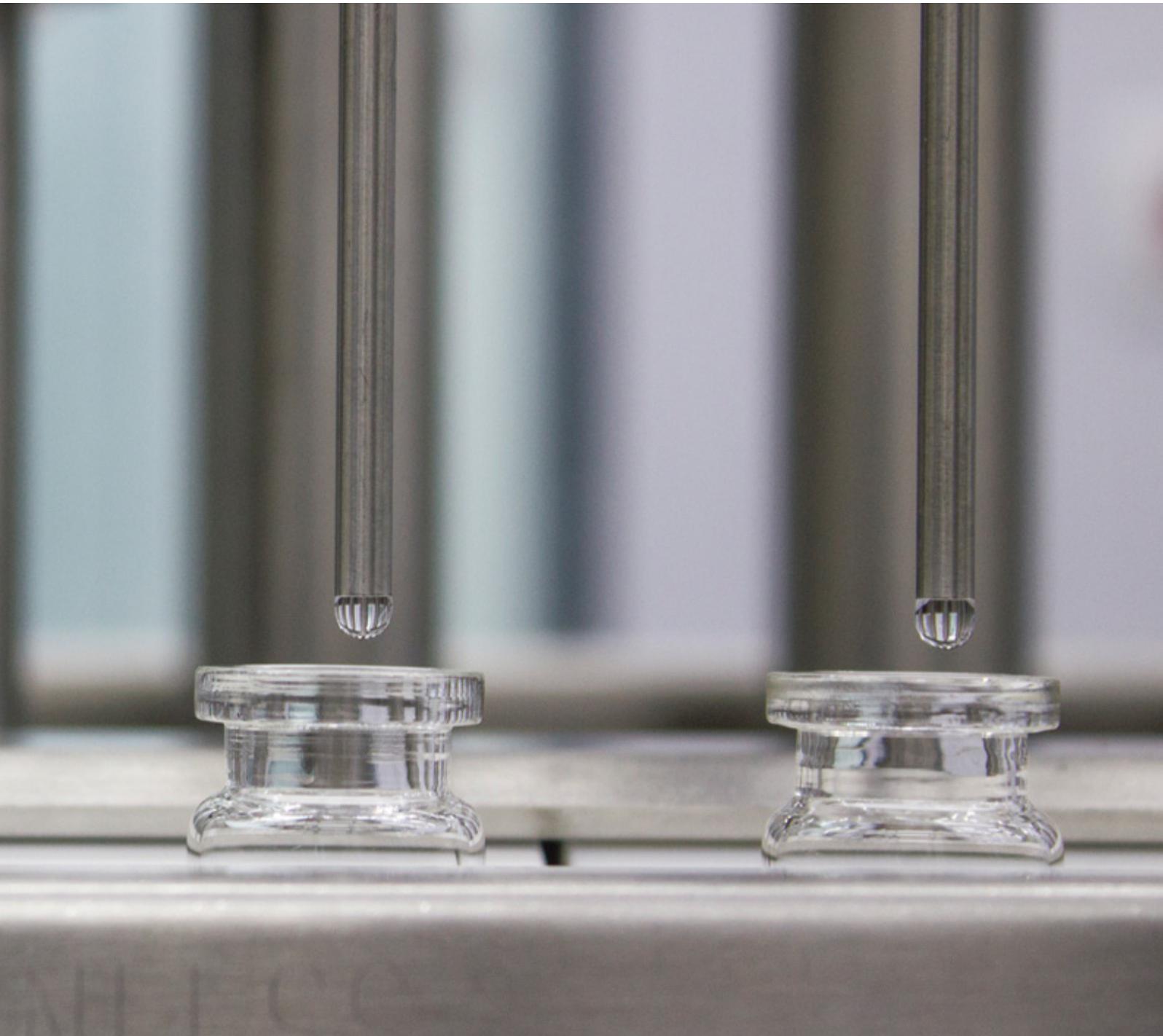


Soros e vacinas do Butantan



Soros e vacinas do Butantan

Instituto Butantan
São Paulo
2018

Soros e vacinas do Butantan / Organizado por Luciana M. Monaco; -
1.ed. - São Paulo: Instituto Butantan, 2018.

24 p.

1.Soros e vacinas 2. Instituto Butantan I. Título

Sumário

Soros hiperimunes	Histórico	6
	Onde encontrar	8
	Soros produzidos no Butantan	11
	A produção do Butantan	12

Vacinas	Histórico	14
	Vacinas produzidas no Butantan	23
	A produção do Butantan	24
	Produtores de vacinas no Brasil	26

Bibliografia	26
--------------	----

A produção de soros e vacinas, assim como o conhecimento associado a esse processo, segue as transformações da ciência contemporânea mais avançada, evoluindo constante e radicalmente há mais de um século. Nesse desenvolvimento, o papel da instituição pública de ciência se dá por meio de pesquisa, produção e inovação.

O Butantan, instituição dedicada à pesquisa em saúde pública e produção de imunobiológicos desde o início do século XX, busca contribuir com a divulgação desses temas aos mais diversos públicos.

A proposta deste material é abordar tópicos relacionados aos soros e às vacinas, destacando noções e conceitos básicos sobre a história, a produção e o desenvolvimento de imunobiológicos no Butantan.

Boa leitura!

O corpo humano está permanentemente sujeito a invasões de microrganismos ou substâncias estranhas a ele e para sua proteção dispõe de um sistema imune ou imunológico. O sistema imunológico é formado por um conjunto de órgãos e células que promovem a proteção e eliminação desses invasores, que podem ser vírus, fungos, bactérias, toxinas ou venenos constituídos por moléculas, geralmente proteínas, que são denominadas antígenos. Os antígenos ativam o sistema imune no combate às substâncias desconhecidas ao organismo.

O sistema de defesa humano possui dois tipos de imunidade: *inata e adquirida ou específica*. A *imunidade inata* é composta pelas barreiras mecânicas, como a pele, as mucosas, os pelos, os tecidos que formam o sistema respiratório, a saliva, o suor e a lágrima, configurando-se na primeira linha de proteção contra organismos estranhos.

Já a *imunidade adquirida ou específica* consiste na resposta do organismo direcionada a cada tipo de agente estranho (antígeno). Este tipo de resposta é uma ação complexa e surge na segunda fase de defesa, quando é desencadeada a chamada *imunidade humoral*, promovida pelas células de defesa denominadas linfócitos dos tipos B e T, produzidas na medula óssea. Na presença de um antígeno, os linfócitos B se diferenciam em plasmócitos e produzem uma proteína, o **anticorpo** ou **imunoglobulina** específica a este antígeno. Este anticorpo tem regiões em sua superfície que se ligarão ao antígeno para eliminá-lo. Os linfócitos B apenas iniciam esse processo de diferenciação e produção de anticorpos específicos, se houver um sinal proveniente dos linfócitos T.

Assim, a resposta humoral e a celular agem em conjunto, tornando a resposta imune mais eficiente. Além da eliminação dos invasores, a ativação do sistema imune específico produz as células de memória, que reconhecerão este organismo estranho (ou antígeno) em futuras infecções, desencadeando uma imediata resposta humoral.

Outro processo, similar ao da *imunidade adquirida*, acontece quando o organismo recebe uma vacina e é estimulado a produzir anticorpos. Esse método é denominado *imunização ativa*. Uma das vantagens desse tipo de imunização é ser duradoura, ou seja, mantém a proteção contra doenças e demais invasores por meio da rápida produção de anticorpos, garantida pela memória imunobiológica. No entanto, é preciso observar o tempo necessário entre o primeiro contato com o antígeno e a produção de anticorpos contra eles, para que a vacinação ocorra sempre antes da exposição ao patógeno (antígeno), garantindo assim a imunidade adequada.

Já a imunização *passiva* acontece quando há transferência de anticorpos de um organismo para outro, oferecendo uma proteção imediata, porém de curta duração. É o que acontece quando um organismo recebe um tratamento com soros *hiperimunes*, que no Instituto Butantan são produzidos em cavalos. Quando o soro é obtido a partir de anticorpos produzidos por animais imunizados é chamado de heterólogo. Uma vez purificados, dão origem os soros *hiperimunes* heterólogos, usados no tratamento curativo de picadas de cobra e outros animais, além de doenças infecciosas, como a difteria, o tétano e o botulismo.

Soros hiperimunes

Histórico

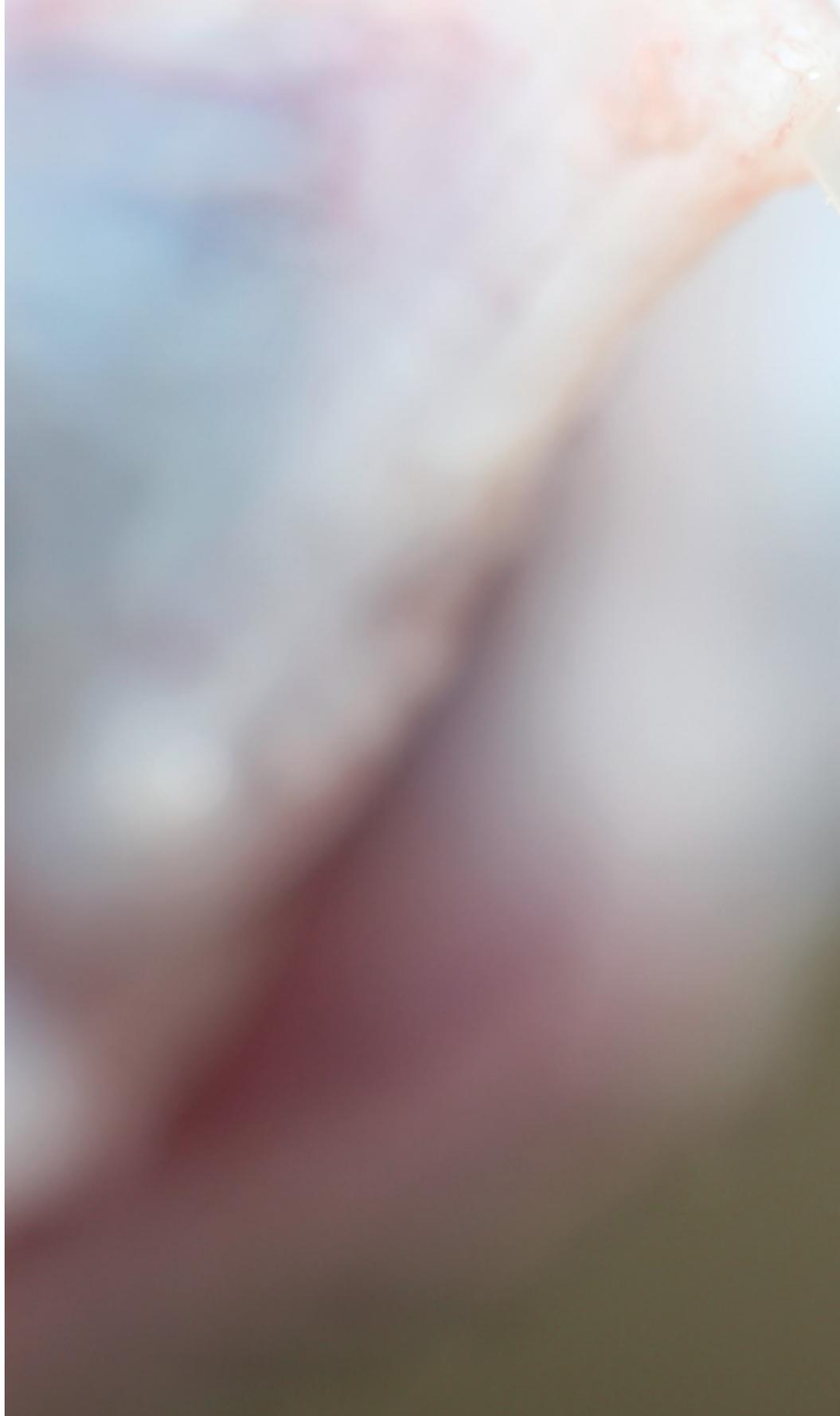
No Brasil, o pioneirismo no desenvolvimento de soros deve-se a Vital Brazil Mineiro da Campanha que iniciou os trabalhos de produção de soros antipestosos e antiofídicos em um pequeno laboratório criado oficialmente em 1901 como Instituto Soroterápico do Estado de São Paulo, posteriormente batizado como Instituto Butantan. A grande contribuição de Vital foi propor e validar a *especificidade do soro*, ou seja, para cada tipo de veneno deve haver um tipo de soro que, por sua vez, estaria relacionado à espécie da serpente.

Dessa forma, o Butantan atende, há mais de cem anos, as demandas de saúde pública, sendo responsável pela produção de treze tipos de soros *hiperimunes*, destinados ao Ministério da Saúde, que se encarrega de distribuir – por meio do Sistema Único de Saúde (SUS) – os produtos no território brasileiro de modo a garantir o acesso gratuito a todos os que necessitam de tratamento com *antivenenos*, *antitoxinas* e *soro antirrábico*.

A produção no Butantan

O termo soro designa qualquer imunobiológico produzido em animais e utilizado no tratamento de enfermidades provocadas pela ação do veneno de animais peçonhentos, por toxinas de agentes infecciosos, como os causadores da difteria, botulismo e tétano, ou ainda, na profilaxia pós-exposição ao vírus da raiva. Pode ainda ser classificado na categoria de *antiveneno* quando contém anticorpos neutralizantes do veneno de animais, como os soros antiofídicos, antiescorpionico e antiaracnido; em *antitoxina*, obtida de toxinas bacterianas, como o soro antitetânico, antidiftérico e antibotulínico; ou como *imunoglobulina antiviral*, no caso do soro antirrábico.

Para que um soro seja eficiente na neutralização dos efeitos tóxicos de um veneno animal ou agente infeccioso é necessário que ele contenha anticorpos específicos, dirigidos contra as principais toxinas responsáveis por seus efeitos.





A *hiperimunização* em cavalos para a produção do soro é realizada há mais de 100 anos. Algumas características justificam essa escolha: são animais dóceis e de fácil manejo, respondem bem à imunização, são de grande porte e, conseqüentemente, produzem uma quantidade abundante de anticorpos necessária à produção industrial de soros. Os cavalos têm acompanhamento veterinário contínuo e alimentação ricamente balanceada de forma a garantir que os processos de imunização e sangria não tragam prejuízos à sua saúde.

O processo de purificação do plasma para obtenção do soro é realizado em área industrial, utilizando um sistema fechado e automatizado, atendendo às exigências de boas práticas de fabricação e de biossegurança.

Todos os soros produzidos no Brasil têm apresentação na forma líquida e são conservados em temperatura adequada (+ 2 a 8 °C). O período de validade, considerando as condições de estocagem adequadas, é de dois a três anos a partir da data de fabricação.

A administração do soro deve ser específica de acordo com o tipo de envenenamento ou de doença. No caso dos antivenenos, a indicação deve ser feita independentemente do animal causador do acidente ter sido identificado ou não e, deve se basear na presença de manifestações clínicas. O tempo decorrido entre a indicação do uso do soro e o tratamento é fator prognóstico de fundamental importância.

O sucesso do tratamento depende também da administração da dose adequada, que varia de acordo com a gravidade do envenenamento ou da doença. Quando indicado, o número de frascos-ampolas não depende da idade ou peso corporal do paciente.

Uma vez estabelecida a quantidade de soro a ser administrada, esta deve ser dada em dose única, visando maior rapidez na neutralização do veneno ou toxina inoculado, tanto para adultos como crianças.

Onde encontrar

Não há venda comercial de soros no Brasil. Os laboratórios produtores oficiais fornecem seus produtos exclusivamente ao Ministério da Saúde e a definição dos locais de referência para aplicação de soros é de competência das Secretarias Estaduais de Saúde.

O Ministério da Saúde fornece aos hospitais que realizam atendimento aos acidentados por animais peçonhentos, de acordo com as notificações recebidas. Mais informações em: <http://portalsaude.saude.gov.br>.

No estado de São Paulo, o Centro de Vigilância Epidemiológica é o órgão responsável pela distribuição dos imunobiológicos aos hospitais e pronto socorros a serem utilizados na profilaxia da raiva humana, difteria, tétano e no tratamento dos acidentes por animais peçonhentos.

A Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo por meio do Centro de Vigilância Epidemiológica indica onde encontrar assistência: <http://www.cve.saude.sp.gov.br>.

O Hospital Vital Brazil do Instituto Butantan realiza atendimento 24 horas para acidentes por animais peçonhentos, além de prestar orientação via telefônica a profissionais de saúde. O endereço é Avenida Vital Brasil, 1500, Butantã, São Paulo, São Paulo e os telefones são (11) 2627-9528, 2627-9529, 2627-9530.



1. Cromatografia de troca iônica

2. Filtração ultramolecular

3. Concentração do soro





1. Centrifugação - etapa de purificação do plasma hiperimune

2. Tanques de purificação do plasma hiperimune

3. Formulação

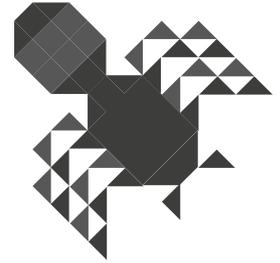
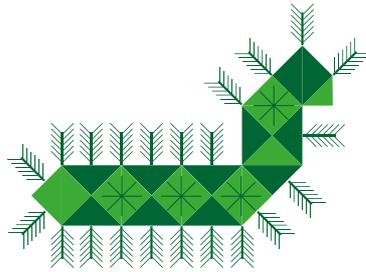
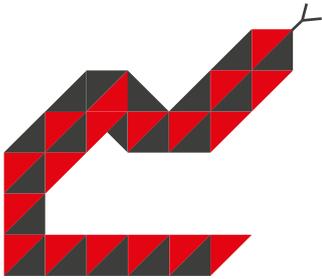


Soros produzidos pelo Instituto Butantan

Tipo de soro	Nome	Indicação
Antiveneno	Antibotrópico pentavalente	para acidentes com serpentes do gênero <i>Bothrops</i> , popularmente conhecidas como jararaca, jararacuçu, urutu, caíçaca, cotiara
	Anticrotálico	para acidentes com serpentes do gênero <i>Crotalus</i> , popularmente conhecida como cascavel
	Antielapídico bivalente	para acidentes com serpentes do gênero <i>Micrurus</i> , conhecidas popularmente como coral verdadeira
	Antibotrópico (pentavalente) e anticrotálico	para acidentes com serpentes do gênero <i>Bothrops</i> e do gênero <i>Crotalus</i>
	Antibotrópico (pentavalente) e antilaquético	para acidentes com serpentes do gênero <i>Bothrops</i> e do gênero <i>Lachesis</i> , conhecidas como surucucu pico-de-jaca
	Antiaracnídico (<i>Loxosceles</i> , <i>Phoneutria</i> e <i>Tityus</i>)	para acidentes com aranhas dos gêneros <i>Phoneutria</i> (armadeira), <i>Loxosceles</i> (aranha-marrom) e escorpiões do gênero <i>Tityus</i>
	Antiescorpiônico	para acidentes com escorpiões do gênero <i>Tityus</i>
	Antilonômico	para acidentes com lagartas do gênero <i>Lonomia</i>
Antitóxico	Antitetânico	para o tratamento de tétano
	Antidiftérico	para o tratamento da difteria
	Antibotulínico Tipo AB	para o tratamento do botulismo do tipo A e B
	Antibotulínico Tipo E	para o tratamento do botulismo do tipo E
Antiviral	Antirábico	para a profilaxia pós-exposição ao vírus da raiva

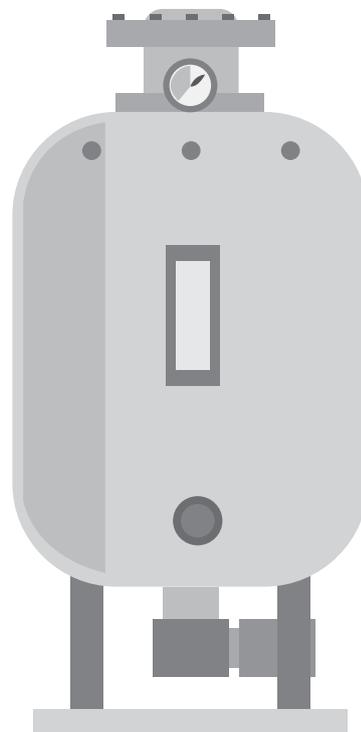
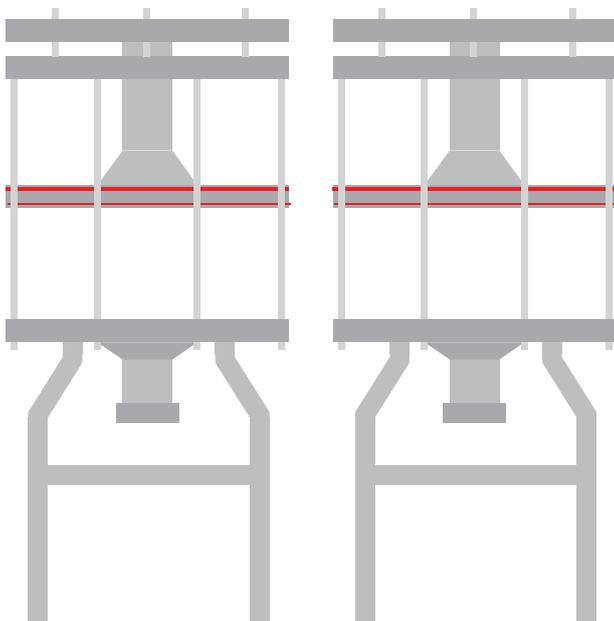
A produção de soros do Instituto Butantan

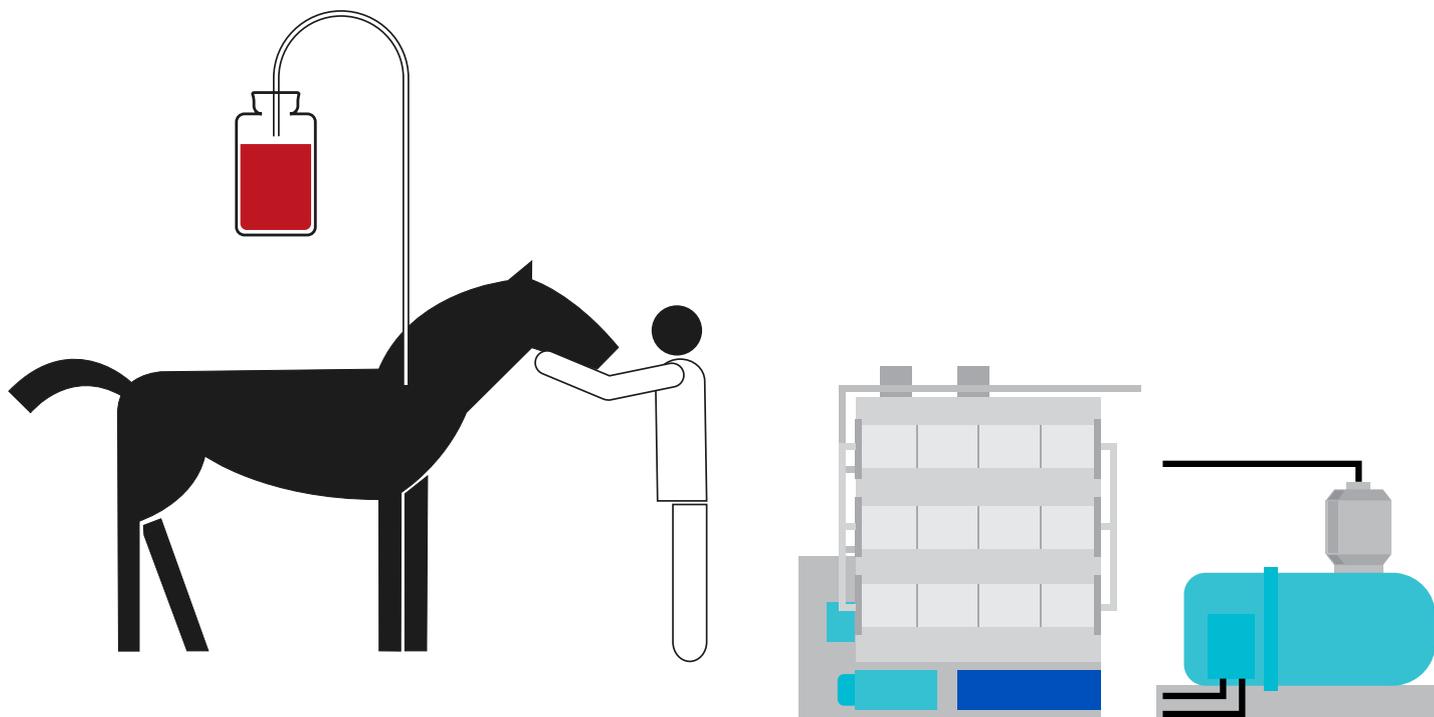
A produção de soros envolve um processo complexo e interdependente, cujas etapas são descritas a seguir:



1. *Obtenção de antígenos*: o Butantan possui biotérios para criação e manutenção de serpentes, escorpiões e aranhas, destinados à produção de venenos. Nas áreas de produção de vacinas, as toxinas de *Clostridium tetani*, *C. botulinum* e *Corynebacterium diphtheriae* são isoladas e purificadas. Da mesma maneira é obtido o vírus inativo da raiva. Todos esses elementos são os *antígenos* utilizados na imunização de cavalos.

2. *Hiperimunização*: seguindo cronogramas pré-estabelecidos, os antígenos são diluídos para serem injetados em cavalos, em pequenas doses e em intervalos que variam de acordo com o tipo de soro a ser produzido, de modo a estimular o sistema imune dos animais a produzir anticorpos específicos. Cada grupo de animal só recebe um tipo de antígeno.



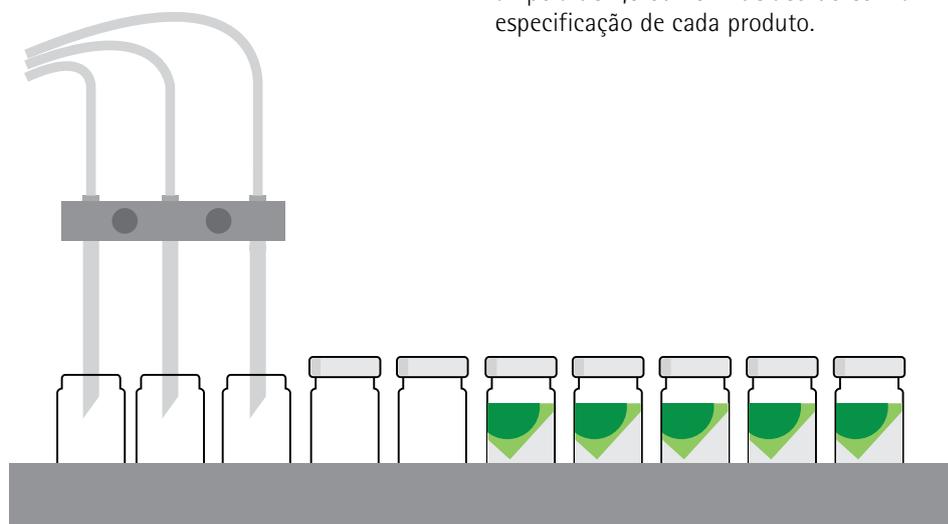


3. *Sangria*: depois de completado o ciclo de imunização, é realizada uma sangria exploratória na qual se retira uma amostra de sangue para medir o teor de anticorpos produzidos em resposta à administração do antígeno. Quando o teor de anticorpos estiver satisfatório, realiza-se a sangria definitiva, retirando-se cerca de dez litros de sangue de um cavalo, o que corresponde a aproximadamente 2% de seu peso total. Este volume é retirado em três etapas entre as sangrias.

A fase seguinte é a separação do sangue, na qual o plasma, que contém os anticorpos, é processado e as hemácias são devolvidas ao animal por *plasmaferese*, uma técnica desenvolvida no Instituto Butantan reduzindo os efeitos colaterais provocados pelas sangrias.

4. *Purificação*: o plasma é então submetido a um processo de purificação por técnicas físico-químicas, com o objetivo de isolar os anticorpos específicos, de modo a garantir um alto grau de pureza. Nas diferentes etapas envolvidas na produção, o soro é analisado por meio de testes de controle de qualidade. São avaliados a atividade biológica (potência neutralizante); a esterilidade; o pirogênio, além da realização de testes físico-químicos.

5. *Envase e acondicionamento*: os soros hiperimunes são envasados em frascos-ampola de 2,5 ou 10ml de acordo com a especificação de cada produto.



Breve histórico das vacinas produzidas pelo Instituto Butantan

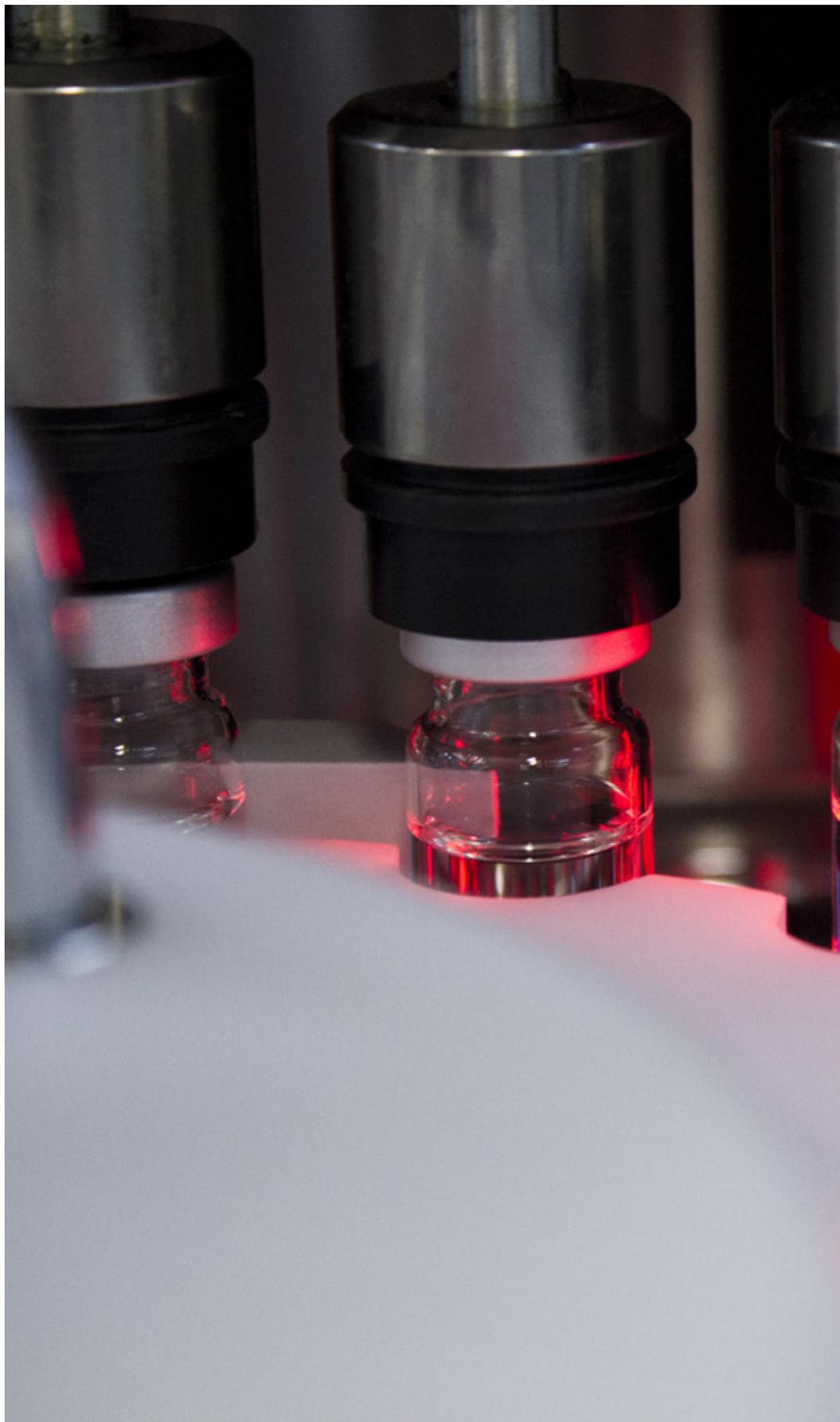
A primeira vacina registrada na História surgiu em 1796, quando o médico britânico Edward Jenner (1749-1823) desenvolveu uma forma de imunização contra a varíola. No Brasil, essa vacina foi introduzida em 1804.

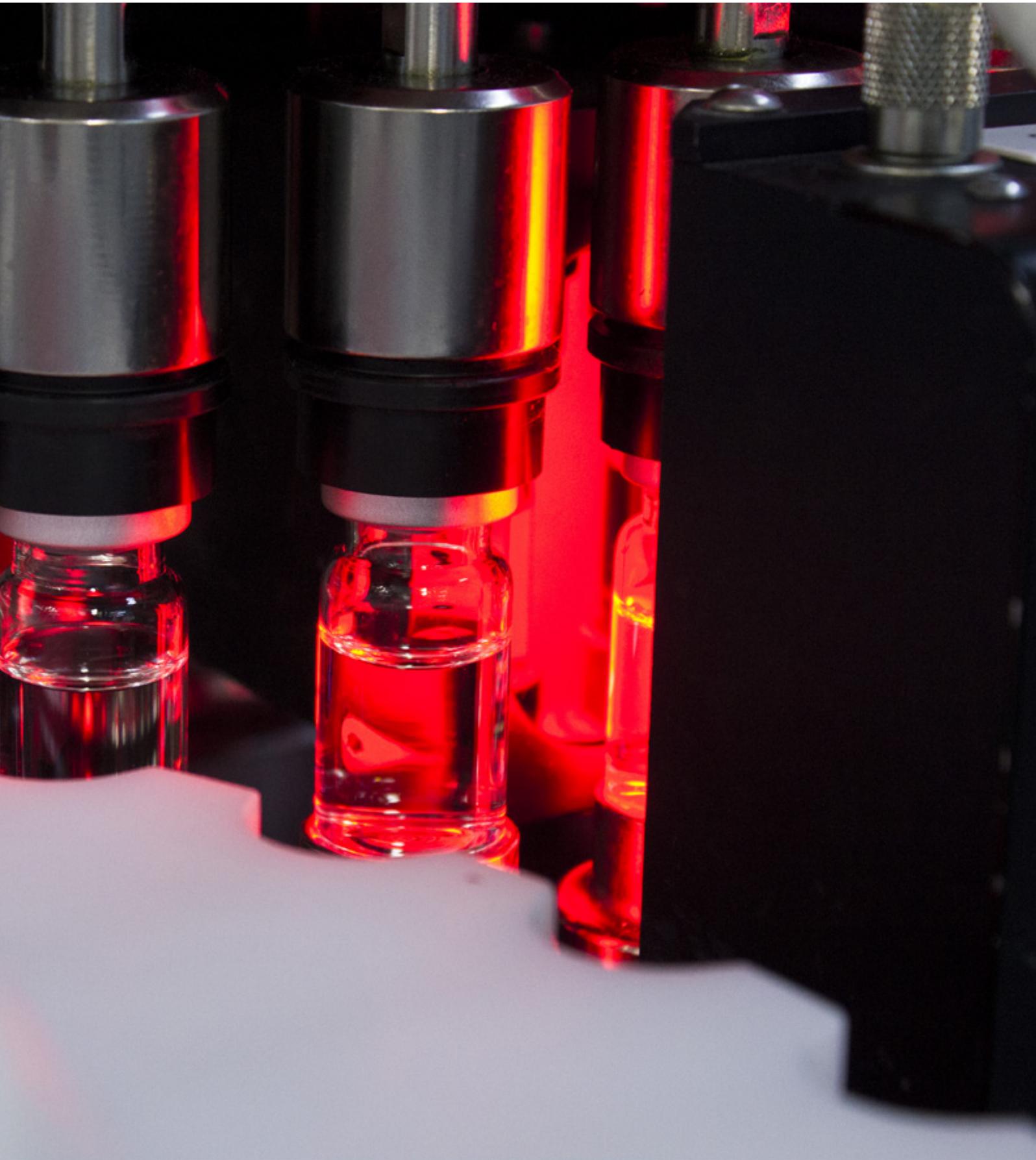
No final do século XIX, Louis Pasteur (1822-1895) foi o primeiro a compreender o papel dos microrganismos na transmissão das infecções. Ao usar processos para atenuar a ação dos microrganismos inoculados em animais, Pasteur foi capaz de provocar uma forma atenuada de doença, evitando assim as formas graves. Uma primeira vacina contra a raiva foi testada em 1885.

No Brasil, nos primeiros anos do século XX, a criação de instituições científicas – o Instituto Soroterápico Federal (atual Fundação Oswaldo Cruz) e o Instituto Soroterápico de São Paulo (atual Instituto Butantan) – veio suprir a carência do país de soros e vacinas, decisivos no combate às epidemias que assolavam os portos nacionais. Desde então registra-se o desenvolvimento progressivo dos imunobiológicos, como a produção das vacinas.

No contexto histórico, além do pioneirismo na produção de soros antiofídicos, destaca-se o papel do Instituto Butantan ao participar do esforço da Organização Mundial da Saúde (OMS) na erradicação da varíola, produzindo a vacina da varíola até 1972, quando foi considerada erradicada no país.

O ano de 1973 é um marco fundamental na história das vacinas no Brasil com a criação do Programa Nacional de Imunizações (PNI). O Brasil passava por uma crise de suprimento de imunobiológicos provocada pelo fechamento do laboratório privado Sintex do Brasil, pouco após a criação do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, em 1981, que passou a aplicar normas rigorosas de controle de qualidade dos produtos para a saúde e vetou o uso de diversos soros e vacinas.





Por outro lado, a produção nacional de vacinas era insuficiente para atender a demanda do Ministério da Saúde e mantinha padrões de qualidade precários.

Em 1985, com o objetivo de estabelecer uma ação coordenada entre os produtores públicos nacionais, estimulando os investimentos e a melhoria da qualidade da produção local, o Ministério da Saúde criou o Programa de Autossuficiência Nacional em Imunobiológicos (Pasni). Desenhou-se assim, uma estratégia de substituição progressiva das importações e de expansão dos laboratórios públicos.

A capacidade produtiva do Instituto Butantan foi alavancada, tanto no que se refere ao aumento do número de doses produzidas, com preços acessíveis, como na qualidade das vacinas, seguindo os padrões da OMS. O programa proporcionou a melhoria da infraestrutura de produção, por meio da construção de novas plantas ou adequação das já existentes, como também o desenvolvimento de novas tecnologias, aquisição de competência em diversos níveis e agregação de pessoal com capacitação científica e tecnológica.

Desta forma, já no início da década de 1990, a produção das vacinas DTP (difteria, tétano e pertussis), dT (difteria e tétano uso adulto), e DT (difteria e tétano uso infantil) em sistemas fechados, com tecnologias desenvolvidas no próprio Instituto e em plantas dedicadas, permitiu atender a demanda nacional.

Um importante desenvolvimento em 1995 foi o da vacina recombinante hepatite B, a primeira vacina obtida por técnicas de engenharia genética (DNA recombinante) produzida no país, sendo posteriormente incorporada pelo Ministério da Saúde no calendário de vacinação nacional.

Outro marco ocorreu com a transferência da tecnologia da produção da vacina influenza em 2001 com uma empresa multinacional francesa. Gradativamente, quantidades crescentes de doses da vacina influenza vêm sendo produzidas, sendo o seu o fornecimento ao PNI responsável pela campanha de vacinação da gripe que acontece anualmente em todo o território nacional.

No cenário atual, novas vacinas vêm sendo incorporadas no calendário de imunização, para as quais o Butantan vem firmando parcerias com indústrias farmacêuticas para o desenvolvimento produtivo desses imunobiológicos, esperando-se que em um futuro breve, sua tecnologia de produção esteja totalmente absorvida.



Produção da vacina Influenza.



As vacinas são produzidas em áreas dedicadas exclusivamente a este fim, cujos processos de produção utilizam sistemas fechados e automatizados, atendendo as boas práticas de fabricação e de biossegurança. É possível resumir as etapas envolvidas na produção de vacinas da seguinte forma: cultivo, purificação, controle de qualidade e envase.

Cultivo

A primeira fase da produção de uma vacina é o crescimento do microrganismo que será ou fornecerá o(s) antígeno(s). A partir de um banco da cepa produtora, constituído de ampolas contendo o microrganismo preservado por congelamento ou liofilização, inicia-se a produção. Cada lote de uma nova vacina se inicia com uma ampola deste banco, o que garante uma maior uniformidade dos cultivos e, conseqüentemente, do produto final. São realizadas sucessivas passagens em meio de cultura, em volumes crescentes, visando o aumento da biomassa. Assim, de um primeiro inóculo de alguns mililitros chega-se a um cultivo que pode alcançar centenas de litros. Neste estágio final podem ainda ser adotados procedimentos especiais, como, por exemplo, a adição de substâncias específicas que promovem a síntese do antígeno a ser posteriormente purificado.

De modo geral, a transferência de uma cultura para a próxima etapa de cultivo deve ser realizada na fase exponencial do crescimento do microrganismo. O tempo necessário para que se atinja esse ponto pode variar, dependendo, entre outros fatores, do meio de cultura e das características da cepa. Vários aspectos determinam as peculiaridades de cada cultivo.

Os vírus, parasitas intracelulares obrigatórios, requerem um substrato celular que possibilite sua replicação. Os vírus da *influenza* são propagados em ovos de galinha embrionados, cuja produção atende a parâmetros rígidos de produção e controle de qualidade, estabelecidos pelos órgãos regulatórios. A vacina *influenza* sazonal utiliza três cepas do vírus da *influenza*, que são cultivadas separadamente. Os vírus são inoculados nos ovos que são mantidos em estufas. O período de incubação dos ovos com os vírus inoculados varia para cada uma das três cepas.



Produção da vacina
Influenza.



Na produção das vacinas de raiva, rotavírus e dengue, os vírus multiplicam-se em culturas de células Vero (derivadas de rim de macaco verde), única linhagem liberada para produção de imunobiológicos.

O cultivo de células de mamíferos é mais exigente e delicado do que de bactérias e leveduras, mas segue o mesmo escalonamento das culturas até a obtenção do volume final de produção.

Já o *Clostridium tetani* é uma bactéria anaeróbica, e exige que nas primeiras fases de preparo de inóculo sejam mantidas condições que minimizem ao máximo a oxigenação do meio. Uma vez no biorreator, o cultivo não pode ser agitado, o que resultaria em aeração indesejável para o crescimento bacteriano, sendo a sedimentação da biomassa prevenida por vibração. Há ainda a necessidade de se adotar procedimentos que assegurem a contenção dos esporos potencialmente infectantes: todo o ar de exaustão gerado no biorreator deve ser incinerado antes da sua liberação, protegendo tanto o ambiente da fábrica quanto o meio externo. A bactéria aeróbica *Bordetella pertussis*, por sua vez, tem outras necessidades. Sua ativação no inóculo inicial é delicada, exigindo um meio de cultura sólido e muito rico. A cultura é então adaptada ao meio líquido, dando-se continuidade às passagens que culminarão com o cultivo no biorreator, realizado neste caso, sob aeração.

Purificação

Uma vez encerrado o cultivo, há um longo caminho a ser percorrido até o produto final. Durante o desenvolvimento de uma determinada vacina, inúmeras técnicas de purificação estão à disposição, no entanto a cada situação, são eleitas as melhores para isolar o componente de interesse (antígeno) dos demais. A estratégia de purificação – conjunto e ordem das técnicas – deve buscar a pureza necessária, com o maior rendimento e o menor custo possíveis. Isso significa, por exemplo, não acrescentar etapas sem absoluta necessidade e evitar o uso de substâncias que precisam estar ausentes no produto final.

Em geral, no primeiro estágio do processo de purificação o volume a ser manipulado é grande, de dezenas a centenas de litros, o que exige equipamentos com pouca restrição volumétrica, procedimentos simples e rápidos, além de reagentes menos custosos. As técnicas mais utilizadas para separar sólidos de líquidos são a centrifugação e a filtração tangencial. Nesta última, o material circula paralelamente a uma superfície filtrante, retornando ao biorreator (ou tanque) de contenção. O poro do filtro é selecionado de modo a separar células do meio de cultura ou então, grandes moléculas orgânicas como as proteínas, da fase líquida onde estão contidas substâncias inorgânicas e pequenas moléculas. Dependendo do interesse, descarta-se a porção permeada (filtrada), como na separação de células ou concentração de macromoléculas. Podemos também descartar as células de um cultivo e manter a porção líquida contendo produtos secretados, como é o caso de algumas toxinas bacterianas. Procedimentos de concentração e até de troca de tampão, podem ser realizados com a mesma técnica, desde que o poro do filtro seja menor que os componentes retidos. O importante é não esquecer a labilidade do antígeno, cuidando sempre das condições químicas e físicas, como temperatura, pH, ação de proteases etc.

No segundo estágio, a prioridade é isolar ao máximo o antígeno, da forma mais eficiente possível, o que significa aumento de pureza sem perda das características biológicas importantes para a sua imunogenicidade.

Normalmente, nesta fase, o volume do material processado já é menor e boa parte das impurezas foi removida, possibilitando o uso de uma variedade bem maior de procedimentos, por vezes mais custosos e com restrição volumétrica. O importante é que as várias técnicas de uma estratégia de purificação sejam baseadas em diferentes princípios: tamanho, carga, solubilidade e densidade do antígeno, entre outros. Com suas infinitas possibilidades, a cromatografia é um dos princípios mais potentes, seja na capacidade de purificação ou na adequação às boas práticas de fabricação. Consiste basicamente na aplicação do material a ser purificado em um cilindro (coluna cromatográfica), preenchido com uma resina com características de porosidade e afinidade físico-químicas apropriadas. À medida que o material atravessa a resina, os seus diferentes componentes serão separados em função da maior ou menor interação com a resina. O produto que sai da coluna é coletado em frações, as quais são testadas e selecionadas.

Ao chegarmos à etapa final, a pureza do antígeno, frequentemente é suficiente para diversas aplicações, como em estudos de caracterização e até obtenção de anticorpos contra os mesmos. Mas, para seu uso como vacina, ainda devem ser realizados procedimentos que garantam também a ausência de endotoxinas – substâncias produzidas por microrganismos, que causam febre e são uma preocupação constante ao longo de toda a purificação –, a remoção de eventuais resíduos de substâncias que tenham porventura sido utilizados ao longo do processo e, finalmente mantenham a esterilidade bacteriana e fúngica. O antígeno assim purificado é o produto final das diferentes fábricas de vacinas do Instituto Butantan.



1. Rotulagem
2. Recravação
3. Recravação





É claro que nem todos os processos passam por todos esses estágios. Certos antígenos podem ser purificados com um número bem menor de etapas. Há produtos que exigem etapas de inativação e/ou destoxificação, como as vacinas pertussis celular, de toxinas bacterianas e algumas virais. Vacinas de proteínas virais e/ou recombinantes exigem a remoção de DNA residual derivado da célula hospedeira.

O antígeno concentrado passará ainda pelas etapas de formulação e de envase/acondicionamento. Na formulação é realizada uma diluição de modo que todos os constituintes da vacina (antígenos, adjuvante, sais, conservantes) estejam nas concentrações preconizadas para o produto final. No envase e acondicionamento, a vacina formulada é distribuída em ampolas ou frascos (envase), os quais são etiquetados e embalados.

Qualidade

Em todas as etapas de produção, desde o início do cultivo até a última etapa de purificação, são realizados pelo laboratório produtor, testes de controle de processo e monitoramentos, que permitem avaliar ausência de contaminação, rendimento do antígeno, controle ambiental da área de trabalho, entre outros. O antígeno concentrado, por sua vez, deve ser amostrado e submetido a testes específicos no Serviço de Controle de Qualidade, entre os quais, testes de pureza e concentração do antígeno, esterilidade bacteriana e fúngica, ausência de pirogênio, bem como alguma prova de atividade imunogênica, *in vivo* ou *in vitro*. Alguns testes devem ser repetidos após a formulação e também com o produto envasado. Há também a inspeção visual de todos os frascos, antes da sua embalagem.

Além da comprovação da qualidade do produto em si, procedimentos de produção, limpeza, segurança pessoal e ambiental devem estar aprovados. Os equipamentos, áreas de produção e funcionários devem ter alto nível de qualificação.

Nos últimos anos, o Instituto Butantan vem investindo para manter seu padrão de excelência na produção de imunobiológicos, por meio da adequação das áreas produtivas às normas cada vez mais exigentes das autoridades regulatórias nacionais e internacionais.

Vacinas produzidas pelo Instituto Butantan



Vacina influenza (fragmentada e inativada)

Devido à alta taxa de mutação do vírus *influenza*, a composição da vacina é alterada anualmente. Desde 1947, a OMS coordena centros de vigilância epidemiológica da gripe em várias partes do mundo, envolvendo 121 laboratórios em 93 países. No Brasil existem três laboratórios de referência: Fiocruz (RJ), Instituto Adolfo Lutz (SP) e Instituto Evandro Chagas (PA). Estes laboratórios coletam as amostras de secreções respiratórias dos pacientes com quadro clínico de gripe e identificam os vírus circulantes. A partir destes dados, a OMS seleciona as três cepas virais que irão compor a vacina do próximo ano. Como o período de circulação do vírus *influenza* é diferente nos hemisférios Sul e Norte, existe uma recomendação de composição da vacina diferente para cada região. As cepas selecionadas são distribuídas aos laboratórios produtores, entre os quais o Instituto Butantan.

O processo é iniciado com a inoculação da suspensão viral em ovos embrionados, que são incubados por um período que oscila de acordo com a cepa. Em seguida, o líquido alantóico é colhido, centrifugado, concentrado, fragmentado e inativado, resultando em uma suspensão monovalente a qual é esterilizada por filtração.

A formulação da vacina consiste na mistura das suspensões de cada uma das cepas. A campanha de vacinação da gripe ocorre anualmente nos meses de abril e maio, antecedendo o inverno.

Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis (DTP), vacina adsorvida difteria e tétano adulto (dT) e vacina adsorvida difteria e tétano infantil (DT)

A vacina DTP é formulada com as anatoxinas diftérica e tetânica, combinadas com a vacina pertussis celular, adsorvida em gel de hidróxido de alumínio e adicionada de timerosal como conservante. Existem ainda as vacinas duplas de uso infantil (DT-difteria e tétano) e uso adulto (dT), cuja diferença reside na quantidade de anatoxina diftérica presente, sendo maior na forma infantil (DT) em comparação com a vacina do tipo adulto (dT).

A vacina combinada de DTP e Hib é conhecida como tetravalente, pois protege ao mesmo tempo contra difteria, tétano, coqueluche e infecções graves pelo *Haemophilus influenzae* tipo b e faz parte do calendário nacional de imunização básica. O Instituto Butantan produz as frações DTP e a fração Hib é produzida em Bio-Manguinhos/Fiocruz.

Vacina adsorvida hepatite B (recombinante)

A vacina adsorvida hepatite B desenvolvida no Instituto Butantan utiliza a tecnologia de DNA recombinante. O antígeno é formado por partículas proteicas virais produzidas por uma linhagem de levedura, na qual foi introduzida a sequência de DNA correspondente ao principal antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg). A levedura portadora da sequência gênica do vírus é cultivada em biorreatores, a qual será usada para o crescimento da massa celular e expressão da proteína recombinante. Em seguida, a biomassa celular obtida é rompida para a liberação do antígeno. Seguem-se vários processos de purificação. O produto final tem alta pureza para o HBsAg, tendo os contaminantes provenientes da levedura sido eliminados em quase sua totalidade. O concentrado proteico resultante é formulado com gel de hidróxido de alumínio.

Vacina raiva (inativada)

É a vacina indicada para a imunização contra a raiva em humanos. Atualmente a vacina raiva (inativada) enviada ao PNI é originária da França. Esta vacina é preparada a partir do vírus rábico fixo, cultivado em substrato de cultura de células de linhagem, células Vero. Por ser material biológico estável, não provoca problemas de saúde no homem. Estas células crescem em altas concentrações em biorreatores.

O Instituto Butantan desenvolveu uma vacina para a raiva utilizando células Vero cultivadas em meio livre de soro e outros contaminantes de origem animal. Neste processo o vírus rábico fixo Pasteur (PV) é produzido em células Vero aderidas a esferas sólidas cultivadas em biorreator. O sobrenadante destas culturas contendo vírus rábico é coletado, concentrado, purificado e inativado. Com o concentrado inativado é formulada a vacina raiva (inativada).

O produto foi registrado na ANVISA, escalonado para biorreatores de 150L e está aguardando a liberação do prédio da fábrica para iniciar a produção da vacina raiva (inativada). A produção desta vacina permitirá à instituição atender a demanda nacional, garantindo, dessa forma, a independência tecnológica do país para este imunobiológico.

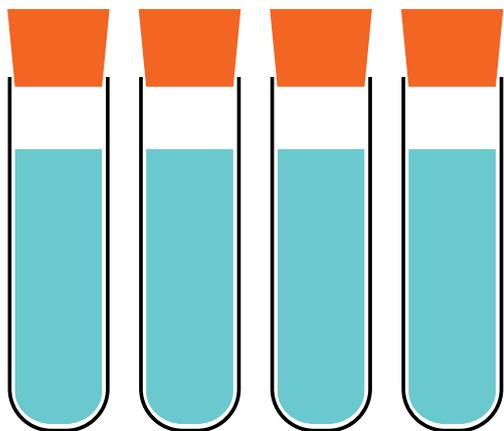
Desenvolvimentos de novas vacinas

O Instituto Butantan juntamente com indústrias farmacêuticas têm contratos de Parceria de Desenvolvimento Produtivo (PDP) para produção de novas vacinas, como é o caso da vacina dTpa, que envolve a transferência da tecnologia de produção do componente da vacina pertussis acelular (pa); da vacina quadrivalente de papiloma vírus humano (HPV), e da vacina hepatite A, inativada e purificada.

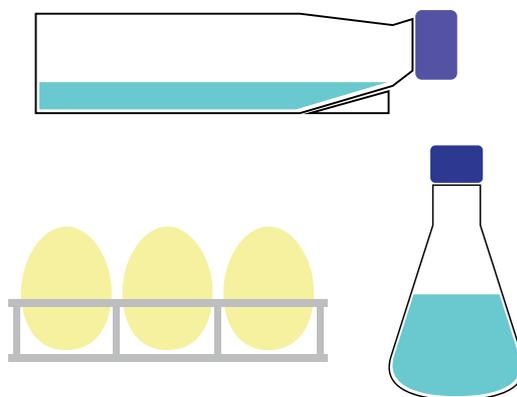
Uma vacina pentavalente para os cinco sorotipos de rotavírus presentes no Brasil foi desenvolvida no Instituto Butantan, a vacina rotavírus humano-bovino G1,G2,G3,G4,G9 (atenuada). É uma vacina oral, liofilizada, com 4 doses e produzida em células Vero. Ela foi testada em animais e em humanos (Fase I dos Ensaios Clínicos) e demonstrou ser segura e induzir a formação de anticorpos contra os rotavírus dos sorotipos G1, G2, G3, G4 e G9. Depois disto, ela será testada em novos ensaios clínicos (Fases II e III), registrada na ANVISA e produzida para a população.

Uma vacina contra dengue contendo os quatro sorotipos de vírus circulantes no Brasil foi desenvolvida pelo Butantan, a vacina dengue 1,2,3,4 (atenuada). Ela também é produzida em células Vero, com vírus vivo atenuado. É apresentada na forma liofilizada em frascos contendo 10 doses. Ela foi testada em animais e em humanos (Fases I e II dos ensaios clínicos). Os resultados encontrados demonstraram que a vacina é segura e induz proteção contra os quatro tipos de vírus dengue. Atualmente ela se encontra na fase III dos testes clínicos em voluntários de todo o país. Esta fase finaliza os estudos que comprovam a segurança e eficácia da vacina. O desenvolvimento desta vacina é resultado de uma parceria entre o Instituto Butantan e os Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos (NIH).

A produção de vacinas do Instituto Butantan

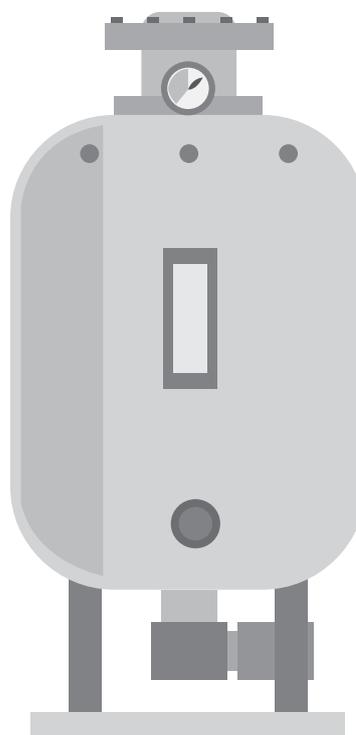
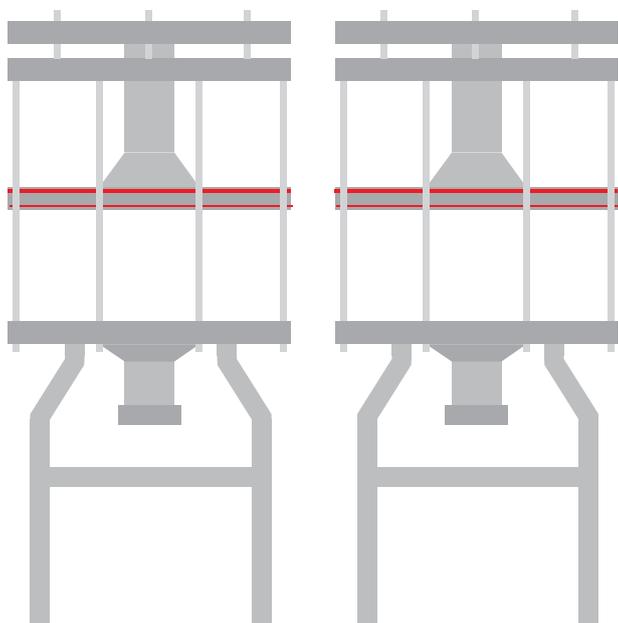


Qualquer que seja a vacina, a primeira fase de produção é o crescimento de microrganismos que serão ou fornecerão os antígenos. Toda planta de produção deve ter um banco de cepa produtora.

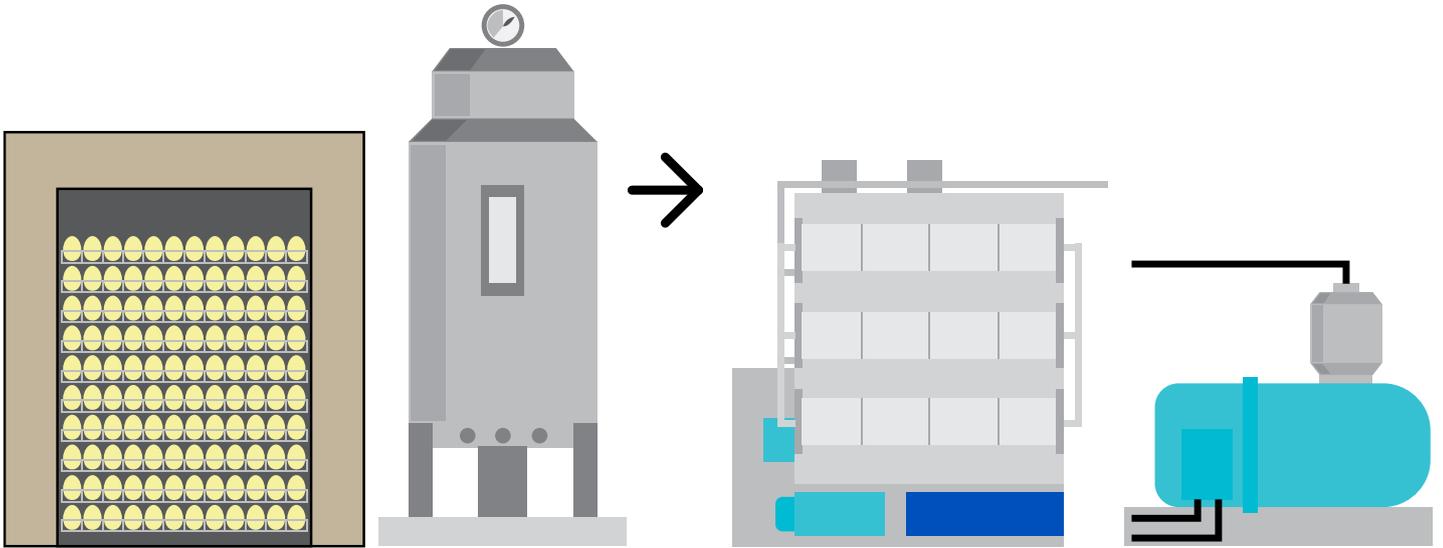


As cepas são inoculadas de acordo com o tipo e necessidade para desenvolvimento em meios de cultivo, em ovos embrionados ou em cultura de células.

As próximas etapas de purificação variam de acordo com as características físico-químicas do antígeno, sendo o processo de cromatografia um dos mais utilizados.



A formulação consiste na diluição de todos os constituintes da vacina: antígenos, adjuvantes e tampões específicos para cada vacina.

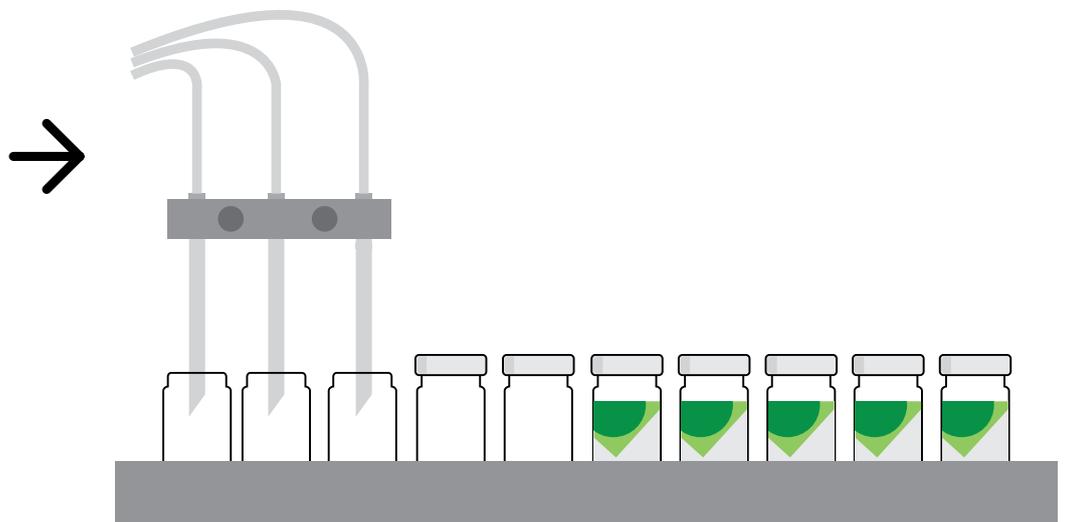


A próxima etapa é o crescimento destes microrganismos em biorreatores específicos para cada tipo de microrganismo. No caso da vacina influenza, os ovos inoculados com os vírus são mantidos em estufas.

À etapa de crescimento seguem-se as primeiras etapas de purificação, com a separação celular, que proporciona o isolamento do antígeno de interesse para a produção da vacina.

A vacina formulada é distribuída em frascos que são rotulados com os dados de fabricação de cada vacina.

Entre cada uma das fases de produção são realizados testes de controle de qualidade, desde a abertura da cepa até a liberação da vacina ampolada.



Produtores de vacinas no Brasil

Referências bibliográficas

Instituto Butantan, São Paulo/SP

Além dos soros antitóxicos e antiofídicos, produz as vacinas influenza (vacina influenza – fragmentada e inativada); DTP (vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis); hepatite B (vacina adsorvida hepatite B – recombinante); e raiva em cultura de células Vero (vacina raiva – inativada). Encontram-se em processo de transferência de tecnologia as vacinas de HPV (quadrivalente) e hepatite A, assim como a transferência de tecnologia do componente pertussis acelular (pa), que será associado aos componentes tetânico e diftérico do Instituto na formação de uma nova vacina dTpa. A vacina da dengue composta pelos quatro tipos de vírus, atualmente encontra-se na última fase de testes clínicos.

Bio-Manguinhos/Fiocruz, Rio de Janeiro/RJ

Produz as vacinas contra a febre amarela; sarampo; poliomielite; meningite meningocócica, soro-grupos A/C; *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib).

Instituto de Tecnologia do Paraná (Tecpar), Curitiba/PR

Produz a vacina contra raiva em cultivo celular para uso veterinário.

Fundação Ataufo de Paiva, Rio de Janeiro/RJ

Produz a vacina BCG.

Cardoso, J. L. C.; França F. O. S.; Wen, F. H.; Málaque, C. M. S; Haddad, Jr. V. Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. Savier, 2003.

Centers for Disease Control and Prevention. Immunity Types. <http://www.cdc.gov/vaccines/vac-gen/> Acessado em 10/03/2016.

Centro de Vigilância Epidemiológica/SES. Suplemento da norma técnica do Programa de Imunização. Introdução de novas vacinas no Calendário Estadual de Imunização. São Paulo 2011. Disponível em: ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/imuni/imuni10_suple_norma_rev.pdf Acessado em 03/05/2017.

Domingos, M. O.; Sant'Anna O. A. Vacinas. In: Trabulsi, L. R.; Alterthum, F. (eds) Microbiologia 4ª. Edição. São Paulo: ed. Atheneu, 2004, parte 2ª, cap. 16: 137-142.

Epidemiologia e Serviços de Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. V. 12, n. 1 (jan./mar. 2003). Brasília: Ministério da Saúde, 2003.

Lopes, M. B; Polito, R. Para uma história da vacina no Brasil: um manuscrito inédito de Norberto e Macedo. História, Ciências, Saúde – Manguinhos, Rio de Janeiro, v.14, n.2, p.595-605, abr.-jun. 2007.

Plotkin, S. A. ; Orenstein, W. A.; Offit, P. A., eds. Vaccines. Philadelphia: Saunders; 2008.

Precioso A. R.; Miraglia, J. L.; Campos, L. M.; Goulart, A. C.; Timenetsky, M. do C.; Cardoso, M. R., Luna E., Mondini, G.; Guedes, J. da S.; Raw, I. A phase I randomized, double-blind, controlled trial of 2009 influenza A (H1N1) inactivated monovalent vaccines with different adjuvant systems. Vaccine 2011; 29: 8974– 8981.

The College of Physicians of Philadelphia. The History of Vaccines. <http://www.historyofvaccines.org/content/articles/human-immune-system-and-infectious-disease>. Acessado em 10/03/2016

Frazzatti-Gallina NM1, Mourão-Fuches R.M., Paoli R.L., Silva M.L., Miyaki C., Valentini E.J., Raw I., Higashi H.G. Vero-cell rabies vaccine produced using serum-free medium. Vaccine. 2004 Dec 9;23(4):511-7.

Frazzatti-Gallina N.M.; Paoli R.L.; Mourão-Fuches R.M.; Jorge S.A.; Pereira C.A. Higher production of rabies virus in serum-free medium cell cultures on microcarriers. J Biotechnol. 2001 Dec 14;92(1):67-72.

Expedito J.A. Lunaa; Neuza M. Frazzatti-Gallina; Maria C.S.T. Timenetsky; Maria R.A. Cardoso; Maria A.S.M. Veras; João L. Miraglia; Ana M.U.Escobar; Sandra J.F.E. Grisi; Isaías Raw; Alexander R. Precioso. A phase I clinical trial of a new 5-valent rotavirus vaccine. Vaccine 31 (2013) 1100– 1105.

Soros e Vacinas**Divisão de Desenvolvimento Tecnológico e produção**

Maurício Meros de Oliveira

Organização

Luciana Monaco
Fabiola Crocco Meireles
Maria Teresa Abdullatif

Textos

Amanda Ferreira da Silva Araújo
Denise Cristina André Oliveira
Elisabeth Christina Nunes Tenório
Fernanda Lucio dos Santos Macarini
Maria Aparecida Sakauchi Takano

Revisão

Célia Sayoko Takata
Fan Hui Wen
Maurício Meros de Oliveira

Fotografias

Camilla Carvalho

Ilustração

Antonio Costa

Design e diagramação

Ilana Tschiptschin

Tiragem

1.000 exemplares

Apoio financeiro

Fundação Butantan

Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

Governo do Estado de São Paulo

Geraldo Alckmin
Governador

David Uip
Secretário de Estado da Saúde

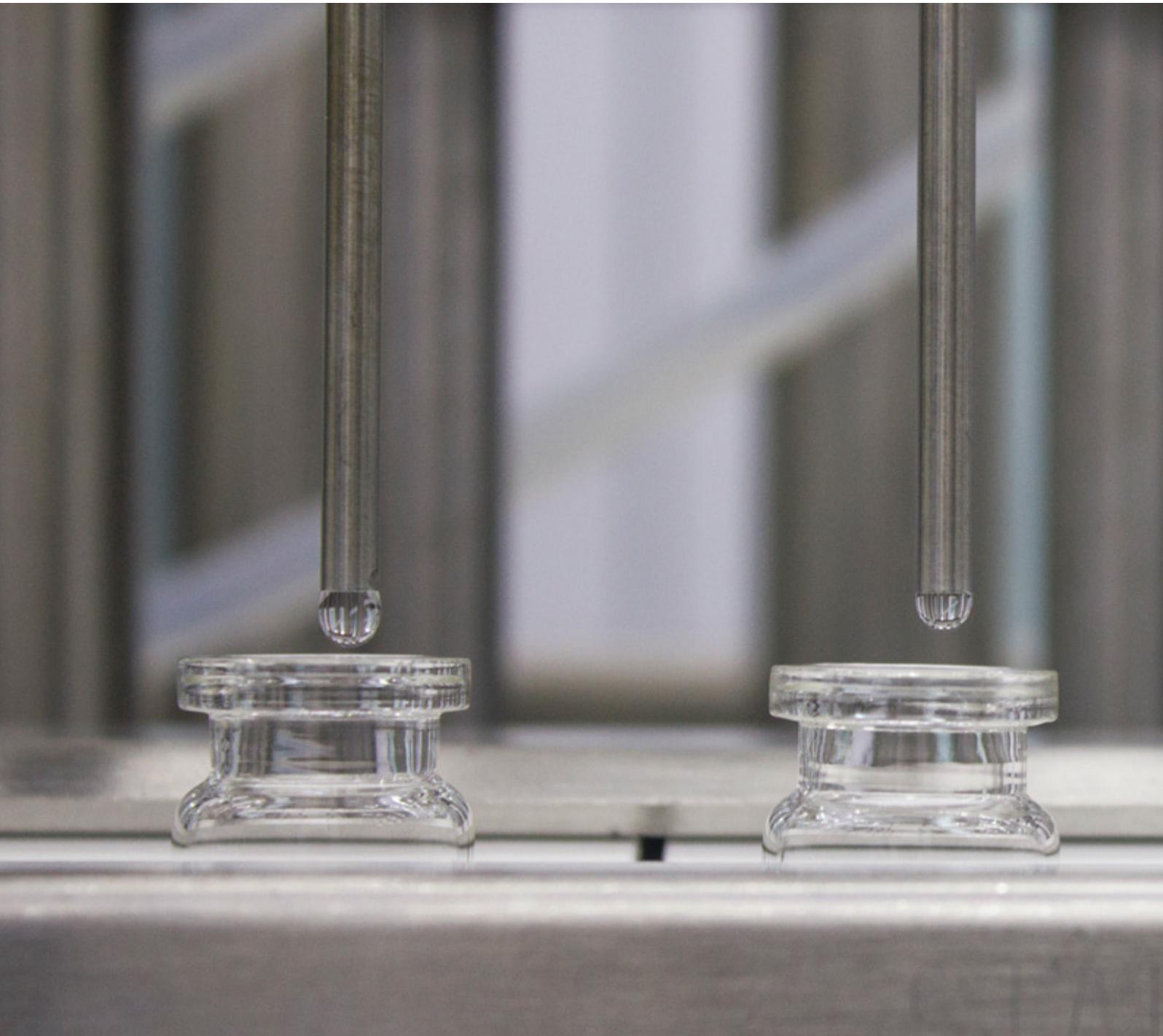
Sergio Swain Muller
Coordenador de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos de Saúde

Instituto Butantan

Dimas Tadeu Covas
Diretor

Instituto Butantan

Av. Vital Brasil, 1500
Butantã
05503 900
São Paulo
butantan.gov.br



Apoio financeiro e cultural

fundação
butantan



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO