Parte IV - Pesquisa, desenvolvimento e inovação em vacinas no Brasil

16 - Pesquisa e Desenvolvimento em Vacinas e Soros no Instituto Butantan

Isaías Raw
Hisako Gondo Higashi
Otávio Azevedo Mercadante

SciELO Books / SciELO Livros / SciELO Libros

RAW, I., HIGASHI, H.G., and MERCADANTE, O.A. Pesquisa e Desenvolvimento em Vacinas e Soros no Instituto Butantan. In: BUSS, P.M., TEMPORÃO, J.G., and CARVALHEIRO, J.R., orgs. *Vacinas, soros e imunizações no Brasil* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2005, pp. 323-334. ISBN: 978-85-7541-606-8. Available from: doi: [10.7476/9788575416068.0017](https://doi.org/10.7476/9788575416068.0017). Also available in ePUB from: <http://books.scielo.org/id/wmw76/epub/buss-9788575416068.epub>.

All the contents of this work, except where otherwise noted, is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Todo o conteúdo deste trabalho, exceto quando houver ressalva, é publicado sob a licença [Creative Commons Atribuição 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Todo el contenido de esta obra, excepto donde se indique lo contrario, está bajo licencia de la licencia [Creative Commons Reconocimiento 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Pesquisa e Desenvolvimento em Vacinas e Soros no Instituto Butantan

Isaías Raw
Hisako Gondo Higashi
Otávio Azevedo Mercadante

O CENTRO DE BIOTECNOLOGIA

Em 1984, o Instituto Butantan, reconhecendo a redução no volume e qualidade da sua produção científica devido ao envelhecimento de seus quadros, saiu do isolamento, abrindo suas portas para contratar uma dezena de pesquisadores experientes, na maioria aposentados pelas universidades paulistas. Estes pesquisadores, credenciados pelas universidades, atraíram estudantes de pós-graduação, arejando o ambiente de pesquisa com jovens com sua natural energia e criatividade. Com seus currículos e liberdade para escolher os projetos, trouxeram para o Instituto dezenas de auxílios de pesquisa da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Financiadora de Estudos e Projetos (Finep). Iniciou-se uma revolução na pesquisa básica, que muitos imaginavam e continuavam a imaginar fosse a função principal do Instituto.

Foi então reconhecido o papel fundamental da instituição como órgão da Secretaria da Saúde, sendo priorizados o desenvolvimento e a produção de insumos biológicos para saúde humana. Tal concepção foi introduzida por Louis Pasteur em Paris, ao atender a demanda da sociedade por soros e vacinas, exigindo recursos adicionais para a manutenção da pesquisa. Esse foi o modelo para a criação do Instituto Butantan por Vital Brazil, em 1901, que o diferenciou da pesquisa/ensino formal que caracteriza as univer-

sidades. O modelo teve que ser corrigido para atrair estudantes de pós-graduação, essencial à contínua renovação da instituição.

A concepção de um instituto que pesquisa e produz levou, em 1985, à criação do Centro de Biotecnologia, que atraiu um grupo de jovens doutores que aceitavam o repto de ter metas de pesquisa relevantes e do domínio da tecnologia de escalonamento.

Nessa época foi lançado o Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PADCT), programa que contava, pela primeira vez, com um financiamento à altura das metas de desenvolvimento científico-tecnológico e que, como todos os programas até então, incluindo este, colocava a biotecnologia como uma das prioridades nacionais. O Centro foi escolhido para vários projetos, contando, em paralelo, com importantes recursos que permitiram a instalação real dos laboratórios, com equipamentos sofisticados.

Entre os vários projetos, estava o desenvolvimento de processos de purificação, cromatografia em larga escala (projeto de hemoderivados) e a utilização de biorreatores de última geração no cultivo de células animais, acoplados a processos cromatográficos automatizados, usando novas resinas para produção de anticorpos monoclonais.

Hoje, o Centro de Biotecnologia (Laboratório de Produtos e Processos), ocupa um conjunto de edifícios, que sofreram reformas internas (os edifícios são tombados), numa área de cerca de 3.000 m². Com duas dezenas de doutores, doutorandos, mestres, mestrandos e jovens estudantes, forma um grupo de quarenta pesquisadores. Em contraste com pesquisadores da divisão científica, que tem total liberdade na escolha de seus projetos, desde que submetidos e financiados por auxílio à pesquisa, os pesquisadores do Centro têm o compromisso de dar prioridade aos projetos de interesse imediato para a saúde humana.

Os projetos, inicialmente, eram sempre submetidos em bloco para agências de financiamento que, com seu porte, permitiram equipar o Centro de Biotecnologia. Atualmente, com a maturidade e experiência dos pesquisadores mais credenciados, os projetos tendem a ser específicos, com um grupo de pesquisa responsável. Alguns desses projetos encontram-se listados no Quadro 1.

Quadro 1 – Vacinas e biofármacos em desenvolvimento no Centro de Biotecnologia

Meningite B-C conjugadas	Ensaios em 2004
<i>Haemophilus b</i>	Conjugação em desenvolvimento
BCG-pertússis, BCG-tétano, BCG	Cepas construídas para pesquisa
Pneumococos: proteínas recombinantes	Expressadas, em testes animais
Pneumococos: 23F	Produção de polissacarídeo em escalonamento
Esquistossomose	Novas vacinas candidatas baseadas no sequenciamento genômico
Leptospirose	Novas vacinas candidatas baseadas no sequenciamento genômico
HPV	Em desenvolvimento
Eritropoetina	Em escalonamento
Interferon alfa e beta	Em desenvolvimento
Glucocerebrosidase	Em desenvolvimento

Na euforia do desenvolvimento nacional, as agências de financiamento e programas, como o PADCT e o Programa de apoio a Núcleos de Excelência (Pronex), estimularam projetos que tinham como meta potencial o desenvolvimento de tecnologia e produtos. Os pesquisadores, na disputa de recursos, passaram a orientar seus projetos acenando com o desenvolvimento de vacinas e medicamentos. Outro programa extremamente útil foi o Programa de Desenvolvimento de Recursos Humanos para Atividades Estratégicas (RHAE), que ofereceu bolsas para treinamento de pessoal em tecnologia de produção e que foi usado para o treinamento durante o desenvolvimento de processos.

Contudo, os financiadores e os tomadores de decisão não se conscientizaram plenamente de que este é um longo processo, que exige a participação dos vários atores que intervêm na pesquisa básica, no desenvolvimento e otimização de tecnologia real, na produção de lotes-piloto e seu ensaio clínico controlado e na produção em grande escala. Estas várias etapas requerem investimentos, que a cada passo aumentam por um fator de 5 a 50, ultrapassando os orçamentos para incentivo. Mais ainda, desconhecem que, na área de saúde humana, o processo da pós-bancada à disponibilidade do produto, único critério que permite considerar como sucesso o investimento, tarda uma década ou mais nos países do Primeiro Mundo, que contam com recursos muitas vezes maiores do que o Brasil, pois não basta comparar a porcentagem do PIB de dois países, já que este é totalmente diferente uma década antes. Esse longo prazo contribuiu para que o Brasil perdesse a primeira batalha contra as patentes e que novamente perderá se não acelerar a competição pela produção de insumos essenciais à saúde, agora que muitas patentes começam a caducar.

No esforço de acelerar o desenvolvimento de novas vacinas e bioprodutos, conseguiu-se trazer, por um período de vários anos, alguns pesquisadores estrangeiros. Um deles desenvolvia a vacina recombinante contra hepatite B, usando uma levedura que expressa o antígeno recombinante em quantidade muito maior do que a levedura de cerveja. Com a estrutura, equipamentos e pessoal competente disponível do Centro de Biotecnologia e na divisão de produção, foi possível desenvolver o escalonamento da produção da vacina contra hepatite B.

O projeto foi traduzido numa planta especial, que já atingiu a produção de 36 milhões de doses em 2003. Essa etapa, que deveria ser a mais difícil, passou a ser secundária em face dos 'fantasmas' que tentaram por anos evitar que a vacina do Butantan fosse testada e registrada, eliminando um dos maiores mercados representado pela vacinação pública e gratuita e reduzindo o mercado de clínicas privadas. Tal batalha, que ressurgiu encampada por interesses privados, principalmente estrangeiros, está praticamente vencida. A vacina que custaria US\$ 8 por dose, quando o projeto se iniciou, é hoje fornecida ao Ministério da Saúde (MS) por R\$ 0,80. Resultado de uma tecnologia eficaz e de baixo custo, tornou viável vacinar não apenas recém-nascidos, mas recuperar a vacinação de todos os que não o foram na infância, cobrindo os jovens que atingem a maturidade sexual ou acabam prisioneiros de drogas, engros-

sando os mais de três milhões de portadores do vírus da hepatite B, que, além de transmitir ao resto da população jovem, terão que ser socorridos pelo SUS com cirrose ou câncer hepático no futuro.

A alta capacidade de produção instalada está permitindo atender a demanda para vacinar todos os menores de vinte anos que não foram imunizados na infância.

DESENVOLVIMENTO DE NOVA GERAÇÃO DE VACINAS BACTERIANAS

O principal critério para a seleção dos projetos tem sido a demanda do Programa Nacional de Imunizações (PNI). Com uma meta de médio prazo, para tornar o Brasil auto-suficiente, optamos pelo desenvolvimento de tecnologia de vacinas semelhantes às que o Brasil adquiriria ou pretendia adquirir no mercado internacional. Como não basta auscultar o interesse do MS, pudemos, nestes anos e no futuro próximo, antecipar-nos à decisão do Ministério, oferecendo vacinas eficazes a preços compatíveis com o orçamento público e, portanto, possíveis de ser introduzidas. Uma análise responsável que as comissões de vacinação, levando em conta interesses e modismos, não faziam. Com esses parâmetros, os projetos eram mais seguros e viáveis em prazo mais curto.

Nessa seleção, tomamos a iniciativa de evitar a competição com Bio-Manguinhos e nos esforçamos por criar projetos de cooperação. Um destes, iniciados pelo Instituto Adolfo Lutz, com assessoria do Dr. C. Frasch do National Institutes of Health (NIH) e da Organização Pan-Americana da Saúde (Opas), foi a seleção de cepas prevalentes para uma vacina contra a meningite B. O projeto ganhou momento para desenvolver uma vacina financiada com auxílios do PADCT e da Fapesp ao Butantan e vem sendo desenvolvido em paralelo pelo Centro de Biotecnologia e por Bio-Manguinhos, com a colaboração essencial da equipe de meningite do Instituto Adolfo Lutz. Os dois laboratórios desenvolveram métodos alternativos para a produção dos proteossomos (membranas externas liberadas durante o cultivo da bactéria), em que a expressão de proteínas específicas é induzida pela restrição de ferro. A equipe do Centro concentrou-se em metodologia escalonável, que substitui operações discretas com ultracentrífugas por ultrafiltração molecular e cromatografia. Para esse projeto, foi montando temporariamente um laboratório de Boas Práticas de Fabricação (BPF) para a produção de lotes da vacina que possam ser testados.

Um projeto simultâneo foi o desenvolvimento da produção do polissacarídeo do meningococo C, uma vez que a vacina final será uma vacina combinada contra meningites B e C. Como o uso de polissacarídeos pode induzir anergia, a vacina contra meningite C deverá ser conjugada com o toxóide tetânico de alta pureza, produzido pelo Butantan. Uma nova perspectiva que foi abordada com sucesso, em nível de teste em animais, é a conjugação do polissacarídeo com a vacina contra meningite B. As duas vacinas, meningite B+C e meningite B=C, serão suplementadas com lipopolissacarídeo do meningococo, detoxificado pela hidrólise (LOS). As várias formulações, B+C, B=C, com e sem LOS, estão prontas para ensaio clínico, o grande gargalo para o desenvolvimento de vacinas no país.

Uma segunda linha é baseada na DTP. Quando o Butantan iniciava a produção de DTP, ainda sem condições de atender à demanda nacional, esta foi comparada, quanto à toxicidade e proteção, com vacinas importadas. Ficou clara a superioridade da vacina produzida pelo Butantan. Como todas as que utilizam hidróxido de alumínio como adjuvante, a vacina pode até produzir um pequeno nódulo no local da injeção, mas é efeito local, insignificante e sem importância, quando se compara com a cicatriz produzida pela vacina contra varíola. A vacina DTP causa, também, efeitos colaterais na proporção de cerca de 1:2000 vacinados, que variam desde o choro prolongado até convulsões; contudo, embora esses efeitos sejam reais, epidemiologicamente não são importantes quando comparados com a mortalidade causada pela coqueluche (trágica para os ingleses, que suspenderam a vacinação para reinstituí-la três anos depois).

O Centro de Biotecnologia investiu longamente no desenvolvimento de uma vacina acelular para pertússis, que poderia ser produzida a um preço viável para o programa brasileiro de vacinação. As três doses da vacina contra DTP custam hoje US\$ 0,09 contra cerca de US\$ 9,00 da vacina chamada de acelular. Optamos por desenvolver uma vacina a partir do sobrenadante da cultura de pertússis, subproduto da vacina celular, contendo os principais antígenos, purificados por um sistema simples que remove LPS e reduz a concentração de pertussigênio, presente em excesso. Este processo resulta numa vacina que protege contra o desafio intracerebral e poderia ser produzida a um preço viável, se a vacina for usada apenas em crianças que apresentam uma história clínica de problemas neurológicos, ou como segunda e terceira doses em crianças que tiveram efeitos colaterais sérios. Uma vez que do sobrenadante só é possível produzir uma dose para cada dez doses de vacina celular, a substituição da vacina celular pela acelular desprezaria a primeira e teria um custo muito maior, além de exigir um investimento grande para o aumento do volume de biorreatores, que hoje é de 1.500 litros. A antiga Comissão Assessora de Imunizações e a direção da Sociedade Brasileira de Pediatria, nas quais estão representados pediatras que mantêm clínicas privadas de vacinação ou que têm projetos com os produtores privados, podem imaginar que é legítimo exigir a vacina acelular, sem, entretanto, levar em conta que o aumento de custo inviabilizaria a vacinação universal e gratuita.

A utilização universal do hidróxido de alumínio, apesar da ampla gama de novos adjuvantes que têm sido desenvolvidos, alguns sendo utilizados para vacinas veterinárias, inibiu o seu uso em vacinas humanas. Pesquisas realizadas em colaboração com o Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (USP) e de Microbiologia da Unifesp levaram ao desenvolvimento de um novo adjuvante, produzido das células da *Bordetella*. Este importante processo (patente depositada) permitirá produzir um adjuvante para várias vacinas, que é eficaz e isento dos efeitos locais produzidos pelo hidróxido de alumínio. Essa produção utilizaria parte da vacina celular. Por outro lado, o uso deste novo adjuvante cria uma vacina acelular de custo mais baixo e eficaz. A nova vacina acelular deverá entrar proximamente em teste clínico, processo longo para detectar efeitos colaterais pouco freqüentes como os da vacina celular.

A impressão superficial é que uma parte importante de vacinas é perdida pela exposição a temperaturas elevadas em virtude das deficiências da rede de frio, e o custo delas tende a duplicar pela introdução, diretamente no rótulo, de um indicador térmico. Todavia, o maior descarte resulta do congelamento de vacinas, durante o transporte, ou dentro de refrigeradores sem circulação de ar. A solução aventada pela World Health Organization (WHO) e pelo Unicef é a introdução de outro monitor que, para vacinas de baixo custo como o DTP, novamente dobra seu preço. Uma pesquisa desenvolvida no Centro de Biotecnologia, que poderá ter resultados interessantes, é o uso do DTP e DTP-Hep B em emulsão oleosa, protegendo a vacina de hepatite B contra congelamento. O uso dessa emulsão tem inconvenientes, em particular pela necessidade de utilização de uma agulha de diâmetro maior. Não obstante, apresenta uma vantagem em áreas onde a deficiência da vitamina A é endêmica. Óleo contendo vitamina A substitui o hidróxido de alumínio e poderá oferecer no primeiro ano de vida, simultâneo à vacinação, a dose mínima necessária da vitamina.

AQUISIÇÃO DE VACINAS A GRANEL E TECNOLOGIA

Não aceitamos como legítimo que o Programa de Auto-Suficiência Nacional em Imunobiológicos (Pasni) se transforme na imagem especular da indústria de fármacos, pública ou privada, limitada à importação de princípios ativos de outros países, dominando apenas a manipulação.

O Butantan negociou com a Aventis a completa transferência da tecnologia da produção da vacina contra influenza, embutindo na aquisição de vacinas a granel, limitada a quatro anos, o pagamento dessa tecnologia. Na negociação, o produto a granel foi adquirido a US\$ 1,60 – US\$ 1,80 por dose, contra US\$ 3,50, mais 3% pelo custo da intermediação oferecida pela Opas. Definitivamente, a Fundação Butantan foi muito mais eficaz na negociação do que a Opas, e o impacto nestes quatro anos foi uma economia da ordem de 100 milhões de dólares para o programa brasileiro de vacinação. Não se trata apenas de economia, mas de viabilizar a introdução da vacina que hoje cobre mais de 90% dos maiores de sessenta anos, associada à revacinação contra difteria e tétano.

A incorporação da tecnologia da influenza foi recentemente garantida pelo acordo de cooperação, segundo o qual a Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo construirá a nova planta com sua infra-estrutura e o MS financiará os equipamentos. Este acordo foi selado na presença do Presidente da República, em cerimônia realizada no Instituto Butantan em 2003. Um pacto similar foi realizado entre Bio-Manguinhos e GlaxoSmithKline (GSKB).

Acordos como o da influenza aceleram a absorção de tecnologia e a auto-suficiência, porém dependem de uma definição muito clara de pontos essenciais. Um deles é que só podem realizar acordos institutos que dominam grande parte da tecnologia, não apenas garantindo sua implementação, mas sendo capazes de analisar a tecnologia

oferecida. É fácil para grandes empresas, prestes a mudar de tecnologia, transferir aquela que será abandonada. Instituições que não dominam tecnologias não têm capacidade de analisar a tecnologia oferecida, nem podem garantir que a absorverão. Sem a assimilação da tecnologia e implantação das plantas de produção, os acordos passam a ser uma cobertura para eterna aquisição de vacina a granel, que se torna monopólio de um fornecedor, ao arrepio do processo licitatório.

No caso da influenza, trata-se de uma vacina de produção complexa, por ser composta de três cepas, anunciadas pela WHO no limite de tempo para sua produção antes da entrada do inverno. Ao optar pelo acordo, que representou milhões de dólares de economia, o Butantan está consciente de que essa tecnologia será a plataforma para o desenvolvimento da nova geração da vacina, eliminando o cultivo em ovos embrionados e pesquisando, pela adição de adjuvantes e veículo apropriado, uma vacina de administração nasal.

O Instituto também já vem investindo no desenvolvimento da vacina contra raiva, produzida em células Vero. Enquanto aguardamos o final do ensaio clínico, este já demonstrou que duas ou três doses da vacina desenvolvem uma resposta imune que exigia até dez doses da antiga vacina Fuenzalida-Palacios. Esse projeto, que suprirá a demanda nacional de vacina contra a raiva, serve de plataforma para a produção de outras vacinas em cultura celular. Com tecnologia própria, o Butantan apenas negociou uma assistência tecnológica pontual (ensaio e processo de liofilização) acoplada à aquisição de vacina a granel até o término do projeto de ensaio clínico. O domínio de produção viral em cultura celular, em suspensão ou em microcarregadores, é fundamental para uma nova família de vacinas. No momento, o Instituto Butantan está concentrado na produção de vírus da raiva para imunização de cavalos na produção do soro anti-rábico.

VACINAS CONJUGADAS

Além da vacina conjugada contra meningites (C=tétano e B=C), o Centro de Biotecnologia iniciou esforços para desenvolver o isolamento de polissacarídeos vacinais, investigando condições de cultivo e cepas para obter alta produtividade. A idéia original da Opas seria um esforço compartilhado de pesquisadores de vários países, que levaria em paralelo ao desenvolvimento da produção dos polissacarídeos de *S. pneumoniae*, para uma vacina com cobertura suficientemente ampla. Depois de um estudo epidemiológico (que infelizmente não mais reflete a realidade atual), ficou estabelecido que a meta seria produzir uma vacina com cerca de sete serotipos. Como o objetivo era a vacinação infantil, e sabia-se que polissacarídeos não eram bons imunogênicos em crianças menores de dois anos, podendo até criar anergia, imaginava-se produzir uma combinação de vacinas, cada uma conjugada. Tratava-se de uma tarefa complexa que não tinha qualquer chance de ser completada, mas o projeto prosseguiu com o subtipo 23F, que usualmente determina uma infecção resistente aos antibióticos habituais.

Entretanto, uma vacina múltipla, além da simples dificuldade de sua fabricação (era romântica a idéia de que cada uma delas seria produzida num laboratório ou país

diferente), teria, como já tem no mercado internacional, um preço extraordinariamente alto para ser introduzido universalmente para crianças e idosos. Esperamos, como alternativa, a produção de uma vacina conjugada com apenas os serotipos antibiótico-resistentes que, com um custo muito menor, reduzirá a internação e/ou uso de antibióticos especiais de alto custo.

O Centro também investiu na tecnologia de produção do polissacarídeo do hemófilo b. Esse projeto foi temporariamente interrompido, quando Bio-Manguinhos negociou a tecnologia com GSKB, porém a estamos retomando para exportação e, eventualmente, produção suplementar.

Uma tecnologia a ser dominada é a da conjugação. A tecnologia tradicional tem um rendimento inferior a 30%, que impede a recuperação do polissacarídeo ou do toxóide, gerando, portanto, um custo alto. Não fomos informados da tecnologia que a GSKB estaria transferindo a Bio-Manguinhos, mas sabemos que existem métodos de conjugação (pelo menos para meningite A - tétano) que chegam a menos de 80%. O Centro está iniciando um setor destinado a pesquisar tecnologias de conjugação, que seriam empregadas tanto para produção da vacina contra meningite B=C e para o Hib conjugado, como para *S. pneumoniae* conjugada. A reação de conjugação depende da estrutura do polissacarídeo e se precisa dominar mais de um processo.

BIOLOGIA MOLECULAR E O DESENVOLVIMENTO DE NOVAS VACINAS

A concepção de equilibrar uma linha de desenvolvimento mais rápido e menos sofisticado com o estímulo à iniciativa dos pesquisadores de enveredar por novas linhas de investigação é, provavelmente, um bom exemplo do sucesso da dualidade, que leva a resultados sem amputar o futuro.

Uma iniciativa que partiu de um grupo de investigadores colocou o Centro de Biotecnologia na era do genoma. O grupo participou ativamente do seqüenciamento do genoma da *Xylella fastidiosa*, primeiro patógeno vegetal que teve sua seqüência completada. Esse primeiro projeto abriu caminho para outros de interesse médico. Os investigadores participaram do seqüenciamento do genoma do câncer humano de cabeça e pescoço, engajaram-se no seqüenciamento da *Leptospira fastridiosa* e do *Schistosoma mansoni*. Existe um racional para identificar no genoma proteínas que podem potencialmente ser antígenos vacinais, como as proteínas transmembrana expostas ao exterior e, portanto, a anticorpos. Nos próximos anos, os antígenos da *Leptospira* e do *Schistosoma* devem ser investigados.

A Fiocruz (Salvador) participou no projeto do genoma da *Leptospira*. Na instituição foi desenvolvido um caminho alternativo, em que a presença de anticorpos em indivíduos infectados com *Schistosoma* levou ao isolamento do antígeno e seu seqüenciamento, que, por sua vez, permitiu o seqüenciamento genético e a clonagem. O Centro de Biotecnologia ofereceu-se para expressar esta proteína para ensaio em animais susceptíveis ao verme, e durante a expressão e *refolding* ficou evidente que seria necessário alterar a seqüência da proteína. O antígeno está sendo fornecido a Bio-Manguinhos para testes em grandes animais.

A produção de clones para expressão de antígenos vacinais vem sendo intensamente estudada pela equipe do Centro. Foram expressos os fragmentos C do tétano, que é imunogênico e protetor; da subunidade B da toxina colérica (CTB), igualmente imunogênica e que atua como adjuvante para vacinas nasais e orais. Igualmente temos clones da *E.coli* que expressam as proteínas PspA e PsaA da membrana do *S. pneumoniae*, que podem ser componentes de uma vacina contra o *S. pneumoniae*. Uma proteína de fusão CTB-PsaA está sendo investigada como vacina nasal. A vacinação com DNA para PsaA juntamente com a sua expressão em *Lactobacillus* foram testadas em animais.

O Centro de Biotecnologia também investiu na idéia de introduzir no BCG genes para antígenos de outros microorganismos patogênicos, criando uma vacina viva e que persiste anos no organismo. Recombinantes com pertussigênio, toxinas diftérica e tetânica ou SM-14 do *Schistosoma* foram construídos e estudados em animais, como vacinas, com bons resultados.

BUTANTAN COMO PARCEIRO INTERNACIONAL

O Butantan vem se firmando internacionalmente como centro de desenvolvimento e como produtor de imunobiológicos, ao que se soma a política social do Brasil, firmemente estabelecida, segundo a qual vacinas são oferecidas gratuitamente à população de recém-nascidos, jovens e maiores de sessenta anos, criando um importante mercado cativo. Hoje ocupamos a presidência do Developing Country Vaccine Manufacture Network. Essa conjuntura vem atraindo o interesse de pesquisadores no exterior que desenvolvem vacinas dirigidas às populações de menos recursos, que buscam um parceiro capaz de escalonar a vacina candidata para ensaios clínicos.

Nem sempre a vacina mais sofisticada é a mais eficaz do ponto de vista epidemiológico, pois depende da disponibilidade e custo da vacinação em massa. Uma vacina celular, não encapsulada contra *S. pneumoniae*, poderia permitir a proteção com recursos modestos, quando comparada a uma vacina com múltiplos polissacarídeos conjugados. Em um projeto de colaboração internacional, estamos investigando a sua produção e, em seguida, sua eficácia contra os vários serotipos. O mesmo vem ocorrendo com a leishmaniose: um grupo da Universidade de Seattle está considerando a transferência de clones vacinais para o Butantan. Além disso, o Butantan negocia com o National Institutes of Health (NIH) a produção da vacina contra rotavírus.

HEMODERIVADOS E IMUNOGLOBULINAS

Há cerca de uma década o Centro de Biotecnologia vem investindo na produção de hemoderivados, uma prioridade nacional que é óbvia para evitar o descarte de cerca de 300 mil litros de plasma colhidos a cada ano e a aquisição de cerca de 100 milhões de dólares ao ano de hemoderivados. Mais uma vez a associação de importadores com responsáveis pelo programa de hemoderivados bloqueou a implantação de uma planta de fracionamento.

Sem acesso ao plasma, o Centro tomou como base o projeto do Laboratório Merieux, que por muito tempo foi um dos grandes produtores de albumina a partir do sangue contido em placentas. Com o congelamento das placentas colhidas em muitos países, o sangue sofre hemólise e o processo de isolamento da albumina exige um complexo processo cromatográfico. A produção da Merieux foi vendida a numerosos países, sem qualquer problema com a transmissão viral, pois incluía etapas viricidas e de remoção viral. A exigência descabida de que as placentas fossem identificadas, ao invés de se basear, como fazia a Merieux, na premissa de que os métodos de purificação eliminariam totalmente os vírus, criou problemas intransponíveis. O perigo da transmissão da enfermidade de Creutzfeldt-Jacob (príons) é real, mas numa proporção insignificante. A identificação da mãe ou do doador de plasma para fracionamento geraria uma informação pouco útil, uma vez que seria pouco provável que, uma década depois, se o doador desenvolvesse a doença, fosse identificado, assim como quais os pacientes que receberam os hemoderivados. Mesmo que o fossem, a informação não permite qualquer prevenção, retardo da doença ou tratamento.

O Centro de Biotecnologia levou o projeto à frente, permitindo o isolamento simultâneo do sangue placentário hemolizado de albumina, imunoglobulina, catalase, superóxido dismutase e transferrina. O uso da placenta como fonte de hemoderivados tornou-se impossível.

Recentemente, retomamos o projeto visando a uma planta de processamento totalmente por cromatografia, que opere à temperatura ambiente, sem operações manuais, sem baixas temperaturas e sem precipitar as frações, o que cria condições para polimerização de proteínas com atividade pirogênica.

A produção de albumina e imunoglobulinas por cromatografia pura foi desenvolvida pela Pharmacia e basicamente implementada na mais moderna planta existente, na Austrália. Todavia, ainda utiliza a crioprecipitação para separar o fator VIII. A crioprecipitação resulta da separação cuidadosa do plasma que foi congelado e degelado, deixando o fator VIII parcialmente insolúvel. O Centro, por sua vez, desenvolveu uma técnica de cromatografia direta do plasma, que permite separar o fator VIII e outros fatores da coagulação, da albumina e da imunoglobulina. O rendimento em fator VIII aumenta, pois não depende de um degelo cuidadoso, com separação do precipitado por centrifugação, que em parte re-suspende o fator VIII no resto do plasma. A Pharmacia investiu na mesma idéia e hoje existem duas etapas alternativas para a separação de fatores de coagulação sem uso do crioprecipitado, eliminando totalmente da planta o processo de degelo e a centrifugação.

Um estudo pormenorizado deu origem a um projeto para uma planta de processamento de 150 mil a 250 mil litros de plasma por ano, com um custo de apenas 30 milhões de dólares, dos quais metade seria destinada à aquisição de equipamentos no mercado brasileiro. A estimativa de uma planta com a tecnologia de Cohn, introduzida na década de 40, que usa precipitação alcoólica a baixas temperaturas e é complemen-

tada por tratamentos antivirais que exigem separação cromatográfica, foi orçada em 60 milhões de dólares. O governo do estado de São Paulo pretende construir e equipar a planta em 2004-2005.

Um processo mais simplificado vem sendo desenvolvido para a purificação de imunoglobulinas do plasma de doadores imunizados contra tétano, raiva, vírus sincicial respiratório e hepatite B e que substituirão o uso de soros hiperimunes em cavalo. A sua importação para pacientes que tomaram soros antipeçonhentos ou outros, com imunidade contra IgG de cavalo, custa, para o MS, mais de um milhão de dólares por ano. Esses doadores devem ser mobilizados (como, por exemplo, veterinários, auxiliares e estudantes de veterinária que manejam cães e que receberiam vacinas contra raiva produzida pelo Butantan), testados para presença de vírus HIV e hepatites B ou C (por PCR) e o processo de purificação validado para eliminação viral atingindo $<10^6$ /ml.

Mais complexo é o uso de doadores com alto nível de anticorpos decorrentes de uma infecção prévia ou ainda persistente de forma crônica, caso em que o aproveitamento do processo deve garantir a eliminação viral. O soro antivírus sincicial é produzido, nos Estados Unidos, a partir de plasma de doadores que foram infectados.

NOVOS SOROS, MONOCLONAIS E BIOFÁRMACOS

O Centro de Biotecnologia iniciou a produção de anticorpos monoclonais em biorreatores em 1990. Investigou o uso de vários tipos de biorreatores, mantendo hibridomas em suspensão, aderidas a *rollers* ou a microcarregadores, ou no interior de fibras ocas. Logrou-se a produção de gramas de anticorpos monoclonais em culturas que continuavam a produzir, mantidas por vários meses. Os processos de purificação foram desenvolvidos. O monoclonal anti-CD3 utilizado para controle de rejeição de alguns transplantes foi produzido e utilizado pelo Instituto do Coração. Uma produção mais industrial está prevista.

Temos hoje tecnologias que estão em implantação para a produção de surfactante pulmonar e toxinas botulínicas. O primeiro deve diminuir a mortalidade perinatal de prematuros, a um custo várias vezes menor do que os produtos existentes no mercado. O que está atualmente em fase de teste clínico contém, como os similares comercializados, fosfolipídios naturais do pulmão e duas proteínas hidrofóbicas. Uma segunda geração do surfactante pulmonar deverá conter proteínas hidrofílicas, que atuam na defesa contra infecções e podem ser de valia para o seu uso em adultos com doenças pulmonares, hoje não tratados com esse produto por causa do seu altíssimo custo. A adição de enzimas antioxidantes ao surfactante usado no prematuro, recuperando tecnologia desenvolvida para isolamento a partir de placentas humanas, pode tornar o produto mais eficaz em prematuros graves.

A produção de aprotinina, usada em cirurgia cardíaca, poderá ser o próximo subproduto do isolamento do surfactante.

APRESENTAÇÃO DE VACINAS

Voltado para o futuro, o Centro de Biotecnologia mantém um laboratório que vem investigando o uso de microcarregadores e lipossomos para apresentação de vacinas. O próprio surfactante pulmonar, que é um lipossomo polilamelar, parece ser um bom adjuvante.