

**Biossegurança no desenvolvimento de vacinas biofármacos e kits de diagnóstico****Biosafety in the development of vaccines, biopharmaceuticals and diagnostic kits**

DOI: 10.34188/bjaerv3n3-062

Recebimento dos originais: 20/05/2020

Aceitação para publicação: 20/06/2020

**José Procópio Moreno Senna**

Doutor em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Instituição: Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio-Manguinhos – FIOCRUZ

Endereço: Avenida Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro – RJ CEP 21040-900

E-mail: jprocopio@bio.fiocruz.br

**Rodrigo Müller**

Doutorando em Ciências e Biotecnologia pela UFF / RJ

Instituição: Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio-Manguinhos – FIOCRUZ

Endereço: Avenida Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro – RJ CEP 21040-900

E-mail: rmuller@bio.fiocruz.br

**RESUMO**

O desenvolvimento e produção de imunobiológicos (vacinas, biofármacos e imunodiagnóstico), requer uma ampla gama de medidas de biossegurança para garantir a segurança de seus funcionários, do produto final e dos consumidores destes produtos. Neste trabalho, procuramos abordar os aspectos da biossegurança nas etapas envolvidas neste processo, segundo nossa experiência trabalhando no Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio-Manguinhos – FIOCRUZ.

**Palavras-chave:** Biossegurança, imunobiológicos, vacinas, biofármacos e imunodiagnóstico.

**ABSTRACT**

The development and production of immunobiologicals (vaccines, biopharmaceuticals and immunodiagnosis), requires a wide range of biosafety measures to guarantee the safety of its employees, the final product and the consumers of these products. In this work, we seek to address the aspects of biosafety in the stages involved in this process, according to our experience working at the Institute of Technology in Immunobiologicals - BioManguinhos - FIOCRUZ.

**Keywords:** Biosafety, immunobiologicals, vaccines, biopharmaceuticals and immunodiagnostic.

**1 INTRODUÇÃO**

Empresas voltadas para a produção de imunobiológicos (vacinas, biofármacos\*, kits e reagentes para imunodiagnóstico) precisam estabelecer uma ampla gama de medidas de biossegurança, capazes de garantir a segurança de seus funcionários, do público consumidor (objetivo final) e do próprio produto em suas várias etapas de desenvolvimento e produção.

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

O desenvolvimento de vacinas, biofármacos e testes de imunodiagnóstico inicia em escala laboratorial, onde o objetivo é a demonstração da eficácia do processo em desenvolvimento (estabelecimento de prova de princípio). Para vacinas: a capacidade de impedir o desenvolvimento ou redução da carga microbiana do patógeno alvo e, para testes diagnósticos, a capacidade de detectar o patógeno com a maior sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade possível.

Durante o *scale-up* – etapa de desenvolvimento intermediário do processo de produção, as normas de biossegurança empregadas devem estar de acordo com o preconizados pelas normas oficiais internacionais (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004), 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.

## **2 DESENVOLVIMENTO DE VACINAS:**

Desde a primeira tentativa de obtenção de uma vacina pelo processo de variolização, 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, segunda e terceira geração (RAPUOLI et al, 2014), destacando:

Primeira geração: baseadas no patógeno modificado ou em subprodutos

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

Segunda geração: baseadas em tecnologia de DNA recombinante

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

Terceira geração: baseadas em OMICS\*\*, vacinologia reversa

- vacinas de mRNA;
- vacinas baseadas em vetores virais.

Apesar da variedade de opções vacinais que possuímos 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 treinada 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 em *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 o CEUA – Comissão de Ética para o Uso de Animais) que deve seguir as Resoluções Normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal onde devem ser observados os seguintes aspectos:

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

Toda a vacina que tenha sua eficácia comprovada na etapa de desenvolvimento (escala laboratorial), deverá ter sua escala de produção aumentada (*scale-up*) para a obtenção de lotes-piloto. 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 fases 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) segurança (ausência de toxicidade, efeitos colaterais) do produto para o consumo da população.

### **3 DESENVOLVIMENTO DE BIOFÁRMACOS**

Os biofármacos, de acordo com a definição como proteínas terapêuticas, possuem aplicações além das destinadas ao tratamento de doenças infecciosas, como tratamento para o câncer, doenças autoimunes e moléculas de reposição (alfapoetina). Para o tratamento de doenças infecciosas, anticorpos monoclonais têm sido desenvolvidos com esta finalidade, e, de uma maneira geral, seguem as mesmas recomendações descritas anteriormente para o desenvolvimento de vacinas. As etapas iniciais, que podem envolver o isolamento de um gene ou proteína a partir do patógeno; bem como nos ensaios de verificação de eficácia, empregando modelos animais de infecção e avaliação da redução de carga do patógeno, em ensaios profiláticos, terapêuticos e de sobrevivência por doses letal e subletal; são aquelas em que as normas de biossegurança descritas anteriormente devem ser seguidas com bastante atenção.

### **4 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 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 e biofármacos, 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 é capaz de causar doença.

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

Para a geração de anticorpos monoclonais por tecnologia de hibridomas, é necessário proceder a imunização em modelo animal, geralmente murino, 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 com esta finalidade, e as condições de biossegurança a serem observadas dependerão do processo de imunização empregado. O imunógeno a ser utilizado pode ser baseado em DNA, proteínas recombinantes ou o próprio patógeno inativado.

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 cultivo de células eucarióticas. Os processos laboratoriais para obtenção de imunógeno para imunização de animais ou para os testes de diagnóstico indireto, realizados por processos laboratoriais a partir do patógeno devem seguir rigorosamente as normas de biossegurança durante o manuseio.

A validação de um imunodiagnóstico requer uma etapa diferente das anteriormente observadas no desenvolvimento de vacinas e biofármacos. 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 ao patógeno que está sendo investigado, mas a outros que podem estar presentes na coleção de soros. Por exemplo, um banco de soros para HIV pode também ter amostras soropositivas para hepatite C, citomegalovírus, Zika, dengue e outras doenças.

Biossegurança em kits de diagnóstico para usuários (geralmente técnicos de laboratório): Os kits a serem utilizados devem ter suas instruções descritas com a maior clareza possível. Quando houver a inclusão de controles positivos deve-se assegurar sempre que possível sua inocuidade.

## **5 BIO-MANGUINHOS: PRODUÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE VACINAS, BIOFÁRMACOS E REATIVOS**

O Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) é a unidade da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) responsável por pesquisa, inovação, desenvolvimento tecnológico e pela produção de vacinas, reativos e biofármacos voltados para atender prioritariamente às demandas da saúde pública nacional. O Complexo Tecnológico de Vacinas (CTV) do Instituto, um dos maiores centros de produção da América Latina, instalado no campus da Fiocruz, garante a autossuficiência em vacinas essenciais para o calendário básico de imunização do Ministério da Saúde (MS).

(captado de <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/home/quem-somos>).

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As medidas de biossegurança observadas no desenvolvimento e produção de imunobiológicos deve seguir as normas recomendadas pelas autoridades competentes em todas as suas etapas, da demonstração da prova de princípio, desenvolvimento do processo até as etapas de produção. Os cuidados no manuseio com patógenos deve se estender do laboratório de manipulação com o

microrganismo ao laboratório de experimentação animal, de forma a manter a biossegurança dos analistas, seguindo as normas vigentes.

No caso de nível de biossegurança animal 3 seguir as orientações impostas pelo gerenciamento do risco em ambientes de alta contenção biológica NB-3 e NBA-3 do Ministério da Saúde e quando envolvidos Organismo Geneticamente Modificados, seguir adicionalmente a Resolução Normativa nº 18 da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança.

No caso de desenvolvimento de kits de imunodiagnóstico, o cuidado no manuseio com amostras clínicas deve ser observado no desenvolvimento e validação do produto, bem como com instruções claras para os usuários.

**Glossário:**

\* Biofármacos são medicamentos obtidos por alguma fonte ou processo biológicos, ou seja, o princípio ativo do medicamento é obtido através do emprego industrial de microorganismos ou células modificadas geneticamente. São consideradas proteínas terapêuticas, incluindo anticorpos monoclonais e seus derivados (WALSH, 2002).

\*\*OMICS – Neologismo cunhado para designar estudos de todos os constituintes considerados coletivamente. Incluem genômica, transcriptômica, proteômica, imunoproteômica, metabolômica e metagenômica (BAGNOLLI ET AL, 2011).

**REFERÊNCIAS**

- Rino Rapuoli, Mariagrazia Pizza, Giuseppe Del Giudice and Ennio De Gregorio. Vaccines, new opportunities for a new society. PNAS, Volume 111, 34: 12288-93. 2014.
- MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO. Organização Mundial da Saúde, terceira edição. 2004.
- LEMOS E., COELHO A., SCHATZMAIR H.R., et al. Procedimentos para manipulação de microrganismos patogênicos e/ou recombinantes na Fundação Oswaldo Cruz, ENSP. 2005.
- 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](http://www.anvisa.gov.br)).
- MINISTÉRIO DA SAÚDE – SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DEPTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia. 3ª ed., 2004
- INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS, BIOMANGUINHOS, <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/home/quem-somos>, 2020.
- WALSH G. Biopharmaceuticals and Biotechnology Medicines: An Issue of Nomenclature. Eur J PharmSci. Mar;15(2):135-8. 2002.
- BAGNOLI, F., BAUDNER B., MISHRA R., BARDOLINI E., FIASCHI L., MARIOTTI P., NARDI-DEI V., BOUCHER P. AND RINO RAPUOLI. Designing the next generation of vaccines for global public health. OMICS, Volume 15, 9:545-66. 2011.