

1. Introdução

Os recentes avanços na biotecnologia permitem superar vários obstáculos tecnológicos encontrados em aplicações industriais que necessitam de uma profunda compreensão dos mecanismos relacionados com o crescimento e controlo celular e que têm como objetivo encontrar bioprocessos eficientes e de baixo custo.¹

O vírus da *influenza* é um problema de saúde pública durante as epidemias sazonais e uma ameaça contínua devido ao seu potencial para causar pandemias.² A grande maioria das vacinas de combate ao vírus *influenza* é produzida utilizando o método tradicional, recorrendo a ovos fecundados de galinhas, criadas em condições controladas, com a finalidade de produzir ovos férteis que são incubados para desenvolvimento do embrião e que serão utilizados exclusivamente na sua produção. O facto dos ovos serem manipulados em ambiente não asséptico acarreta riscos não associados à cultura de células. Para além disso, a cultura de células é um processo mais rápido, mais económico, com regras de segurança, exigidas pela FDA e EMA, mais rigorosas.

2. Objetivos

Descrever todas as etapas de produção da vacina do vírus *influenza* pelos métodos, tradicional e cultura de células e apontar as vantagens deste último relativamente ao método de produção tradicional.

4. Resultados

4.1. A produção da vacina do vírus *influenza* pelo método tradicional

Após a sua receção, já no laboratório a qualidade dos ovos fecundados são analisados por amostragem. Os ovos com boa vascularização, fertilizados e com embriões vivos são inoculados. De seguida são colocados em incubadoras. Após a replicação do vírus, os ovos são colocados na câmara fria para que ocorra a morte do embrião, a retração dos vasos sanguíneos e a libertação do vírus no líquido amniótico. Posteriormente o líquido é colhido, filtrado, clarificado/centrifugado e purificado. O material é depois diluído com um detergente para que ocorra a fragmentação do vírus. Segue-se a clarificação e a filtração do material. De seguida, o vírus é inativado com formaldeído. O produto monovalente é filtrado, esterilizado e sujeito a um controlo de qualidade por amostragem, ao qual sucede a formulação. Nesta etapa são misturados os três tipos de monovalente e outras substâncias, para que a vacina fique com a composição e diluição final, procedendo-se à sua embalagem em frascos, os quais são, posteriormente, armazenados numa câmara fria. Por fim, depois de um controlo de qualidade do produto, procede-se à sua embalagem final (caixa) e respetiva rotulagem⁴(Figura 1).



Figura 1 – Produção da vacina do vírus *influenza* pelo método tradicional

4.2. Produção de vacinas com origem na cultura de células

A cultura de células foi considerada uma alternativa para garantir uma resposta rápida comparativamente ao método de produção tradicional. A cultura de células combinada com a filtração e a cromatografia é um método válido para a produção da vacina contra o vírus da gripe. Em todo o processo é necessário ter em conta características técnicas e de fabrico que são fundamentais, designadamente, a escolha das células, o sistema de produção, a purificação, os rendimentos, a reprodutibilidade e repetibilidade, a estabilidade de produto e as *timelines*. Os fabricantes de vacinas usam, predominantemente, células do rim caninas da raça Madin-Darby (MDCK) ou células de rim do macaco verde africano (Vero), para além de outros substratos⁴. A figura 2 mostra as etapas do processo de produção de vacinas da gripe com base em cultura de células.

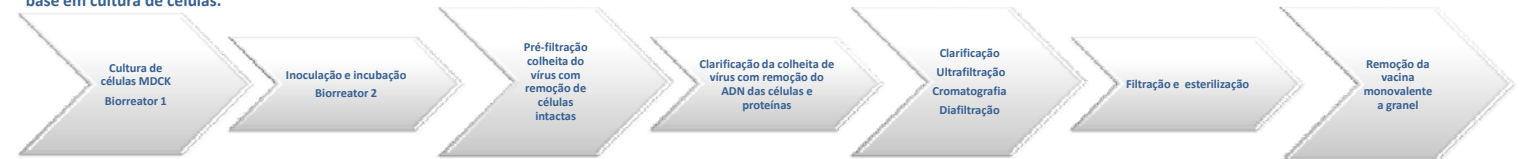


Figura 2 – Produção da vacina do vírus *influenza* pelo método da cultura de células

A tabela 1 apresenta as vantagens do método de produção de vacinas pelo método da cultura de células comparativamente ao método de produção tradicional.

Tabela 1 – Vantagens da produção da vacina do vírus *influenza* pelo método da cultura de células^{5,6}

<ul style="list-style-type: none"> • Permite o crescimento de todos os vírus da gripe • A estirpe H3N2 é difícil de isolar em ovos • Disponível em curto prazo durante toda a estação • O prazo de execução é mais curto em comparação com o método tradicional • Pode não haver ovos suficientes em caso de um surto da gripe • A logística é mais fácil e simples • A eliminação de resíduos é menor • São mantidas em ambiente asséptico fechado durante todo o processo a montante e a jusante. 	<ul style="list-style-type: none"> • Risco de contaminação reduzido durante a produção • Processo de produção é mais consistente e controlado • O grau de pureza do material <i>input</i> é mais elevado • As vacinas de vírus inteiros são seguras e viáveis • Reduz o tempo de produção de vacinas • Podem fornecer imunidade mais ampla para diferentes variantes da gripe • São seguras para pessoas com alergia a ovos
---	--

5. Conclusão

A biotecnologia tem contribuído de forma decisiva para o aperfeiçoamento de bioprocessos relacionados com o desenvolvimento e produção de vacinas mais seguras, eficazes e polivalentes. Estes processos apresentam vantagens tais como serem mais rápidos, mais económicos, e a capacidade de darem uma resposta rápida e eficiente em caso de ocorrerem crises pandémicas.

6. Bibliografia

1. Michalis Koutinas, M.; Kiparissides, A.; Pitsikopoulos, E.; Mantalari, A. Bioprocess systems engineering: transferring traditional process engineering principles to industrial biotechnology. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 3, (4), October 2012, e 201210022, <http://dx.doi.org/10.5936/csbj.201210022>
2. Frensing T, Heldt FS, Pflugmacher A, Behrendt J, Jordan I, et al. (2013) Continuous Influenza Virus Production in Cell Culture Shows a Periodic Accumulation of Defective Interfering Particles. *PLoS ONE* 8(9): e72288. doi:10.1371/journal.pone.0072288
3. Miyaki, C. *Vacina de Influenza*. In atas do Simpósio Produção de Vacinas no Brasil: Problemas, Perspectivas e Desafios Estratégicos. Academia Brasileira de Ciências, 2013
4. Zuccotti, G; Fabiano, V. Strategies for preventing influenza: future perspectives in influenza vaccine technology. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2011, 11: 1-4.
5. Glezen, W. Cell-culture-derived influenza vaccine production. *The Lancet*, 2011, 377: 698-700.
6. Minor, P.; Engelhardt, O.; Wood, J. et al. Current challenges in implementing cell-derived influenza vaccines: implications for production and regulation, July 2007, NIBSC, Potters Bar, UK. *Vaccine* 2009; 27:2907-2913.