

Instituto Butantan vai produzir vacina contra meningite C

painéis, onde se discutiam, a cada três anos, a qualidade e a relevância dos projetos financiados. Tornava-se necessário, a partir daí, concentrar-se em gerenciamento e em resultados mensuráveis de projetos e programas, para oferecer ao Executivo e ao Congresso respostas objetivas sobre o que a agência faz, o que fazem seus bolsistas e que contribuições sócio-econômicas isso assegura para a sociedade norte-americana.

Nesse esforço, a agência chegou inclusive a um quadro de oito palavras ou expressões chaves para avaliar resultados de projetos, que lhe vão permitindo responder, por exemplo, se o projeto propiciou uma descoberta; se possibilita uma relação dinâmica entre pesquisa e educação e se há uma conexão entre a descoberta e sua utilização pela sociedade. Ou ainda se o projeto contribui para aumentar a presença dos EUA na pesquisa mundial e se serve para ampliar a capacitação do público em Ciências e Matemática.

De qualquer sorte, não está na lista eventuais efeitos sobre crescimento econômico e por isso mesmo, segundo a doutora Susan, ela ainda não resolve “a tensão da demanda do Congresso por metas e resultados econômicos”. Daí a perplexidade.

Existe, portanto, no momento, ainda um esforço internacional para elaborar metodologias capazes de efetivamente traduzir os resultados da pesquisa científica e tecnológica, segundo a relação custo/benefício dos investimentos. E algumas agências brasileiras, a FAPESP entre elas, já estão participando desse esforço, na verdade sem grande defasagem em relação ao estado da arte desse gênero de avaliação nos países mais desenvolvidos.

Ao mesmo tempo em que dá seguimento, junto com o Instituto Adolfo Lutz e a Fundação Oswaldo Cruz, à pesquisa para formulação de uma vacina brasileira contra a meningite B, o Instituto Butantan prepara-se para produzir até o final deste ano, em escala comercial e com tecnologia própria, uma vacina contra a meningite C. A produção só não pode ser iniciada imediatamente porque é preciso concluir a construção do prédio previsto para a nova atividade no Instituto e adequá-lo às normas de fabricação de medicamento injetável do GMP (Good Manufacturing Practices).

Feito isso, o Butantan começará a contribuir para suprir a falta, no mercado nacional, de uma vacina contra meningite C fabricada no país, provocada pela interrupção da produção da Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz, desde o ano passado.

A vacina fornecida pela instituição do Rio de Janeiro tinha por base tecnologia transferida nos idos de 73/74 pelo Instituto Mérieux, da França. O produto desenvolvido pelo Instituto Butantan, com apoio da FAPESP, inovou essa tecnologia em etapas decisivas do processo de obtenção do polissacarídeo capsular, ou seja, o antígeno, aquilo que provoca a reação do sistema imunológico à doença.

“Desenvolvemos um método alternativo para a purificação do antígeno, o polissacarídeo capsular da bactéria *Neisseria meningitidis C*”, resume a pesquisadora Martha Massaro Tani-zaki, aproveitando para informar

que já foi solicitada ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial, INPI, a patente do novo processo.

Esse resultado, embora tenha aparecido no âmbito de um projeto desenvolvido com apoio financeiro da FAPESP entre 1994 e 1996 (auxílio à pesquisa), na verdade se enraíza num esforço que já vem de longa data.

Mais precisamente, foi em 1989 que o Ministério da Saúde decidiu que havia chegado o momento de desenvolver uma vacina brasileira contra meningite, depois de o país ter vivido alguns percalços com importações do produto, exigidas por epidemias da doença — as mais famosas são a de 1971, do grupo C, enfrentada com a vacina do Instituto Mérieux, e a de 1982, do grupo B, atacada com a vacina cubana. A partir da decisão federal, o Butantan, o Adolfo Lutz, e a Fiocruz, engajaram-se na proposta, concentrados na busca da vacina do sorogrupo B.

Mas no decorrer do processo, sem deixar de lado o trabalho com a vacina B, o Instituto Butantan, isoladamente, decidiu investir no aperfeiçoamento do método de obtenção do antígeno da meningite C.

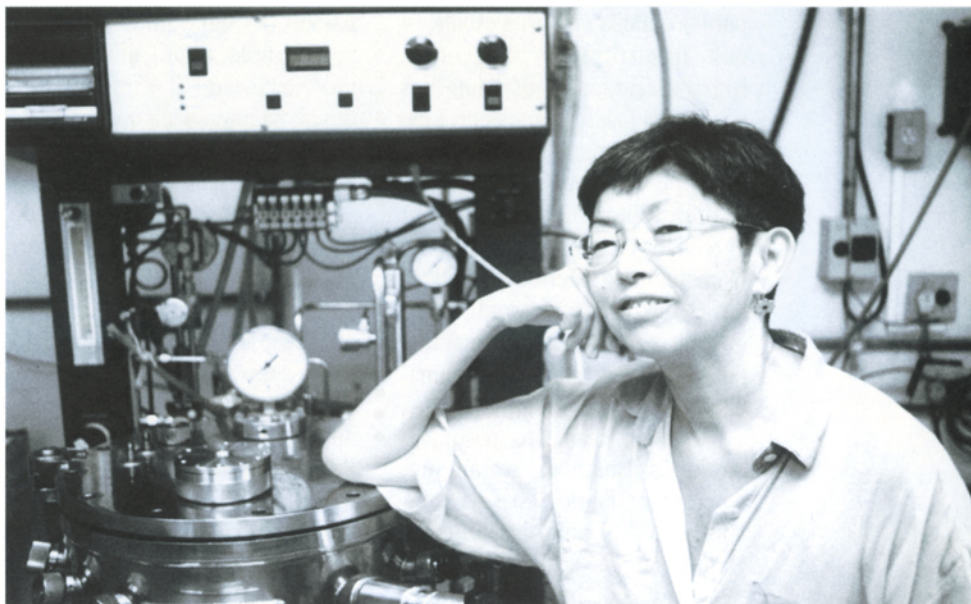
Eliminando gargalos

Traçado esse objetivo, a equipe de pesquisadores do Butantan começou por modificar o método de purificação do antígeno, o polissacarídeo C, para livrá-lo dos contaminantes: proteínas, ácidos nucléicos (DNA e RNA) e LPS (lipopolissacari-

deos), ou seja, a endotoxina que injetada no organismo produz febre, náusea e vômitos, entre outros desagradáveis efeitos colaterais.

Para eliminar as proteínas, os pesquisadores usaram não o fenol, como manda o protocolo do Instituto Mérieux, mas protease. “O fenol é tóxico, é supercorrosivo e no processo usado, todo manual, o material obtido das bactérias era extraído várias vezes com a solução de fenol. Nós o substituímos por incubação com uma mistura de proteases (enzimas proteolíticas) que digerem a proteína contaminante”, explica Martha Tanizaki.

Em relação aos ácidos nucléicos, seguiu-se o procedimento recomendado pelo instituto francês, a precipitação com 25% de etanol. Mas uma vez que



só com isso continuava alto o nível de contaminação, completou-se o processo, segundo Martha Tanizaki, usando-se uma enzima, a nuclease.

Na segunda etapa de purificação, visando a eliminação completa da endotoxina, os pesquisadores substituíram a ultracentrifugação — método caro

Martha Tanizaki: pesquisa começou pela vacina B e chegou antes à C

DESAFIOS NA PESQUISA DA VACINA B

As três instituições engajadas a partir de 1989 no projeto de desenvolvimento da vacina brasileira contra a meningite B — Instituto Butantan, Instituto Adolfo Lutz e Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz — puderam contar desde o início da pesquisa com a assessoria externa do microbiologista norte-americano Carl Frash, da Food and Drug Administration (FDA).

A proposta apresentada aos pesquisadores brasileiros por Frash, que já havia ajudado os cubanos a desenvolver sua vacina, mantinha o princípio de aproveitamento de vesículas da bactéria para produção das vacinas, usado tanto pelo produto cubano, quanto pelo norueguês, lançado recentemente no mercado.

Vesículas, explica a pesquisadora Martha Tanizaki, são uma espécie de protuberâncias da membrana da bactéria, formadas por fosfolípidos e determinadas proteínas (porinas), e que ocorrem quando a bactéria cresce em meio de fermentação. Purificadas

em seguida, tornam-se, pode-se dizer, a própria vacina.

Frash, em sua proposta, acrescentava ao aproveitamento das vesículas a necessidade de enriquecer o antígeno com as IRPs (Iron Regulated Proteins), proteínas que foram descritas pela literatura especializada como geradoras de anticorpos bactericidas no organismo e, portanto, potencialmente capazes de elevar o poder de imunização da vacina.

Com base nessas linhas, foram estabelecidas as diferentes tarefas das instituições. O Adolfo Lutz se encarregou de isolar as cepas da bactéria e escolher as mais adequadas, do ponto de vista de sua prevalência no Brasil, da facilidade de fermentação e da facilidade de provocar a síntese de proteínas induzidas pela ausência de ferro no meio de fermentação. Isso feito, o Butantan e a Fiocruz teriam que conseguir a fermentação da cepa em grande escala e obter, também em grande escala, o antígeno da vacina.

“Nós conseguimos, depois de alguns anos de trabalho”, diz a doutora Martha Tanizaki. Ela observa que o grupo tentou usar a ultrafiltração tangencial no processo de obtenção da vesícula do sorogrupo B, mas não foi bem sucedido e optou nesse caso por ultracentrifugação. Agora, a vacina está em processo de validação e em breve deverá ser testada em uma pequena população de adultos voluntários.

Em paralelo, a equipe está trabalhando na tecnologia de conjugação de proteínas ao polissacarídeo C, com duas possibilidades: o desenvolvimento de uma vacina conjugada do toxóide tetânico com o polissacarídeo C e o desenvolvimento de uma vacina dupla B e C. Qualquer das duas poderia resolver o problema da aplicação da vacina contra meningite C em crianças menores de dois anos, que não tem efetividade quando não há proteína conjugada.

para produção em larga escala — por ultrafiltração tangencial. Martha Tanizaki dá detalhes sobre essa fase: “O que ocorre é o seguinte: a endotoxina (LPS) tem baixo peso molecular, mas como é hidrofóbica tende a formar agregados de alto peso molecular. O método do Mérieux mandava ultracentrifugar o material, com o que o LPS depositava, enquanto o polissacarídeo ficava no sobrenadante”.

Em vez disso, os pesquisadores do Butantan usaram um detergente fisiológico (deoxicolato de sódio) para desagregar a endotoxina, até transformá-la em monômeros de baixo peso molecular. O material foi concentrado por ultrafiltração tangencial (na qual os filtros são colocados em posição vertical), retendo-se o polissacarídeo e perdendo-se no ultrafiltrado, além dos monômeros de endotoxina, as proteínas e ácidos nucléicos que se tornaram de baixo peso molecular pela ação da protease e da nuclease.

A grande vantagem do processo é que os sistemas de ultrafiltração tangencial, além de serem mais econômicos que as ultracentrífugas, são ao mesmo tempo mais flexíveis, porque permitem que se trabalhe em uma faixa bem ampla de volumes: o mesmo equipamento está projetado para trabalhar, por exemplo, numa faixa de 10 a 100 litros. Um aumento ainda maior de escala pode ser obtido simplesmente aumentando-se o número de filtros.

Meta de crescimento

Quando iniciar a produção da vacina C, usando a mão-de-obra de apenas três funcionários e utilizando o fermentador de que já dispõe — de 80 litros, com capacidade de processamento de 60 litros —, o Butantan pretende fabricar 20 mil doses do produto por semana. Isso significa pouco mais de 1 milhão de doses anuais, o que, em caso de uma epidemia, é insuficiente para atender a demanda mesmo no

Estado de São Paulo. Em 1990, por exemplo, foram aplicadas em todo o Estado 2,4 milhões de doses, na população de 3 meses a 6 anos, com uma cobertura de 92% desse grupo etário.

Mas está no projeto do Instituto a aquisição de um fermentador de 800 litros, o que pode aumentar a capacidade de produção em 10 vezes - chegando-se a um volume suficiente até para suprir a demanda nacional, na eventualidade de um surto. Para se ter uma idéia, a Coordenação Nacional de Doenças Imuno-Preveníveis solicitou à Coordenação Nacional do Programa de Imunização, para 1997, a disponibilização de um total de 10 milhões de doses de vacinas contra meningites A e C, prontas para uma eventual epidemia. “Elas estão aqui e até o momento, graças a Deus, não foi preciso usar nada”, diz a coordenadora do Programa de Imunização, doutora Maria de Lourdes Maia.

O projeto de pesquisa das vacinas contra meningites C e B teve até agora um custo de aproximadamente R\$300 mil, segundo o diretor do Instituto Butantan, professor Isaias Raw. Nesse total, cerca de R\$60 mil foram financiados pela FAPESP. As outras fontes financiadoras são o Ministério da Saúde, a Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo e a FINEP, Financiadora de Estudos e Projetos através do PADCT, Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Já o prédio e os equipamentos para a produção das vacinas chegarão a um custo de cerca de R\$1 milhão, boa parte deles financiada pelo PADCT.

Notícias FAPESP é uma publicação mensal da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

Conselho Superior

Prof. Dr. Carlos Henrique de Brito Cruz
(Presidente)

Prof. Dr. José Jobson de A. Arruda
(Vice Presidente)

Prof. Dr. Adilson Avansi de Abreu
Prof. Dr. Alcir José Monticelli
Prof. Dr. Antonio M. dos Santos Silva
Prof. Dr. Celso de Barros Gomes
Prof. Dr. Flávio Fava de Moraes
Prof. Dr. Joji Ariki
Prof. Dr. Maurício Prates de Campos Filho
Dr. Mohamed Kheder Zeyn
Prof. Dr. Ruy Laurenti
Prof. Dr. Wilson Cano

Conselho Técnico-Administrativo

Prof. Dr. Francisco Romeu Landi
(Diretor Presidente)

Prof. Dr. Joaquim J. de Camargo Engler
(Diretor Administrativo)

Prof. Dr. José Fernando Perez
(Diretor Científico)

Equipe Responsável

Coordenação
Prof. Dr. Francisco Romeu Landi
Edição- Mariluce Moura (MTB -2242)
Arte- Valdir Oliveira

FAPESP- Rua Pio XI n.º 1500
CEP: 05468-901- Alto da Lapa
São Paulo - SP - Tel: (011) 838-4000
Fax: (011) 261-4167
Telex: (011) 82014 FAPQ.

Este Informativo está disponível na home page da FAPESP
<http://www.fapesp.br>
Também pode ser recebido por via eletrônica encaminhando-se o pedido para e.mail: mariluce@trieste.fapesp.br

SECRETARIA DA
CIÊNCIA
TECNOLOGIA E
DESENVOLVIMENTO
ECONÔMICO



GOVERNO DO ESTADO
DE SÃO PAULO

