos de interesse. É necessário que as operações unitárias utilizadas no processo sejam eficientes, para que não se

perca parte do antígeno nessas operações subseqüentes.

### 6-Formulação

Esta última etapa consiste em se adicionar o adjuvante e eventuais preservantes, de modo que a vacina tenha a máxima eficiência e seja estável por longos (tipicamente 2 anos) períodos de armazenamento. As condições de armazenamento são de 2 a 8°C

Existem vários tipos de adjuvantes comerciais utilizados em vacinas aquosas ou vacinas em emulsão. Alguns deles são de tal modo eficientes que pode-se obter a resposta imune desejada, mesmo com quantidades muito pequenas de antígenos; isto tem evidentemente um grande impacto no custo da vacina produzida.

### 7-Controle de qualidade

Os controles de qualidade são efetuados durante o processo de produção e também no produto final obtido.

Os controles de processo incluem o pH, confirmação da inativação, quantificação do antígeno e pureza (ou seja a ausência de outros microrganismos contaminantes).

No produto final faz-se o pH, aspectos visuais, esterilidade/pureza, inocuidade e teste de potência.

O teste de potência é feito através de métodos imunológicos:

-in vivo: realizados em animais de biotério (camundongos, cobaios e coelhos) e nas espécies-alvo para as quais a vacina é indicada.

-in vitro: ELISAs, soro-neutralização, Lf, ToBI, etc