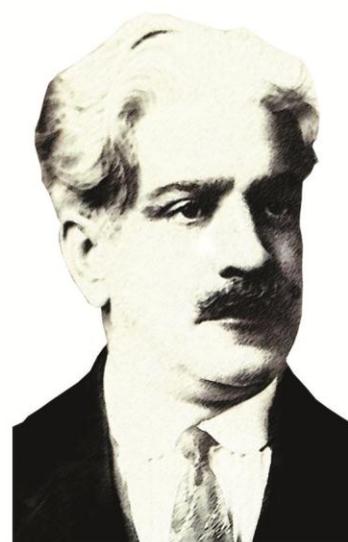
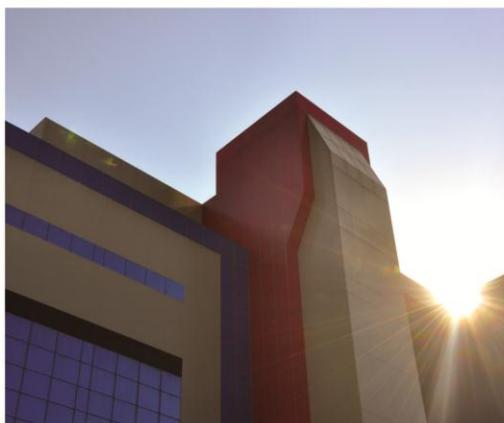


Anais

II Simpósio Internacional de Imunobiológicos

Rio de Janeiro, 4-6 de Maio de 2011



Evento Comemorativo dos 35 Anos de Bio-Manguinhos



Ministério da Saúde

FIUCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Instituto de Tecnologia
em Imunobiológicos

Bio-Manguinhos



**35 ANOS DE BIO-MANGUINHOS:
BALANÇO E PERSPECTIVAS**

ANAIS DO II SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM IMUNOBIOLOGICOS

Presidente de Honra / President of Honor

Paulo Ernani Gadelha Vieira, Presidente da Fiocruz

Coordenação Geral / General Coordination

Artur Roberto Couto, Diretor de Bio-Manguinhos

Comissão organizadora / Organizing Committee

Andrea Good Couto

Cristiane Frensch Pereira

Denise Maria Lobo Crivelli

Isabella Lira Figueiredo

Maria de Lourdes Sousa Maia

Comissão científica / Scientific Commission

Coordenação / Coordination: Akira Homma e Reinaldo de Menezes Martins

Antonio Gomes Pinto

Ellen Jessouroun

José Antonio Pinto de Sá Ferreira

Marcos da Silva Freire

Marco Aurélio Krieger

Maria da Luz Fernandes Leal

Nadia Maria Batoreu

Ricardo Galler

Tatiana Guimarães de Noronha

Sheila Farage

Secretária Executiva / Executive Secretary

Beatriz de Castro Fialho

Assessoria de Comunicação de Bio-Manguinhos (ASCOM) / Bio-Manguinhos

Press Office

Coordenação / Coordinator: Renata Ribeiro Gómez de Sousa

Alessandra Lopes

Bernardo Portella

Danielle dos Santos

Danielle Guedes

Denise Messias do Nascimento

Elis Galvão

Flávia Lobato

Rodrigo Pereira

Sany Dallarosa

Convidados Institucionais / Invited guests

Unidades Técnicas da Fiocruz

Ministério da Saúde (MS) - SVS; SCTIE; PNI/SVS

Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT) – CNPq; FINEP

Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)

Sociedade Brasileira de Pediatria

Sociedade Brasileira de Infectologia

Sociedade Brasileira de Microbiologia (SBM)

Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (SBMT)

Sociedade Brasileira de Hepatologia

Sociedade Brasileira de Imunologia

Sociedade Brasileira de Virologia

Associação Brasileira de Pós-Graduação em Saúde Coletiva (Abrasco)

Associação Brasileira de Imunizações (SBIM)

Associação Brasil. Indúst. Química Fina, Biotecnologia e suas Especialidades –
ABIFINA

Organização Panamericana da Saúde (OPAS/OMS)

Instituto Nacional do Câncer (INCA)

Instituto Sabin de Vacinas

Instituto Butantan

Instituto de Tecnologia do Paraná (Tecpar)

Instituto Vital Brasil (IVB)

Fundação Ataufo de Paiva (FAP)

Fundação Ezequiel Dias (FUNED)

Banco Nacional de Desenvolvimento (BNDES)

GlaxoSmithKline Brasil (GSK)

SanofiPasteur

Embaixada Cubana

Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro

Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro

ÍNDICE

I. Prefácio – Artur Couto

II. Introdução

1. Apresentação - Akira Homma, Reinaldo Martins e Cristina Possas.
2. Os 35 Anos de Bio-Manguinhos e os novos tempos - Akira Homma

II. Biofármacos

4. Tendências mercadológicas em biofármacos - Peter Charlish
5. A ética da geração e equidade de acesso aos novos produtos e à saúde global – Agustín Lage Dávila
6. Plataformas tecnológicas de produção de biofármacos - David Aviezer
7. Programa de inovação tecnológica e produção de biofármacos em Bio-Manguinhos - Elezer Lemes e Nadia Batoreu

III. Vacinas e imunizações

8. Evolução histórica e impactos de vacinas e vacinações no Brasil - João Baptista Risi Jr.
9. Evolução histórica e impactos de vacinas e vacinações no mundo - Ciro de Quadros
10. Desenho de vacinas para países em desenvolvimento - Debra Kristensen
11. Plataformas tecnológicas e produção de vacinas - Vidadi Yusibov
12. Programa de inovação tecnológica e produção de vacinas de Bio-Manguinhos - Ellen Jessouroun e Wilson Bucker Aguiar Jr.

IV. Reativos para diagnóstico

13. As novas tecnologias de diagnósticos e vitórias contra doenças - Carlos Morel
14. Tendências mercadológicas em reativos para diagnóstico laboratorial de doenças importantes para a Saúde Pública - Brendan O'Farrell
15. Plataformas tecnológicas de reativos para diagnóstico laboratorial - Marco Krieger
16. Produção de Reativos para Diagnóstico em Bio-Manguinhos - Raouf Emile Sykora

V. Inovação tecnológica e regulação.

17. Criando ambiente propício à inovação tecnológica de imunobiológicos - Carlos Gadelha

18. O papel regulador da ANVISA na perspectiva do desenvolvimento tecnológico - Dirceu Barbano

19. Avanços e desafios em imunização na América Latina - Brendan Flannery

20. Tendências tecnológicas do desenvolvimento de vacinas - Julie Milstien

VI. Resumos

VII. Programa

I. PREFÁCIO

O Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos da Fundação Oswaldo Cruz (Bio-Manguinhos) organizou o II Simpósio Internacional de Imunobiológicos como marco comemorativo de seus 35 anos de existência.

Contando com a participação de especialistas de diversas áreas do conhecimento e atuação, representativos da saúde pública brasileira e mundial, este Simpósio possibilitou a troca de experiências e informações em áreas estratégicas como vacinas, reativos para diagnóstico laboratorial e biofármacos.

Cabe destacar que este Simpósio ocorreu em um cenário internacional de importantes mudanças no que diz respeito à inovação tecnológica nos campos mencionados, constituindo uma oportunidade singular para a aproximação de instituições públicas e privadas do setor de imunobiológicos e possibilitando identificar perspectivas de novas parcerias tecnológicas com foco nas necessidades do Ministério da Saúde.

Este Seminário contribuiu, sobretudo para um balanço das conquistas alcançadas até aqui, das lacunas a serem superadas e para reflexões sobre novas perspectivas para a atuação institucional, permitindo que Bio-Manguinhos venha consolidar seu papel estratégico como laboratório público produtor e como um dos maiores centros produtores de vacinas, biofármacos e kits para diagnóstico de doenças infecto-parasitárias da América Latina.

Artur Roberto Couto
Diretor de Bio-Manguinhos

II. INTRODUÇÃO

Apresentação

O Simpósio Internacional de Imunobiológicos, iniciado em 2006, é um fórum quinzenal organizado por Bio-Manguinhos, com a finalidade de reunir especialistas de diversas instituições públicas e privadas brasileiras e de outros países, para apresentar, discutir e fomentar estudos, pesquisas e inovações envolvendo vacinas, biofármacos, reativos para diagnóstico laboratorial e regulação, buscando novas estratégias para o desenvolvimento de produtos com impacto na saúde pública. Ele tem também por objetivo estimular colaborações internacionais e estimular o interesse de estudantes e jovens brasileiros pela pesquisa neste campo.

Embora importantes conquistas tenham ocorrido em escala mundial nesta área nas últimas décadas, com a erradicação e controle de diversas doenças preveníveis por vacinas, é necessário avançar e superar rapidamente as lacunas existentes, acelerando o processo inovativo e aumentando de forma significativa a produção nessa área, o que permitirá alcançar populações até então excluídas da possibilidade de acesso a esses produtos.

Este Simpósio possibilitou uma reflexão em profundidade sobre uma ampla gama de questões, permitindo que se realizasse em poucos dias um balanço sobre o estado da arte de todos os componentes do *continuum* que envolve a pesquisa, o desenvolvimento tecnológico e a produção de vacinas, biofármacos e reativos para diagnóstico.

As reflexões apresentadas nestes Anais certamente apoiarão as autoridades governamentais brasileiras na definição de prioridades nacionais para pesquisa, desenvolvimento, produção e controle de qualidade destes produtos e na definição de estratégias que permitirá acelerar a introdução de vacinas novas e aperfeiçoadas no Programa Nacional de Imunizações. Elas permitem também evidenciar o papel crucial desempenhado por Bio-Manguinhos na pesquisa, desenvolvimento e produção de insumos estratégicos para a saúde pública. Apontam para o fato de que Bio-Manguinhos, aproveitando os ensinamentos desse Seminário, tem uma excelente oportunidade de rever suas estratégias e dar um salto decisivo no campo do desenvolvimento tecnológico e da inovação, promovendo o avanço da *expertise* tecnológica na área, enfrentando ao mesmo tempo os desafios relacionados à gestão do processo de transferência de tecnologia, à indução do processo endógeno de inovação, além do enfrentamento de questões operacionais diversas relacionadas à produção, ao controle de qualidade e à comercialização desses insumos estratégicos.

Este Seminário destacou ainda a grande importância do papel indutor governamental, em particular nos países em desenvolvimento, para possibilitar e facilitar o fluxo de desenvolvimento de vacinas, biofármacos e reativos para diagnóstico, num *continuum* que vai da ciência básica à implementação.

Finalmente, este Simpósio contribuiu para ressaltar mais uma vez o enorme impacto social destes insumos de prevenção: eles são considerados, dos instrumentos de intervenção em saúde, os mais custo-efetivos e permitem ao ampliar a possibilidade de acesso à saúde, vencer as barreiras da pobreza e da exclusão social, assegurando a tão almejada equidade que fundamenta o sistema de saúde brasileiro (SUS) e os princípios de nossa Constituição.

Akira Homma, Reinaldo Martins e Cristina Possas

Os 35 anos de Bio-Manguinhos e os novos tempos

Akira Homma, Presidente, Conselho Político e Estratégico de Bio-Manguinhos / Fiocruz.

O Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos / Bio-Manguinhos, foi criado em 04 de Maio de 1976 como Unidade Técnica da Fundação Oswaldo Cruz / Fiocruz, a partir do Departamento de Produção do Instituto Oswaldo Cruz /IOC. No entanto, sua origem remonta ao Instituto Soroterápico Federal, criado em 1900 com as funções de desenvolver e produzir as vacinas necessárias para combater as grandes epidemias que assolavam Rio de Janeiro e país no século passado e estas funções e responsabilidades foram herdadas por Bio-Manguinhos.

Ao celebrar o aniversário de 35 anos, Bio-Manguinhos é uma instituição ainda jovem, e graças ao intenso e contínuo trabalho realizado ao longo dos anos, buscando sempre cumprir com sua missão institucional, conseguiu resultados palpáveis e vem recebendo reconhecimento positivo da comunidade da Fiocruz, do Ministério da Saúde e da Sociedade Brasileira. Em várias ocasiões, teve atuação destacada em emergências epidemiológicas, fornecendo vacinas de forma oportuna, como foram situações de surtos de meningite meningocócica em várias ocasiões, nos recrudescimentos de surtos de febre amarela, tendo os últimos eventos acontecidos em 1998 e 2007 e em vários anos, atendendo demandas especiais geradas por situações não esperadas. O adequado fornecimento de vacinas por Bio-Manguinhos ocorrida nestas ocasiões foi fundamental para o Ministério da Saúde intervir de forma adequada e evitar mal maior, como uma epidemia ou desabastecimento de insumos estratégicos. Também vem atuando de forma muito importante na regulação de preços, como tem sido com o fornecimento de biofármacos – eritropoetina e interferon e reativos para diagnóstico laboratorial de tecnologia atualizada e moderna.

Desde 2001 é pré-qualificado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para o fornecimento da vacina da febre amarela para as Agências das Nações Unidas e neste contexto já exportou mais de 115 milhões de doses para 74 países. Mais recentemente, em 2008, recebeu a pré-qualificação também para a vacina meningite meningocócica, tipos A e C, e neste período enviou cerca de 10 milhões de doses para os países do cinturão de meningite da África.

Com a preocupação permanente de atender a demanda de insumos estratégicos gerados pelos diferentes programas do Ministério da Saúde, Bio-Manguinhos estabeleceu e fortaleceu as atividades de inovação e desenvolvimento tecnológico. Neste contexto, melhorou substantivamente a termo-estabilidade das vacinas de sarampo e febre amarela e também implementou aperfeiçoamentos tecnológicos nos processos produtivos destas vacinas. Vários kits de diagnóstico laboratorial foram desenvolvidos internamente, a partir da parceria com o IOC. Buscando potencializar as atividades de inovação tecnológica, estabeleceu parcerias tecnológicas com várias instituições de pesquisa nacionais e estrangeiras.

Pela necessidade de acelerar o processo de incorporação de tecnologia de produção de novas vacinas, estabeleceu acordos de transferência tecnológica para as vacinas de meningite meningocócica tipos A e C polissacarídica com o Instituto Mérieux, sarampo e poliomielite, com a interveniência da JICA e desenvolvidos, respectivamente com o Instituto Biken/Universidade de Osaka e com o Japan Poliomyelites Research Institute, e com a GSK as vacinas de *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib), tríplice viral (SCR), rotavirus, pneumococos. Estabelecemos também acordos de transferência de tecnologia de produção com a Chembio para os testes rápidos para diagnóstico laboratorial e com instituições Cubanas a eritropoetina com o Instituto de Imunologia Molecular e interferon alfa com o Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética. Estes acordos permitiram o treinamento especializado de profissionais de Bio-Manguinhos em laboratórios de produção de ponta, gerando, além de vários desdobramentos tecnológicos em outras áreas, como nos projetos de desenvolvimento tecnológico e mesmo na área de gestão institucional.

Para poder cumprir com novas responsabilidades de produção, as instalações laboratoriais foram modernizadas de tal forma a cumprir com os requerimentos de Boas Práticas de Fabricação (BPF). O Complexo Tecnológico de Vacinas (CTV) do Instituto, um dos maiores e mais modernos centros de produção da América Latina, instalado no campus da Fiocruz vêm contribuindo para a auto-suficiência em vacinas essenciais para o calendário básico de imunização do Ministério da Saúde.

Com a crescente modernização de seu parque industrial, o número de imunobiológicos entregue ao Programa Nacional de Imunizações (PNI) do MS aumenta anualmente. Em 2009, foram mais de 128,7 milhões de doses de vacinas entregues ao Programa Nacional de Imunizações (PNI), correspondendo a mais de 60% das vacinas utilizadas pelo programa. Também foram entregues 4,3 milhões de reações de kits para diagnóstico laboratorial e 8,1 milhões de frascos de biofármacos. A produção garante à população brasileira acesso gratuito a produtos de alta tecnologia e a redução dos gastos do Ministério da Saúde. Para que essa seja a atual realidade de Bio-Manguinhos, cerca de 1.200 funcionários de servidores públicos, terceirizados e bolsistas, trabalham no Instituto nas diferentes áreas, para mantê-lo como referência na área da saúde pública, desempenhando um papel estratégico para o Brasil.

O crescimento de Bio-Manguinhos foi resultado de vários fatores, os quais de forma conjunta contribuíram para o desenvolvimento institucional de Bio-Manguinhos. O fortalecimento de políticas públicas, especialmente do Programa Nacional de Imunizações (PNI) criado em 1973, a estruturação e fortalecimento do sistema de Qualidade, na área de vacinas, que teve início na década de 1980, ensejando a criação do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) em 1981 na Fiocruz e de vigilância epidemiológica.

Na sua criação, o calendário de vacinas do PNI continha vacinas contra 6 doenças (BCG, OPV, Sarampo e DTP) e hoje, computados os imunobiológicos do CRIE, são

mais de 20 biológicos, inclusive as vacinas que foram recentemente registradas, como a vacina de rotavirus e de pneumococos. Mais recentemente, o PNI ampliou seu escopo original de atender apenas crianças, para adolescentes, adultos e índios. O INCQS é hoje o braço laboratorial da ANVISA, e este por seu lado, cresceu muito e está desenvolvendo uma atividade de suma importância na área de regulação sanitária; toda vacina utilizada no país em programas públicos de vacinação, passam pelo controle de qualidade do INCQS e que libera para aplicação, garantindo a qualidade da vacina utilizada no PNI. A vigilância epidemiológica foi organizada em todo o país, com participação dos estados e municípios, com capacidade para “reunir a informação indispensável para a conhecer, a qualquer momento, o comportamento ou história natural das doenças, bem como detectar ou prever alterações de seus fatores condicionantes, com o fim de recomendar oportunamente, sobre bases firmes, as medidas indicadas e eficientes que levem à prevenção e ao controle de determinadas doenças”.

A combinação de ambiente público altamente favorável, o despertar do sentimento e crença da importância estratégica das atividades de desenvolvimento e produção de imunobiológicos ao país, abriu a Bio-Manguinhos as oportunidades para crescer e fortalecer suas atividades, tendo como missão prioritária o atendimento das demandas geradas pelos programas do Ministério da Saúde.

A oportunidade enseja homenagear algumas pessoas que, trinta e cinco anos atrás foram determinantes para a institucionalização de Bio-Manguinhos dos dias de hoje:

- Vinicius Fonseca, economista do IPEA / SEPLAN, nomeado pelo presidente Geisel, liderou a re-estruturação e modernização da Fundação Oswaldo Cruz. Teve a visão de criar e dar o norte para Bio-Manguinhos, e negociando a transferência de tecnologia de produção da vacina meningite meningocócica com o Instituto Mérieux, junto com a organização da Usina Piloto de Vacinas Bacterianas, onde os primeiros lotes nacionais da vacina meningocócica foram produzidos.
- Guilardo Martins Alves, seu sucessor, apoiou uma série de ações importantes para Bio-Manguinhos como foi a transferência de tecnologia de sarampo e poliomielite e a modernização do laboratório de Febre Amarela.
- Sérgio Arouca que além de apoiar as iniciativas de Bio-Manguinhos foi o líder incontestado da reforma da saúde e da criação do SUS, e outros que vieram depois deram continuidade ao fortalecimento de Bio-Manguinhos, reconhecendo seu papel estratégico no contexto da Saúde Pública. Outras figuras importantes que determinaram e contribuíram de forma decisiva na institucionalização de Bio-Manguinhos: Henrique de Azevedo Penna, atuou nos primórdios da produção da vacina febre amarela, foi determinante padronização dos procedimentos de produção desta vacina; José da Fonseca Cunha, último coordenador da produção da vacina antivariólica, produziu mais de 200 milhões doses desta vacina e que foram utilizados para erradicação desta virose no país, contribuiu diretamente na implantação do laboratório de liofilização e apoiou de forma decisiva o desenvolvimento de Bio-Manguinhos; Alberto Romeu Nicolau sucedeu Henrique de Azevedo Penna e com sua obstinação, persistência e compromisso

institucional, nos anos de maior penúria institucional, conseguiu manter de forma contínua as atividades de produção da vacina febre amarela; Eduardo Leser, organizou, implantou, operacionalizou e produziu a vacina da meningite meningocócica na Usina Piloto; Maria da Luz Fernandes Leal e Artur Couto também têm origem nesta época heróica de construção de Bio-Manguinhos.

Hoje, Bio-Manguinhos se prepara para enfrentar novos desafios dos novos tempos. Novos atores estarão se adentrando no país buscando estabelecerem-se no grande mercado brasileiro e teremos que ser competentes para competir com eles. Por outro lado, a aceleração das atividades de inovação tecnológica que vem sendo realizadas, principalmente pelas grandes farmacêuticas que estão migrando para área biotecnológica, tem resultado em novos importantes produtos, o que é excelente para a população em geral. Para Bio-Manguinhos, o desafio aumenta e obriga-nos a buscar o fortalecimento das atividades de inovação tecnológica e formas alternativas para incorporação de novas tecnologias de produção. Adicionalmente, as novas exigências das autoridades regulatórias que visam melhor asseguramento de qualidade das operações de produção e do produto final trazem novos e grandes desafios para Bio-Manguinhos cumprir, e continuar a atender as necessidades e demandas pela Saúde Pública do país.

O apoio institucional da Fiocruz, do Ministério da Saúde, de várias outras instituições públicas, além do trabalho cooperativo de parceria das instituições privadas e a alta qualidade técnica e enorme comprometimento de cada colaborador de Bio-Manguinhos à missão institucional, são fontes geradoras dos resultados que alçam Bio-Manguinhos a uma posição destacada no país, permitindo legitimar a confiança para enfrentar os novos grandes desafios e para garantir a comemoração de outros 35 anos de existência.

II. Biofármacos

4. Tendências mercadológicas em biofármacos – Peter Charlish

Market trends for biopharmaceutical products

Peter Charlish

Principal Analyst, Informa Business Information

United Kingdom, UK

Drugs have been derived from biological sources since time immemorial, but the era of biopharmaceuticals arguably began in 1982, when Lilly introduced the first medicinal product derived from recombinant DNA technology. The product was Humulin, a copy of human insulin produced in the laboratory using a genetically modified form of *Escherichia coli*. Humulin had been developed by Genentech, which at the time was a fairly young California-based biotechnology company, and taken through the US approval process by Lilly. Subsequently it was introduced around the world.

Since those early days, a large number of so-called biopharmaceutical products have appeared, and many more are in development. The term ‘biopharmaceutical products’ embraces recombinant protein drugs, recombinant vaccines, therapeutic monoclonal antibodies, and any drug created by means of biotechnology, especially genetic engineering.

Unfortunately, the meaning of terms like ‘biotechnology’ and ‘biopharmaceutical product’ has been diluted somewhat partly because of misuse by the lay press and the business community. These days, a company that focuses on small molecule inhibitors of a specific protein is often referred to as a biotechnology company, for example.

The situation is further complicated by the ‘traditional’ pharmaceutical industry’s growing involvement interest in biotechnology, so that these days many biopharmaceutical products are manufactured by traditional pharmaceutical companies. In my presentation, I will try to adhere to the strict definition of the term, but inevitably there will be quite a bit of overlap with the mainstream pharmaceutical sector.

In addition, advances in fields such as genomics and proteomics have thrown up many new biomarkers, some of which may have diagnostic significance. So the definition of biopharmaceuticals should arguably include *in vitro* diagnostic products based on these technologies, or at least those used as ‘companion diagnostics’, although I will confine my remarks to therapeutic rather than diagnostic products.

Biopharmaceutical technology has impacted a number of therapeutic sectors besides diabetes, including coagulation disorders (eg clotting factors, thrombolytics), endocrine

disorders (recombinant hormones), oncology (eg monoclonal antibodies, cytokines used to treat cancer drug side-effects), autoimmune diseases (such as interferon for multiple sclerosis), and infectious diseases (eg recombinant vaccines).

In 2009, the top 150 pharmaceutical companies between them enjoyed prescription pharmaceutical sales of just over US\$615 billion. The pharmaceutical industry is highly concentrated, with the top ten companies accounting for half of this total, as shown in the following table:

Ranking (previous year in brackets)	Company	2009 pharma sales (\$m)
1 (1)	Pfizer	45,448
2 (2)	Sanofi-Aventis	40,871
3 (3)	GlaxoSmithKline	37,134
4 (4)	Novartis	36,031
5 (5)	Hoffmann-La Roche	36,017
6 (6)	AstraZeneca	32,804
7 (8)	Merck & Co	25,236
8 (7)	Johnson & Johnson	22,520
9 (9)	Eli Lilly	19,964
10 (13)	Boehringer Ingelheim	16,890
Total		312,915

The company with the highest revenue from prescription medicines was Pfizer, just as in the previous several years. This is the figure for what Pfizer calls its “biopharmaceutical segment”, which includes its Primary Care, Specialty Care, Established Products, Emerging Markets and Oncology units. This is a good illustration of how the word ‘biopharmaceutical’ is being used to refer to product sectors outside our strict definition.

Pfizer’s sales reached an all-time high of \$45.45 billion in 2009, which made it the biggest pharmaceutical company of all time. Part of the reason for Pfizer’s growth was the contribution of Wyeth, which it acquired towards the end of 2009: the full financial integration of Wyeth in 2010 means that Pfizer’s sales grew even more strongly last year, and this trend is almost certain to continue in 2011 following Pfizer’s acquisition of King Pharmaceuticals at the beginning of this year.

Pfizer has led the industry ever since its acquisition of Pharmacia in 2003. To give it some perspective, its biopharmaceutical sales in 2009 were roughly twice those of Johnson & Johnson, no minnow itself, three times those of Takeda, Japan’s biggest pharmaceutical company, and almost four times the size of the entire pharmaceutical market in Brazil in 2009.

But this only tells part of the story. Without Wyeth, Pfizer would still have been the biggest company in 2009, but its pharmaceutical sales would in fact have shown a small decline, as in fact they did in 2008. Pfizer is a useful barometer of the pharmaceutical industry climate. The global financial crisis, increased competition from branded and generic products, pricing pressures from third party payers, exchange rate fluctuations and patent loss worries have all helped make the environment difficult for pharmaceutical companies in recent years.

The acquisition of Wyeth is part of Pfizer's response to these challenges, not only buoying up its bottom line and refilling its somewhat meagre R&D pipeline, but also enabling Pfizer to broaden its offering in new and hopefully lucrative biopharmaceutical areas such as vaccines and biotechnology.

Some way behind Pfizer in the league table is the French company Sanofi-aventis, another pharmaceutical concern with a growing interest in biopharmaceuticals. Sanofi is already a major player in the biological area by virtue of its vaccines franchise, but earlier this year it finally sealed a deal to acquire Genzyme, one of the few major biotechnology companies still not absorbed into a pharmaceutical company. The agreed price was \$74.00 per share in cash. Genzyme was established in 1981 and focuses on rare inherited disorders, kidney disease, orthopaedics, cancer, transplant and immune disease.

When converted into dollars, as in the table above, Sanofi's 2009 pharma sales were hardly changed from the previous year, but when expressed in the reporting currencies they were up by 6.3%. Sanofi widened the gap between itself and the third-biggest company, GlaxoSmithKline, a process that it began in 2008. GSK was another victim of currency fluctuations in 2009: expressed in sterling its pharmaceutical sales were up 16%, with a particularly strong contribution from vaccines and antivirals, but when converted into dollars GSK's sales showed a small dip. In addition, sales of its CNS products were badly affected by generic competition.

Figures for 2010 are not yet fully in, but it is already clear that the positions of Pfizer and Sanofi-aventis at numbers one and two respectively are secure. What has changed in the top ten is that Merck & Co has now assimilated its Schering-Plough acquisition and its combined sales last year were sufficient to propel it to the number three position, ahead of Novartis. Moving almost as strongly in the opposite direction was GlaxoSmithKline, whose dollar-translated sales actually declined by 2.7% in the face of continued generic competition (the company says it has lost more than £4 billion of patented sales to generic competition over the past four years) and problems with its diabetes drug Avandia (rosiglitazone).

Among the top 150 companies, 43 meet our definition of a biotechnology company. Between them, they reported sales of \$37.4 billion in 2009, or 6.1% of the total, so they

are still quite a small proportion overall. The top ten in terms of pharmaceutical product sales in 2009 were as follows:

Ranking (previous year in brackets)	Company	2009 pharma sales (\$m)
1 (1)	Amgen	14,351
2 (NR)	Novo Nordisk	9,566
3 (4)	CSL	3,663
4 (5)	Biogen Idec	3,153
5 (3)	Genzyme	3,070
6 (7)	Biotest	544
7 (6)	Daewoong Pharmaceutical	485
8 (8)	Crucell	425
9 (10)	Alexion Pharmaceuticals	387
10 (11)	BioMarin Pharmaceutical	316

The definition of biotech company I have used here is a company whose main activity involves the manipulation of nucleic acids, purified proteins or cultured cells.

At first sight, Amgen's position as the leading independent biotechnology company looks unassailable, but its 2009 figure of almost \$14.4 billion in fact masks a decline in sales compared with 2008, albeit by a modest 2.3%. In the US, product sales declined by 3% to \$11.1 billion, largely as a result of a 24% drop in sales of Aranesp (recombinant erythropoietic protein darbepoetin alfa) after the FDA ordered labelling changes for erythropoiesis-stimulating agents. Enbrel (etanercept) sales also decreased, offsetting an increase in sales of Epogen (erythropoietin).

However, despite adverse foreign currency exchange rates, Amgen's international sales were relatively unchanged at \$3.2 billion: sales would have been up 6% without the currency effect, mainly due to the introductions of new products and the launch of established products in new international territories.

The only biotech company to come anywhere near Amgen in revenue terms in 2009 was Novo Nordisk, which reported sales of \$9,566 million. The company's portfolio includes both diabetes care products and biopharmaceuticals (which include products to treat haemophilia, growth hormone deficiency and other disorders). As in previous years, 'modern insulins' (ie engineered proteins like NovoRapid rapid-acting insulin) were the main contributors to growth, increasing by 24% (23% in local currencies): sales of other biopharmaceutical products increased by 11%.

If Amgen and Novo Nordisk represent the top tier of biotech companies, the middle rank is occupied by three companies, Biogen Idec, Genzyme and CSL, each of which reported 2009 sales in the range \$3-4 billion – some way behind Novo Nordisk's \$9.6

billion. In many ways, the most successful of the three was Australia's CSL, whose product sales increased by 20.7% to \$3,663 million. In contrast, Biogen Idec's sales increased by a much more modest 11.0%, and Genzyme's sales actually fell by 5.2% (excluding Genzyme's Biosurgery products). As we have seen, this did not deter Sanofi-aventis in its pursuit of Genzyme.

CSL pointed to a number of reasons for its success: increasing demand for its plasma products; its swift response to the pandemic influenza threat of 2009; the introduction of new and improved products; and CSL's market development activities. CSL was the first company to develop a vaccine and carry out clinical trials against H1N1 influenza, and its quickness off the mark led to supply contracts not just in Australia but with the US, Singapore, Canada and Germany.

The jewel in Biogen Idec's crown was the multiple sclerosis treatment Tysabri (natalizumab). Global sales of the product stood at \$1,059.2 million, of which Biogen Idec's share was \$776.0 million, an increase of almost 32% over 2008. In purely sales terms Biogen Idec's biggest products were Avonex (recombinant human interferon- β 1a) and Rituxan (the anticancer, rituximab): Rituxan net sales were \$2,665.5 million, of which Biogen Idec's share was \$1,094.9 million.

In 2009, Genzyme was beset by manufacturing and regulatory problems related the production of Cerezyme (imiglucerase, for the treatment of Gaucher's disease) and Fabrazyme (agalsidase beta, for Fabry's disease). As a result, Cerezyme sales declined by 36% to \$793.0 million and Fabrazyme sales were down 13% at \$429.7 million. Sales of Genzyme's other genetic disease products, however, including Myozyme, Aldurazyme and Elaprase, continued to grow.

Not all biotech company results for 2010 are yet available, but what can be said at this stage is that Amgen, Novo Nordisk and CSL retained the top three positions, with each company increasing its product sales. However, while Amgen's sales increased by a meagre 2.2%, Novo Nordisk's sales were up by 13.2% and CSL, which benefited from the pandemic influenza (H1N1) outbreak, increased its product sales by a massive 32.4%.

In 2011 we will start to see the disappearance of Genzyme from the rankings, now that it has finally agreed to be acquired by Sanofi-aventis – six months after the French company first began its pursuit. The deal finally agreed means that Sanofi will pay an initial \$74 a share for Genzyme, plus the promise of additional payments that are contingent of certain commercial and manufacturing milestones being met. These additional payments could be worth up to an extra \$14 a share, with the whole package valuing Genzyme at just over \$20 billion (just under six times its product sales in 2010).

Another way of analysing the health of the biopharmaceutical sector is to look at its R&D spending, and to see how that correlates with R&D productivity. As the following

table shows, the proportion of sales revenue reinvested in R&D varies quite widely, at least among the top ten companies, from 6.7% in the case of CSL to over 40% at Biogen Idec.

Ranking (based on sales)	Company	2009 R&D spending (\$m)	R&D as % of sales	No of projects in development
1	Amgen	2,864	20.0	72
2	Novo Nordisk	1,473	15.4	43
3	CSL	247	6.7	36
4	Biogen Idec	1,283	40.7	42
5	Genzyme	865	28.2	41
6	Biotest	65	11.9	7
7	Daewoong Pharmaceutical	N/A	N/A	19
8	Crucell	98	23.1	17
9	Alexion Pharmaceuticals	82	21.2	8
10	BioMarin Pharmaceutical	115	36.4	14

Interestingly, there also seems to be a wide variation in the value generated by this R&D investment, at least based on the measure of the number of projects (individual molecules or series of molecules) in active development. For instance, while Amgen spends the most on R&D and has the biggest number of projects in development, and the average amount it spends on each of these projects is quite high in comparison with a company like CSL, for example. Amgen has twice as many compounds in development as CSL, but spends more than ten times as much on R&D. CSL's developmental compounds are spread across nearly as many therapeutic categories as Amgens' so arguably CSL's R&D process is more efficient.

Hopefully, the above gives an overall impression of the shape the biopharmaceutical sector is in nowadays. But what does the future look like for biopharmaceuticals? What trends can we discern in the sector?

Perhaps the most significant issue currently facing the biopharmaceuticals sector is the issue of biosimilars. A biosimilar is broadly equivalent to a generic version of a conventional small-molecule drug, although there are some important differences.

Biologics are typically large, complex molecules that are manufactured by complicated, usually proprietary processes, whereas traditional generics are relatively straightforward to produce using conventional chemistry. Because even small changes in molecular structure as a result of differences in manufacturing processes can have a significant

impact on efficacy or safety, it is very difficult to establish that one biological product is equivalent to another.

Europe took an early lead in addressing this issue when it created a legislative framework for the regulation of biosimilars in 2004. In 2005 the EMA issued generalised guidance, with additional guidelines added later. Since 2006 the EMA (EMA) has approved 13 biosimilars for somatropin, epoetin and filgrastim.

In the US however progress towards a regulatory pathway for biosimilars has been much slower. The healthcare reform bill signed by President Obama last year included a directive that the FDA develop a regulatory framework for approving biologicals or follow-on biologics – albeit one that requires the FDA to wait until the innovator biologic has been on the market 12 years before approving a follow-on version.

Meanwhile, Congress put together the Biologics Price Competition and Innovation Act, which lays out the legal basis for approving products that are demonstrated to be "highly similar" (biosimilar) to or "interchangeable" with an FDA-licensed biological product. It also creates a specialised patent litigation process radically different from ANDA legislation that exists under the Hatch-Waxman Act. Biosimilar approvals will be issued under a new section, part 351(k), of the Public Health Service Act.

The FDA has not so far developed a pathway for follow-on biologics, and there is no formal guidance in place. Some companies have indicated that they will ignore any new mechanism for registering biosimilars, for the time being at least, and submit new follow-on biologicals via a traditional BLA. This would strictly make their products competitors to – rather than not biosimilars of – the innovator product. While this approach would probably be more expensive than any new pathway that emerges, it would have the advantage of conferring 12 years of market exclusivity.

Other issues facing the biopharmaceutical sector include the need to control costs, reduce the time to market, and facilitate access to novel technologies, issues which affect the pharma sector too. Big Pharma has increasingly addressed these challenges by outsourcing, initially non-core activities such as clinical trial management and associated services, and subsequently an increasing amount of discovery and lead development activity. Most recently, Big Pharma has been looking to the East to find these services, particularly to India and China, and biopharmaceutical companies have been following suit.

For example, towards the end of last year Novo Nordisk announced that it was to double staff numbers at an existing R&D facility in Beijing. The company said that the expansion would help it “to get access to the tremendous resource of talents, ideas and innovation in China.” The R&D facility was originally set up in 2002 and forms part of the company's global network, with a focus on molecular biology, protein chemistry, cell biology and the generation and optimisation of monoclonal antibodies. Its remit is

now being broadened to include the investigation of biopharmaceutical approaches to new therapies for diabetes and the conduct of pharmacological studies.

In 2008, Novo Nordisk announced it was spending close to \$400 million on a new formulation and filling plant at its existing site in the north-eastern city of Tianjin, which manufactures insulin products, so the firm's commitment to China is clear.

Other multinational companies have also announced substantial financial commitments to building up their R&D activities in China in recent years. Novartis is set to invest up to \$1 billion over the next five years, and Pfizer has plans to open a new research facility in China, despite cutbacks elsewhere around the world.

The latest manifestation of this move eastwards is the news that Samsung is to set up a joint venture with Quintiles Transnational in South Korea for the contract manufacture of biopharmaceuticals that will also eventually make biosimilar and original biologic products developed by Samsung.

The South Korean company has said it sees attractive opportunities in a segment where several major biologics are set to go off patent over the next few years, and has set aside Won 2,100 billion to develop its fledgling biopharma/biosimilars business. Apparently the firm sees its general expertise in the manufacture of high-quality products as a particular asset for biosimilars, where advanced production technology plays an important role. It is also aiming over the longer term to develop its own biosimilars, which it expects to start producing at the facility in 2016, and thereafter to start work on in-house innovative biologics.

I will explore some of these issues further in my presentation.

II-INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON IMMUNOBIOLOGICALS.

Rio de Janeiro, May 2011

THE ETHICS OF GENERATION AND EQUITY OF ACCESS TO NEW PRODUCTS AND TO GLOBAL HEALTH.

Dr. Agustin Lage
Center of Molecular Immunology
Havana, CUBA

INTRODUCTION

The title requested is so complex that goes beyond the space of any lecture. There are several issues included one inside the other: The access to medicines is part of the wider issue of right to health; which is in turn part of the global debate on equity and Human Rights. Approaching it from the ethical perspective is more complex than from a legal perspective. Being ethical is not the same as following the law. It means going beyond the individual convenience to assume a compromise of larger scope: with the community, with the nation, with humankind. According to the theory of ethics called "consequentialism" an action is ethical or not depending on the consequences. Our analysis here should then focus in the consequences of the behavior of the current systems of research, manufacturing, distribution and use of medicines; and on what can we do to modify these consequences.

There are ethical issues related to the access to existing medicines, and also related to scientific research on new medicines.

We will discuss them here in the context of this International Symposium on Immunobiologicals, going on in this prestigious scientific institution Foundation Oswaldo Cruz, in Rio de Janeiro. Here is the road that we intend to follow:

- First "The Facts": What do data say on the access to medicines?
- Then "The Underlying Causes". We will describe the two causal components which are more visible in the global debate: The price policies and the impact of Intellectual Property Rights. But we will also argue that there exist two other barriers, still less visible, which are related to the regulatory environment for medicines, and to the scientific and technological capacities; which could limit the impact of the wiser strategies about prices and patents.
- We will continue pointing out to two ongoing transitions which will influence (and even distort) the problem of universal access to medicines. These are: the epidemiological transition towards an increasing burden of chronic noncommunicable diseases; and the growing space of biotechnology products (and specially Immunobiologicals) in the Pharmacopeia.
- Finally, we will try to go beyond the descriptive picture, and make a step towards the debate on what should be done and what can be done. Here we will use some examples from Cuba

and from Brazil; and especially what we have done together, in order to sustain the need of “integral regional strategies” encompassing the commercial, regulatory and technological aspects of the universal access to medicines.

THE FACTS.

The human right to health is recognized in many international instruments, such as the founding documents of World Health Organization, the Alma Ata Declaration of WHO and several treaties on Human Rights. Article 25.1 of the Universal Declaration of Human Rights (1948) states: “*Everyone has the right to a standard of living adequate for the health of himself and of his family, including food, clothing, and housing and medical care and necessary social services*”. More than 100 Countries include health provisions in their National Constitutions (14, 15). Access to essential medicines is also one of the United Nations “Millennium Development Goals”.

Nevertheless, empirical data show that the access to medicines is far from being universal.

Deep concerns about the access to medicines appeared in the specialized literature since the 90s decade. In 2001 the World Health Assembly endorsed a resolution calling for the development of a standardized method for measuring and monitoring medicine prices; which resulted in the launch of the WHO\Health Action International Project on Medicine Prices and Availability (21, 22, 24). First draft of a Manual was published in 2003. Since then, more than 50 studies have been conducted, which show facts about the affordability and availability of essential medicines, and on the special and more complex case of medicines for chronic diseases.

Availability is assessed through surveys in local pharmacies. Affordability is measured by comparing medicine prices with the daily wage of a nonqualified worker in the public sector.

Although there are, expectedly, wide variability among diverse countries and type of medicines, the regular findings appearing in most of the studies are the following:

- In low and middle income countries, medicine prices are high, especially in the private sector, reaching in some cases 80 times the international reference price.
- Availability can be low, particularly in the public sector. A study published by WHO found that mean availability of essential medicines was 35%. Low availability in the public sector drives users to migrate to the private sector, where prices are high.
- Treatments are often unaffordable (e.g. requiring over 15 days-wage to purchase 30 days-treatment). This problem is especially serious for chronic diseases needing long term treatments.
- Average per capita spending on pharmaceuticals in high income countries is 100 times higher than in low income countries. WHO estimates that 15% of the world population consumes over 90% of the world production of pharmaceuticals (by value).
- In developing countries, because of high prices, medicines account for 25%-70% of total health care expenditures, compared to less than 15% in high income countries.
- Government procurement systems can be inefficient, buying expensive brand medicines instead of cheaper generic versions.

Do we have a problem? It is obvious that the answer is yes. Independently of the specificities of each country, and the need to look for more precision in the data, the inescapable conclusion is that there

is a huge distance between the reality of the access to medicines and the speech on the rights to health. To overlook this fact, or to recognize it passively, is an ethical problem in itself.

The failure to achieve health care coverage does not occur only in low income countries (6, 19). It is a global issue. It has been calculated that in the 1970s, a California minimum wage worker could insure his family of four for only 15% of his annual income. In 2005 the same worker needs to pay 101% of his income to purchase the same coverage (12).

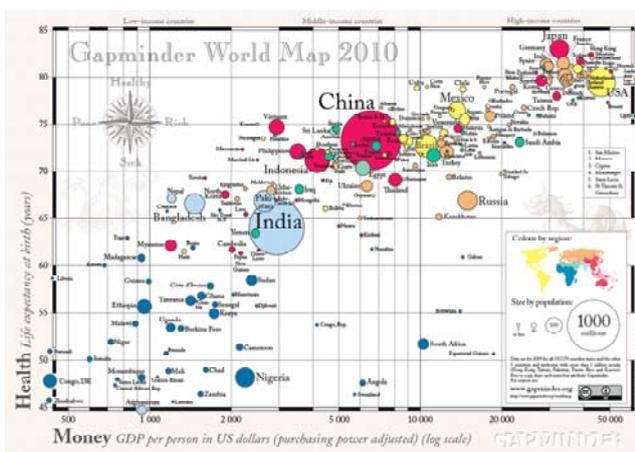
Additionally to the access of known medicines, there is a second dimension of the problem, related to the allocation of priorities for scientific research on new medicines.

According to some estimates, less than 10% of the world's biomedical R&D funds are dedicated to addressing the problems that are responsible for 90% of the world's disease burden. Research efforts are concentrated in development of new products for the chronic treatment of noncommunicable diseases of the adulthood, especially in high income countries. This disparity has been called "The 90\10 Divide" (17).

Only 1% of new medicines developed in the last 25 years were for tropical diseases and tuberculosis, which together account for over 11% of the global disease burden (21).

THE MOST VISIBLE CAUSES

The roots of this problem are socio-economical and lastly, political. We live in a world that is very far from being fair. This inequity concerns nutrition, employment, housing, wages, and almost all dimension of human life.



The more encompassing indicator, life expectancy, shows a wide dispersion among countries (and inside countries), which is related to an also huge divide of wealth, reflected in economic Gross Domestic Product.

Inequity in the access to medicines is just a component of the bigger problem, and its deep solution will need facing the huge economic and political challenges of our time. A discussion of these root-problems is beyond the scope of the present lecture.

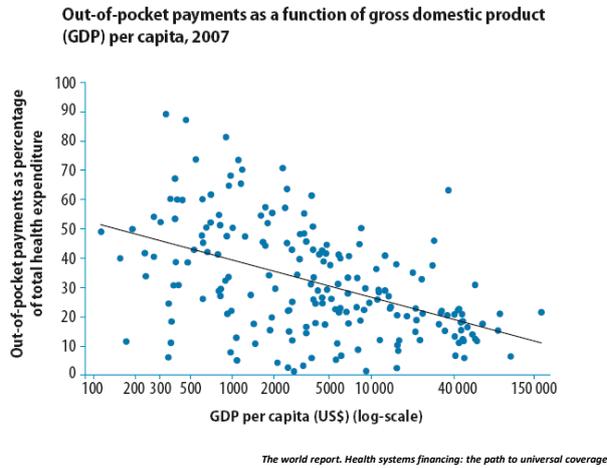
We will focus here in the more specific causes, related to the policies for medicines and research. Our understanding of the socio-economical roots of the problem is no excuse for sitting down waiting their solution. We have the duty to identify all the space of what is possible in our contexts, and to act on most vulnerable causes.

At first sight two causes are identified in the debate around access to medicines:

- The price policies for medicines (connected to the concentration of the pharmaceutical industry), and
- The impact of Intellectual Property and Patents.

It has been said that "a pharmaceutical price is the law of jungle, where might is right..."

Systems for distribution and financing of medicines widely vary from country to country, and there is no policy which can be applicable everywhere. Nevertheless, price studies have found some inadmissible distortions that should be corrected.



There is an inverse correlation between the fractions of price which patients pay “out-of pocket” and the GDP of the country (25). That means that in poorer countries the patient needs to pay a higher fraction of the medicines he needs, whereas patients in richer countries do receive more support from the society.

Although prices in the public sector are often lower than in the private sector, Price-to-Patients in the public sector are often higher than public procurement prices. Large margins suggest that public facilities might be generating income through selling medicines.

The second causal component of the high prices and low access to medicines is the impact of Intellectual Property Agreements. This situation is relatively novel, and it is the expression, in the area of pharmaceuticals, of the economic policies that were imposed in the world by the neo-liberal ideology in the 80s and 90s.

It has been a continuous process and a permanent debate, in which three milestones can be distinguished:

- In 1980 the Bayh-Dole Act in USA allowed universities to obtain patents from research made with public funds, and to sell them to the private pharmaceutical industry.
- In 1995 the World Trade Organization was born, and it enforced the Trade Related Intellectual Property Agreements (TRIPS), which established standards of patent protection for medicines.
- In 2001, the Ministers Conference of WTO released the “Declaration on the TRIPS and Public Health” (known as the Doha Declaration) which affirmed that the TRIPS agreements “*can and should be interpreted and implemented in a manner supportive of WTO Members’ right to protect public health, and in particular, to promote medicine access for all*” (7) .

In 2004 World Health Organization created a Commission on Intellectual Property Rights, Innovation and Public Health, which in turn commissioned 22 studies to enlarge the knowledge base on the issue (23, 5, 13). The studies concluded that the incentive effect of intellectual property on innovation lacks efficacy in developing countries.

The polemics around patents continues, and although there is a growing consciousness about the inadequacy of the current global system for supporting innovations in new medicines, the reality is that there have been very limited practical results.

We are witnessing a collision of pressures: On the one side several governments and international organizations insist in the implementation of the recommendations of Doha Declaration, for more use of the flexibilities included in TRIPS agreements, such as exemptions of patentability, compulsory

licenses, and exhaustion of rights. On the other side, big pharmaceutical industries in rich countries and their political connections are trying to undermine these flexibilities through bilateral or regional trade agreements, known as TRIPS-Plus or WTO-Plus. These agreements contain provisions which further narrow circumstances in which a compulsory license can be claimed (making it useless), and extend periods of data exclusivity, enabling large pharmaceutical companies to prevent or delay generic competition.

The brutal fact is that in many countries, the will to maintain one's standing as a trading partner committed to intellectual property protection has so far prevailed over the compromise with the access to medicines.

One of the most consistent findings of all studies on medicine prices is the big difference between the price of brand products of the originator company and the price of the generic version. The comparison with the generic version indicates that this difference continues even after patent expiration.

A study published in 2009 about 15 pharmaceuticals in 36 countries found price ratios between originator product and the generic product in the order of 300% in Africa, 200% in the Americas, 287% in Europe, 221% in south-east Asia, and 304% in Asia-pacific. In some countries the ratios are even higher (1).

The two phenomena that we have discussed, the price structure for medicines and the impact of intellectual property, are in turn a consequence of the concentration of the pharmaceutical industry and its market-driven nature.

Over 90% of world pharmaceutical production (by value) is done in high income countries. More than 70% is done in just five countries, and more than 45% in the 10 top companies. The fraction of the pharmaceutical market in hands of the 10 top companies increased from 27.5% in the 80s to 45.7% in the year 2000 (3).

The pharmaceutical market is far from being a "free market" whose "invisible hand" optimally allocates investment and prices.

The demand in position to pay (the "effective demand") is also highly concentrated in high income countries. It has been estimated that the 15% of world population, living in these countries, consume 90% of medicines, and there is a continuous concentrative trend. The share of the United States in the pharmaceutical market increased from 18% in 1976 to 52% in the year 2000.

Medicines expenditures occur mainly in the private sector and this trend worsened in the 90s (for all country income groups) when governments participation in pharmaceutical expenditures decreased from 42.9% to 39.2%. Such a bias contradictorily is even bigger in middle and low income countries, where medicine expenditures occur 74% in the private sector, whereas that figure is 58% for high income countries.

The "Market Failure" in the pharmaceutical industry is also evident in the orientation of investment in scientific research, which does not follow the real demand (which would depend upon impact in health) but the "effective demand".

Most scientific research is done in high income countries": 12 countries concentrate 80% of research expenses. Moreover, the financing of scientific research has been moving towards the private sector. In the USA more than 60% of pharmaceutical research and more than 70% of clinical trials are

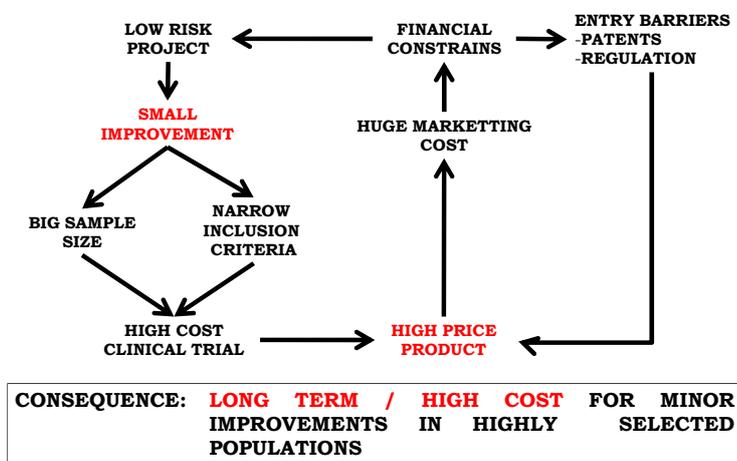
financed by the private pharmaceutical industry, and the trend continues. Here is the root-cause of the 90\10 Divide denounced by the Global Forum of Health Research.

Investment in R&D is directed mainly to the development of drugs for Central Nervous System, metabolic, neoplastic and cardiovascular diseases.

Another consequence of the concentrated and market-driven character of the pharmaceutical industry is the decline in innovation. Research expenses tripled in the 90s decade, but the output of new drugs diminished.

The idea has been sold that competition pressure stimulates innovation and that high prices guaranteed by patents allows financing it. However, a closer look to the cost structure of the pharmaceutical sector shows that marketing, not research, is the biggest expenditure.

THE VICIOUS CIRCLE



Driven by competition pressures for short term profits, research projects are increasingly oriented to low risk, incremental innovations over the already existing products. Then a kind of “vicious circle” emerges in which low risk incremental innovations would produce small improvements in the clinical trials. Such small improvements need big clinical trials in homogenous populations (narrow inclusion criteria) to achieve statistical significance, which means very expensive clinical trials. Such a cost is transferred later on to the price of medicines. Market penetration with small medical improvements requires a big marketing

investment, which in turn is also recovered through high prices.

The absurd result of the repetitive operation of that vicious circle is that each time we get more expensive drugs with less impact in health. The limited access to these expensive products also contributes to a minimal impact in population health, at epidemiological scale.

The issue of drugs with high prices and minimal clinical impact is very evident in some recent anticancer drugs, such as Cetuximab for lung cancer for which a treatment costs \$ 80 000 and produce, according to the clinical trials, a survival advantage of 1.2 months; or Erlotinib for pancreatic cancer, which costs \$ 15 000 yearly, and gave in the clinical trial a survival advantage of 10 days (4).

THE LESS VISIBLE CAUSES

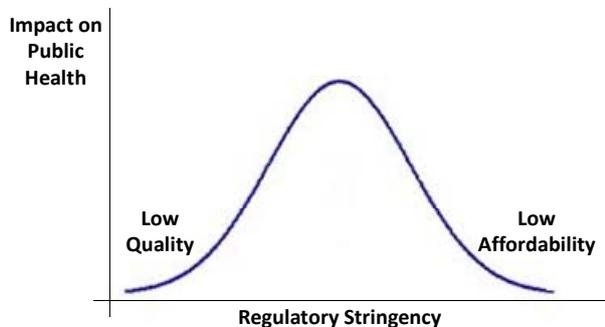
World Health Organization has explicitly recommended that governments should avoid taxes for medicines, should stimulate generic competition, avoiding the use of expensive brand products in the public sector, and that, when patents become an obstacle for the access to medicines countries should use Compulsory License and other provisions in local laws, in agreement with the Doha Declaration on TRIPS and Public Health (23).

A wide and coherent implementation of these recommendations is in itself a tremendous challenge for many countries, at the political, legal and administrative levels. But even if we were able to put

down the first access barrier given by inadequate price policies, and the second access barrier created by the impact of intellectual property; there would be still two other barriers, which have been less discussed up to now.

The third barrier is related to the regulatory environment. The continuous increase in regulatory standards for medicines is a relatively recent process. It was only in 1962 that proof of efficacy was required, driving the adoption of the current drug approval process.

Nobody will object the concerns for safety and efficacy of pharmaceuticals, particularly from an ethic perspective. However, beyond a certain threshold, regulatory standards also operate as protectionist barriers, limiting manufacture and innovation to those companies with an operational volume big enough to internalize the costs. These costs are also transferred to the prices, further reducing the affordability of new medicines.



Although, understandably, this is a delicate topic to discuss, the brutal fact of reality is that, from a public health perspective, the relation between regulatory stringencies and health impact of medicines is a “bell shape” curve. There is limited impact on the left side because of low quality products, and also limited impact in the right extreme because of high prices and low access. Impact in public health requires both, quality and coverage, at the same time.

Where is the optimal balance point between safety, efficacy and access, achieving the higher impact? This is a scientific problem, not only a legal one; and unless countries are able to

build internal scientific capacities to deal with it, they will not be able to elaborate their own strategies in this complex debate, and will not be in position to protect their own populations.

The problem is even more complex for biological products, and particularly for Immunobiologicals. Before the emergence of Biotechnology, the expiration of patents for medicines allowed the entrance of generic versions, with the same quality but more affordable.

In the United States, the Hatch-Waxman Act of 1984 reduced the regulatory barriers for the entrance of generics, waiving the need of repeating clinical trials, if physic-chemical comparability can be demonstrated. But the landscape gets complicated with biological products, which are complex molecules, produced inside living cells which could introduce a variety of contaminants, and for which the tests in the final product could have limited value as predictors of clinical efficacy.

The response was the doctrine that “The Process is the Product”. Implemented in all rigor, the consequence would be that no process is strictly identical to any other, and therefore biologic generics cannot exist. This is equivalent to a “patent for ever”.

The fourth barrier comes from the limited scientific and technological capacities of many countries, which makes them unable to manufacture pharmaceuticals, and to build their own regulatory strategy, not to mention to innovate.

The problem of scientific capacity in developing countries is double: first there is an issue of volume of the scientific activity; but additionally, there is an issue of “connections” of scientific activity with the economy. To approach one without the other is an exercise of futility.

According to 2010 UNESCO SCIENCE REPORT (20) developing countries, with a share of 41.8% in world GDP, contribute only with 23.8% of the world investment in R&D. Being 81.7% of the world population, developing countries contribute to 37.9% of scientific researchers and produce 32.4% of scientific publications. This is “the volume problem”, and there is a vast literature on it. But there is even more important to recognize that a substantial part of the limited science that is done remains unconnected from the economic structure of the society. It is not easy to find unbiased indicators for this relationship, but if we take patents for example, the North/South Divide is even more prominent: Developing countries, although produce 32.4% of scientific papers, own 4.5% of patents filed.

Scientific capacity is increasingly needed not only to make science, but to use science; and to translate science into technology.

As pharmaceutical industry transit to a biological pharmacopeia, both manufacturing technology and regulatory decisions will be more deeply “science-based”, and the lack of scientific capacity in many countries could operate as a guarantee of monopoly, even more efficient than intellectual property.

THE TRENDS: EPIDEMIOLOGICAL TRANSITION

With the exception of some African countries in which life expectancy has decreased due to the AIDS epidemics, the burden of chronic noncommunicable diseases of the adulthood has been increasing worldwide during the last decades.

More than 35 million deaths in the world (60% of all) are due to chronic diseases, and 80% of these deaths occur in middle and low income countries, where these diseases also affect people younger than in the developed nations (11). The trend is especially evident in Latin America, where most countries are experiencing a demographic transition towards an aged population.

In Cuba, the three first causes of death are currently cardiovascular diseases, cancer and stroke. All three account for 83% of mortality. Cuban population is now 18% above 60 years old, and if the trend continues, this figure will be 29% in 2030. Cancer is already the first cause of Life-Years-Lost.

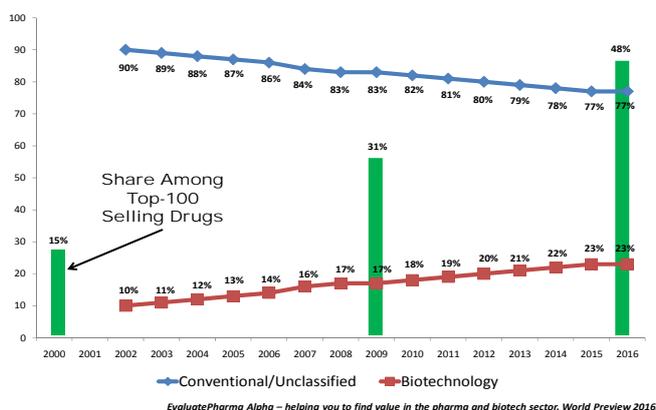
Similar trends can be identified in other Latin American countries.

In countries where the patient must directly pay for most of the medicine price, a drug for chronic diseases is a significant economic burden for the families. The costs of these drugs use to be higher and they should be used long term. According to a WHO study in several countries, the treatment of asthma consumes an average of 1.4 days of wage with the generic drugs and 3.3 days with originator products (22). In some countries the chronic treatment of asthma or diabetes could demand more than 10% of the salary. The treatment of hypertension with captopril demands 2.3 wage-days even with the generic drug.

THE TRENDS: BIOLOGICAL PHARMACOPEIA

Until the 80s decade of XX-Century the field of “biological products” inside pharmacopeia was rather narrow, mostly limited to vaccines and blood derivatives. The Biotechnology Revolution changed this picture, allowing the production of biological molecules with the same level of purity, reproducibility and scalability of chemical synthesis drugs.

SHARE IN THE PHARMACEUTICAL MARKET



Biotechnology products occupied 10% of the pharmaceutical market in 2002. This fraction is currently 18% and it is predicted that will be 23% in the year 2016. This widening of the space of biological is even more evident when we look to the 100 top-selling drugs. Among these top-100 medicines, biotechnology drugs were 15% in 2002, but jumped to 31% in 2010, and the forecast is to be 48% in 2016 (18).

In some therapy areas the protagonist of Biotechnology is particularly evident.

Among the 633 biotechnology medicines included in the PhRMA 2008 Survey, 254 (40%)

were intended to be used in cancer treatment, including 109 monoclonal antibodies and 63 vaccines. The prediction is that for 2016, four out of the 5 top selling oncology drugs will be biological drugs. For anti-rheumatics all 5 top selling products will be biological in 2016.

What will be the influence of the increasing role of biotechnology drugs in the problem of access to medicines? It will worsen the situation, and not only because of patents.

Experience in the classic pharmaceutical industry shows that once patents expire, generic versions of medicines appear, with much lower prices, often 20% of the price of the originator, because of the entrance of many manufacturers. But this will not occur, at least not to the same extent, for biotechnology drugs because manufacturing technologies are more complex and the regulatory environment is more blurry.

At the moment of this Symposium, the polemics about “biosimilar” monoclonal antibodies continues heating. In the following years patents will expire for five monoclonal antibodies, each one with sales above \$ 5000 million (2).

The intellectual property barrier will fall, but the regulatory barrier will be there, to the extent in which current patent owners could prevail with their viewpoint that for complex molecules chemical comparability cannot be 100% assured, not even with identical gene sequences, and therefore clinical trials must be repeated. The current claim of patent owners, which is being echoed by the regulatory agencies of developed countries, that the approval of biosimilar monoclonal antibodies require clinical trials head-to-head comparative with the original product, can make it unviable the very concept of biosimilar antibodies, making the clinical trial unaffordable, specially for manufacturers in developing countries. The few monoclonal antibody manufacturers able to perform these expensive clinical trials will again transfer the costs to the price of the products. Patents will expire, but the oligopoly control of prices will possibly continue.

Furthermore, the “technology barrier” there will remain. When Biotechnology appeared in the 80s, its first recombinant products were expressed in bacteria or yeast cells. The situation changed with recombinant erythropoietin first, and with monoclonal antibodies later on, all demanding genetic engineering and fermentation in mammalian cells. Currently more than half of the biotechnology products under clinical research require mammalian cell technology.

This technology exists today, at industrial scale, in less than 10 countries. If we bet that only one third of oncology biopharmaceuticals currently in clinical trials will make it to the market, this could mean

in 10 years more, to have about 40 biotechnology products in the therapeutic arsenal of an oncology hospital. As many as cytostatics we have today.

At dosages currently used for antitumor monoclonal antibodies (1-5 grams per patient), and even more if the antibodies are used chronically, there will be a demand of several Tons of monoclonal antibodies with therapeutic quality; and there is no manufacturing capacity in the world for this.

WHAT SHOULD BE DONE AND CAN BE DONE

Can we do something? Yes, we can; and there exist tangible examples in Brazil and Cuba.

The Brazilian strategies will be explained by other lecturers in this Symposium, surely with deeper and more updated information. There are illustrative cases of compromise with the access of medicines for all the population, and of the complex fight with the patent, regulatory and technological barriers that emerge on the way (16).

There are 2792 generic medicines registered in Brazil, 90% manufactured inside the country. The space of generics has been growing, from 233 million units distributed in 2007 to 330 units in 2010. Generics are 25% of all medicines sold in Brazil; but there is more space to explore, because this figure is 50% for USA and 45% for Europe.

This will not happen without bitter polemics. In 1996 a new law guaranteed free access to antiretroviral therapy in Brazil. National industries currently manufacture 8 anti-HIV drugs. Based in its manufacturing capacity Brazil was in strong position to negotiate prices with multinational companies. En 2000, facing the negative of Merck to reduce the price of an anti-HIV drug, the Brazilian Government raised the possibility that it would issue a compulsory license to manufacture the product. The USA government filed a complaint against Brazil at WTO. Brazil had the full support of public opinion. The USA agreed to withdraw the complaint in 2001.

In 2004 using again the lever of a compulsory license, Brazil negotiated with Abbot a 42% reduction in the price of another anti-AIDS drug. In 2007, the first compulsory license was effectively imposed for the antiretroviral drug Efavirenz, which is used by 75000 patients. This strategy has saved more than \$ 1000 million dollars, but moreover, it was the demonstration that the model of free-access, generic production, price strong negotiation and compulsory license, can work.

In 2009 a joint declaration of Brazil and India criticized the policy of the European Union aiming to restrict the entrance of generic drugs.

In Cuba, with 868 medicines in the essential list, 585 (67%) are produced by the national industry. Medical assistance is free and the price of medicines is very low.

Now it is mandatory for both Cuba and Brazil, to face the challenge of biotechnology medicines. The most efficient policies for production and access to generic drugs have the risk of not working well for biological, as a consequence of their technological and regulatory complexities.

Cuba has been preparing its scientific and productive infrastructure for Biotechnology (9).

Through a huge investment of the State in Cuba several Research-Production organizations emerged during the last three decades, conforming today the West Havana Scientific Pole: a complex of institutions now gathering more than 12000 employees and more than 7000 scientists and engineers. It provides to the Public Health System 12 vaccines, more than 40 biopharmaceuticals (including recombinant interferon, erythropoietin, and monoclonal antibodies), and diagnostic systems for

screening of more than 30 diseases. These organizations carry on more than 90 research project and clinical trials with the participation of 65 hospitals.

Since 2004 Cuba and Brazil have undertaken joint projects in Biotechnology. The production of recombinant Erythropoietin and PEG-Interferon, and the joint development and supply to Africa (under a WHO request) of a vaccine for meningitis are the more relevant projects. An illustrative figure is that the distribution of erythropoietin for kidney failure patients in Brazil multiplied by a factor of 4 as a consequence of this joint project.

But beyond the concrete products, what has emerged is a new model of cooperation, with the participation of “all three actors”: the research-production institutions, the Regulatory Agencies, and the Health Authorities in both countries.

The model illustrates three features that are mandatory in every successful approach to the access of medicines in the era of biotechnology:

1. It should contain the development of technological capacities, and scientific capacities (including clinical research).
2. It should be based on “regional strategies” (not only national) in order to achieve a scale big enough to internalize the costs of technology development and high quality standards.
3. It should have goals of population-wide coverage, in order to make impact in public health indicators.

The universal access to medicines is not an “economic operation” (although it should be economically viable); it is a Health Intervention, and an ethical imperative.

Population-wide coverage and impact in health indicators are goals that go beyond the “satisfaction of the demand”. From this perspective, the significant results of clinical trials and the technical and economic viability of the manufacturing operation, are no more than intermediate steps towards the more stringent final goal: to improve the health of the population (8, 10).

To implement and to evaluate universal access to medicines by the final impact in population health indicators means also to integrate medicines supply in the context of complex health interventions, which include preventative and diagnostic interventions ; and will be also a guarantee of the rational and appropriate use of pharmaceuticals. This dimension of pharmaceutical policy is out of the scope of the present lecture.

In the forthcoming years, the battle for universal access to medicines must be fought largely in the field of chronic noncommunicable diseases, and using the tools of Biotechnology.

In preparation for this, the scope of cooperation between Cuba and Brazil has been enlarged in the new 2010 agreements. Practical implementation started in this City, in the Brazil-Cuba Seminar on Biotechnology for Health which identified 55 joint projects, involving many more organizations in both countries, including pharmaceutical industries, under the supervision of a Bi-national Steering Committee.

Take for example what should be done in order to guarantee full access of all cancer patients in Cuba and Brazil to modern antitumor monoclonal antibodies. It is mainly this: To set up manufacturing capacities around the 300 Kg/year, to agree in the critical path to registration, and to discuss guidelines for optimal use of the products in cancer control programs. We can do it.

The challenge is huge, and there is a lot of work to do, but it is possible to succeed.

REFERENCES

1. Cameron A, Ewen M, Ross-Degnan D, Ball D, Laing R. Medicine prices, availability, and affordability in 36 developing and middle-income countries: a secondary analysis. *Lancet* 2009; 373:240-49.
2. Chu R and Pugatch M. Biogenerics or Biosimilars? Discussing the Present, considering the Future. *Stockholm Network*. Oct 2009.
3. Creese A, Gasman N, Mariko M. The world medicines situation. *World Health Organization*.2004.
4. Fojo, T and Grady, Ch. How Much Is Life Worth: Cetuximab, Non–Small Cell Lung Cancer, and the \$440 Billion Question. *Journal National Cancer Institute* 2009; 101(15): 1033.
5. Hoen, E. Report of the Commission on Intellectual Property Rights, Innovation and Public Health: a call to governments. *Bulletin of the World Health Organization* |May 2006, 84 (5):421-423.
6. Jacobzone, S. Pharmaceutical Policies in OECD Countries: Reconciling Social and Industrial Goals. *Organization for Economic Cooperation and Development Publishing*. Apr 2000; 40.
7. Kerry, VB; Lee K. Debate. [TRIPS, the Doha declaration and paragraph 6 decisions: what are the remaining steps for protecting access to medicines?](#). *Globalization and Health* May 2007, 3:3.
8. Lage, A. Transforming Cancer Indicators Begs Bold New Strategies from Biotechnology. *Medicc Review* 2009; 11, 3.
9. Lage, A. Connecting immunology research to public health: Cuban biotechnology. *Nature Immunology* Feb 2008;9:109-112
10. Lage, A and Crombet, T. Control of Advanced Cancer: The Road to Chronicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2011; 8,683-697.
11. Mendis, Sh; Fukino, K; Cameron, A; Laing, R; Filipe, A; Khatib, O; Leowski, J and Ewen, M. The availability and affordability of selected essential medicines for chronic diseases in six low- and middle-income countries. *WHO Bulletin* 2007; 85 (4): 279-288.
12. Newcomer, Lee N. *UnitedHealthcare, Edina, Minnesota, USA*. The Responsibility to Pay for Cancer Treatments: A Health Insurer's View of Value. *The Oncologist* 2010; 15(suppl 1):32-35.
13. Noehrenberg, Eric. Report of the Commission on Intellectual Property Rights, Innovation and Public Health: an industry perspective. *Bulletin of the World Health Organization* |May 2006, 84 (5):419-420.
14. Perehudoff, SK. Health, Essential Medicines. Human Rights & National Constitutions. *Bulletin of the World Health Organization*. Jul 2008.
15. Perehudoff, SK; Laing, RO; Hogerzeil, HV. Access to essential medicines in national constitutions. *Bulletin of the World Health Organization*.2010; 88:800-800.
16. Puymbroeck, RV. Basic Survival Needs and Access to Medicines - Coming to Grips with Trips: Conversion + Calculation. *The Journal of Law, Medicine, & Ethics*. Journal Year, 2010. Volume 38. Number 3.
17. Resnik David B. The Distribution of Biomedical Research Resources and International Justice. *Developing World Bioethics* (2004). 4 (1):42–57.
18. Evaluate Pharma .World Preview 2016. Analysis Highlights. *Evaluate Pharma*. May 2010
19. The European Parliament .Summary of the workshop. Strategies for the Improvement of Global Human Health. *The European Parliament*.29 Jun 2006.
20. UNESCO Publishing. *SCIENCE REPORT 2010*. UNESCO Publishing
21. World Health Organization. Who Medicines Strategy. Countries at the core 2004-2007. *Book of the World Health Organization*. 2004.

22. *World Health Organization*. Price, availability and affordability. An international comparison of chronic disease medicines. *World Health Organization* |Dec 2005.
23. *World Health Organization*. Public health. Innovation and Intellectual. Property Rights. Report of the Commission on Intellectual Property Rights. *World Health Organization*.2006.
24. *World Health Organization*. Measuring medicine prices, availability, affordability and price components. 2ND EDITION. *Book of the World Health Organization*.2008
25. *World Health Organization*. The World Health Report. Health Systems Financing. The Path to universal Coverage. *Executive Summary of the World Health Organization* |2010.

6. Plataformas tecnológicas de produção de biofármacos – David Aviezer

Therapeutic recombinant Protein expression in Plant Cells

David Aviezer, PhD, MBA

Protalix overview

Protalix is a publicly traded (NYSE:PLX, TASE), clinical stage biopharmaceutical company focused on the development and commercialization of recombinant therapeutic proteins using its proprietary ProCellEx™ plant cell culture protein expression system. ProCellEx™ provides a unique platform on which we have established a pipeline of proprietary and next-generation versions of recombinant therapeutic proteins, relying upon known biological mechanisms of action

Proprietary Technology Platform - ProCellEx™ Key Advantages:

- Cost effectiveness and scalability
 - Flexible polyethylene bioreactors, low initial capital investment
 - Rapid, horizontal scalability at low cost in compliance with cGMP
 - Requires less costly “hands-on” maintenance
- Safety and potency
 - No risk of mammalian viral transmission or infection to cells
 - Hundreds of patients on drug world wide
 - Free of any mammalian components

Lead product – Taligluerase-alfa for the treatment of Gaucher Disease

Gaucher Disease:

- Autosomal recessive disorder caused by mutations in the GBA gene which result in a deficiency of the lysosomal enzyme beta-glucocerebrosidase
- Patients accumulate large quantities of glucocerebroside in the spleen, liver, lungs and bone marrow that prevent these organs from functioning properly
- Enzyme replacement therapy is the gold standard of treatment
- If untreated, patients experience a poor quality of life and death can occur prematurely
- Higher prevalence among Jews from European origin and occurs at any age in life

Gaucher Disease Market:

- 10,000 patients worldwide (Around ~5,500 patients treated)
- Orphan disease pricing - Annual treatment cost is ~ \$ 150,000-\$250,000
- Chronic therapy
- Concentrated group of prescribers

Commercialization Strategy: Collaboration with Pfizer

- Territories

- Pfizer retains exclusive worldwide rights outside of Israel
- Protalix retains exclusive commercialization rights in Israel
- Manufacturing
 - Protalix to manufacture taliglucerase alfa

Regulatory Status in USA

- Rolling NDA submission filed with FDA
- Received Complete Response Letter on February 24, 2011;
- Held meeting with FDA in May 2011 to review the CRL
- Submitted reply to FDA Complete Response Letter on August 1, 2011
- FDA established February 1, 2012 as the new PDUFA date

Regulatory Status in other regions

- **Submission to Ministry of Health in Israel**
 - Information dossier submitted
 - GMP audit of manufacturing facility was successfully completed
- **Submission of MAA to EMA in Europe November 2010**
 - Received 120 day questions in April 2011
 - GMP audit scheduled for Q2/2011
- **Submission to ANVISA in Brazil November 2010**
 - GMP audit of manufacturing facility was successfully completed
- Submission to TGA in Australia in May 2011
- Additional submissions in Rest of World in process

Switchover clinical trial results

- 26 adult patients were switched from Cerezyme® to taliglucerase alfa for a nine-month period
- Trial data supports the efficacy and safety data package showing that patients can be switched from imiglucerase (Cerezyme®) to taliglucerase alfa.
- One patient experienced a hypersensitivity reaction.
- The efficacy data demonstrates that mean hemoglobin and platelet count, spleen volume and liver volume remained stable.
- Patients enrolled in the trial were switched from imiglucerase (doses ranging from around 10-60 U/kg every other week) to an equivalent dose using the same number of units of taliglucerase alfa.

Manufacturing Facility

- Completed successful GMP Manufacturing Audits by
 - FDA
 - Israel's Ministry of Health
 - ANVISA

7. Programa de inovação tecnológica e produção de biofármacos em Bio-Manguinhos – Elezer Lemes e Nadia Batoreu

Elezer Monte Blanco Lemes

Gerente do Projeto Interferon Alfa 2b, Vice-diretoria de Produção

Bio-Manguinhos/Fiocruz

Rio de Janeiro, Brasil

Nadia Maria Batoreu

Gerente do Programa de Biofármacos, Vice-diretoria de Desenvolvimento Tecnológico

Bio-Manguinhos/Fiocruz

Rio de Janeiro, Brasil

O desafio de se estabelecer no país uma cultura de inovação está amparado na constatação de que a produção de conhecimento e a inovação tecnológica passaram a ditar crescentemente as políticas de desenvolvimento dos países. Os processos de acumulação, transferência, aplicação e difusão de conhecimento e tecnologia têm sido vistos por países e empresas como a chave para uma prosperidade econômica sustentável na emergente economia global do século XXI (SUNG e GIBSON,2005).

A absorção de tecnologias maduras aliadas ao investimento em desenvolvimento tecnológico e investimento em mão de obra especializada, tem sido uma alternativa para as empresas do parque industrial do país, a exemplo da Embraer, Petrobrás e Bio-Manguinhos/FIOCRUZ (Barbosa, *et al*, 2008). A inovação surge da superação de obstáculos, da criatividade, conhecimento (capacidade para uma ação efetiva) das competências aprimoradas e traduz-se em novos materiais, processos e produtos. A inovação tem transformado, em todo mundo, a natureza da produção e do trabalho e a visão das organizações, dos mercados e das atividades econômicas com impactos profundos no desempenho profissional e no know-how das empresas que utilizam seus mecanismos de forma rápida para absorver as novas tecnologias, descobertas e invenções e ultrapassar barreiras internas e externas e criar mais oportunidade de inovar e colocar no mercado novos produtos com qualidade e assim melhorar suas relações com os clientes.

No Brasil, a questão de inovação tem um marco regulatório, formado por um conjunto de leis em vigor, voltado para o estímulo, à implantação e a sedimentação de um sistema de inovação brasileiro. (LIT – 10.973/2004: cria um ambiente propício no país às parcerias estratégicas entre as universidades, institutos de pesquisa e as empresas. Lei do Bem – 11.196/2005: estabelece mecanismos para desonerar os investimentos realizados em projetos de inovação e Decreto 5.798 de 2006: regula os incentivos fiscais a inovação). Neste contexto, as organizações inovadoras estão sempre em busca de estratégias que conduzam a uma posição de destaque e que lhe permitam maior

competitividade com práticas que garantam a produção de produtos com consistência, dentro de padrões de qualidade previamente estabelecidos.

A construção da Estratégia Nacional de Biotecnologia resultou dos trabalhos realizados no âmbito do Fórum de Competitividade de Biotecnologia, instalado no final de 2004, contando com a coordenação conjunta do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, Ministério da Saúde, Ministério da Ciência e Tecnologia e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e com a participação de diversos representantes do setor empresarial, do Governo Federal, da Academia e da Sociedade Civil.

A Estratégia tem por objetivo aumentar a eficiência econômica e estimular o desenvolvimento e a difusão de tecnologias com maior potencial de indução do nível de atividade, de integração e competitividade no comércio internacional. Ou seja, aumentar a eficiência da estrutura produtiva, aumentar a capacidade de inovação, de geração de negócios e de absorção de tecnologias das empresas brasileiras e expandir exportações.

Para tanto, estabelece objetivos específicos, ações estratégicas e custos estimados para as áreas priorizadas no âmbito do Fórum – saúde humana, agropecuária, biotecnologia industrial, recursos humanos/infraestrutura, investimentos e marcos regulatório (Brasil, 2006).

Considerando os alvos estratégicos para a saúde no Brasil abordados no Fórum de Competitividade de Biotecnologia, Bio-Manguinhos tem um papel fundamental para o atendimento das metas propostas no referido Fórum, seja pela tradição que Bio-Manguinhos possui na fabricação de produtos biológicos/biotecnológicos e do sucesso em Transferência de Tecnologia para esses tipos de produto, instalações adequadas e validadas, Laboratórios com os mais modernos equipamentos somados às expertises dos grupos técnicos e à fabricação de produtos biotecnológicos (Almeida, 2008).

Porém, lançada em 2008, a Política de Desenvolvimento Produtivo (PDP) com suas quatro principais metas (ampliação do investimento fixo, elevação do gasto privado em P&D, ampliação da participação das exportações brasileiras e dinamização do gasto privado em P&D) prioriza a inovação como fator de aumento de competitividade em áreas estratégicas, dentre elas o Complexo Industrial da Saúde (independência em setores estratégicos). Algumas das iniciativas são o uso do poder de compra do Estado para os produtos da saúde com recursos de R\$12 bilhões no período entre 2008 e 2011; a expansão de recursos para P&D em áreas estratégicas, incluindo infraestrutura com recursos de R\$1,6 bilhão entre 2008 e 2011; o financiamento para ampliação da capacidade de produção (novo PROFARMA e recursos do Ministério da Saúde); e ainda a formação de redes de apoio ao Desenvolvimento Tecnológico Industrial (MDIC, 2009).

Dentro deste cenário percebe-se que a inovação é à base do progresso no setor da saúde. Por isso, a indústria farmacêutica investe milhões de dólares cada ano na pesquisa de novos medicamentos, desta forma a oferta de novas classes de medicamentos no

mercado, expande-se a possibilidade de prevenção, tratamento e cura de doenças. O mercado de produtos farmacêuticos busca cada vez mais, empresas confiáveis e com tradição no mercado de produtos de alta qualidade. A Indústria Farmacêutica que é um importante elemento dos Sistemas de Assistência Sanitária em todo mundo, tem como fundamento a produção de medicamentos inovadores dotados de melhor atividade terapêutica e menos efeitos secundários para prevenir ou tratar as diferentes enfermidades e alterações genéticas (MCT/2007).

O desenvolvimento de proteínas com fim terapêutico tem crescido de forma importante na última década (citocinas, fatores de crescimento hematopoiético, fatores de crescimento, hormônios, fatores sanguíneos, enzimas e anticorpos) o mercado desta classe de produtos registrou em 2008 US\$ 81,85 bilhões (Pombo, 2009). A confiabilidade dos processos produtivos tem sido conseguida através de ensaios exaustivos e da utilização de técnicas de controle e prevenção de riscos. Os novos produtos são desenvolvidos para mercados globais, com o objetivo de reduzir os custos na saúde e permitir uma melhor acessibilidade aos novos medicamentos. Cada país tem autoridades reguladoras próprias que definem os requisitos necessários para testar os medicamentos, em termos de qualidade, eficácia e segurança. O cumprimento destes requisitos é à base da obtenção da autorização de comercialização.

A produção de proteínas recombinantes com fins terapêuticos (usualmente chamadas de biofármacos) envolve uma série de etapas, iniciando-se com a identificação e caracterização genética dos alvos, ou seja, as proteínas e suas propriedades bioquímicas pretendidas, a definição dos requisitos estruturais para a sua atividade funcional, como o processamento pós-traducional, glicosilação, acetilação formação de heterodímeros etc. A produção propriamente dita envolve a escolha do sistema de expressão, que implica na escolha do vetor de expressão e a célula hospedeira apropriada como função direta da complexidade de processamento molecular necessário para a obtenção da proteína funcional.

As plataformas de produção de tais proteínas podem ser: 1) sistema de fermentação bacteriano é o mais bem caracterizado e mais barato, atualmente no mercado. No entanto os produtos produzidos por microrganismos são consideravelmente diferentes dos produtos de origem nativa devido à falta de processamento pós-traducional uma limitação das bactérias. Porém, proteínas que não necessitem de tais modificações ou que estas sejam desnecessárias para a atividade biológica do produto, são preferencialmente produzidos neste sistema; 2) leveduras são sistemas eucarióticos que evitam algumas desvantagens oriundas da necessidade de glicosilação, *Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais estudada e usada para produção de proteínas heterólogas, contudo tem a tendência a hiperglicosilar as proteínas produzidas as quais resultam em N-glicanos do tipo elevada-manose, que são bastante diferentes das estruturas de Nglicanos humanos ou mamíferos; 3) *Pichia pastoris*- levedura metilotrófica tem surgido como outro possível sistema de expressão, evitando os problemas de hiperglicosilação, pois não é considerada uma forte fermentadora e possui um forte

promotor usado para transcrever genes heterólogos, o qual é derivado do gene da álcool oxidase (AOX1) de *P. pastoris*; 4) células de inseto ou de mamíferos tem à capacidade de realizar a glicosilação de forma semelhante à do hospedeiro nativo, mas são sistemas mais caros para o *scale-up*; 5) uso de animais transgênicos como plataforma de produção estão associados problemas éticos que dificultam a aceitação pública e 6) uso de plantas transgênicas para a produção de proteínas recombinantes que oferecem muitas vantagens comparativamente a sistemas mais convencionais. As culturas de células vegetais em suspensão são interessantes porque combinam as vantagens da produção em plantas com os benefícios dos sistemas de produção baseados em culturas celulares (Cox, 2006; Walsh & Jefferis, 2006).

As culturas de células vegetais em suspensão com biorreatores descartáveis têm sido usadas em estudos de produção de proteínas heterólogas que incluem anticorpos recombinantes, fragmentos de anticorpos, enzimas tais como a β -glucuronidase e invertase, proteínas de valor terapêutico tais como interleucina humana IL-2 e IL-4, proteína de inativação do ribossoma, ricina, α 1-antitripsina humana e fitase que é uma enzima N-glicosilada que quebra fitato indigestível (Abrants, 2005).

A plataforma de produção ideal seria aquela que produzisse o produto em maior quantidade, mais seguro, mais ativo biologicamente e com o custo mais baixo, e que precisa ser estudada caso a caso conforme as características da proteína terapêutica em questão.

Com o apoio da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos e da Secretaria de Vigilância em Saúde e recursos do Fundo Tecnológico do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (Funtec/BNDES), Bio-Manguinhos está erguendo um dos pilares do Brasil na área de inovação e desenvolvimento tecnológico: o Centro Integrado de Protótipos, Biofármacos e Reativos para Diagnósticos (CIPBR). O CIPBR, contará com uma infra-estrutura laboratorial das mais avançadas no Brasil, sendo pioneiro ao integrar em uma mesma construção a planta de protótipos para o desenvolvimento de novas vacinas, reativos para diagnóstico laboratorial e à produção de biofármacos. Essa concepção integrada permitirá melhor inter-relacionamento das várias atividades, a racionalização das operações e da manutenção técnica, o que acarretará a redução destes custos. O Centro também permitirá a produção de lotes experimentais com especificação técnica e qualidade para uso em estudos clínicos.

Nas áreas industriais, serão produzidos insumos como os biofármacos alfaepoetina humana recombinante (empregada contra anemia grave) e o antiviral alfainterferona 2b humana recombinante (empregado no tratamento da Hepatite C), além de reativos para diagnóstico laboratorial de diferentes doenças.

A área de Protótipos, também contemplada com todas as características e exigências estabelecidas nas normas de BPF, garantirão aos projetos que apresentarem viabilidade tecnológica e econômica e, que forem do interesse da saúde pública avançar para as

etapas que precedem a produção propriamente dita, isto é, estudos de escalonamento, busca de melhores rendimentos e produção de lotes experimentais para uso clínico. A inexistência de uma planta de protótipos com as características apontadas acima tem sido um dos maiores gargalos tecnológicos no avanço dos projetos de desenvolvimento de vacinas e outros imunobiológicos importantes para a saúde pública do Brasil. Por isso, a principal função desta planta é viabilizar a transição do desenvolvimento tecnológico para a produção, garantindo a qualidade exigida pela Agência Reguladora Nacional – ANVISA.

No caso dos medicamentos de dispensação excepcional, a Portaria GM/MS nº 2.577, de 27 de outubro de 2006, que regulamenta o Componente de Medicamentos de Dispensação Excepcional da Assistência Farmacêutica (CMDE) definiu uma lista 102 medicamentos em 208 apresentações. Dos produtos que constam do CMDE, a Portaria 978 apontou 12 medicamentos obtidos por rota biotecnológica como estratégicos para o MS. Esta portaria indicou ainda como estratégicos antibióticos, antifúngicos e antitumorais obtidos por rota biotecnológica; anticorpos monoclonais, sem especificar os alvos; e novas biomoléculas e fármacos, por rota biotecnológica, para doenças virais e negligenciadas.

No período de 2000 a 2007, o Ministério da Saúde aumentou em aproximadamente 106% seus gastos com medicamentos do Programa de Dispensação Excepcional, apesar do aumento no número de doenças atendidas, aquelas primeiramente atendidas pelo Programa continuam representando os maiores gastos; apenas em 2004 a hepatite C (interferon alfa e beta) aparece com o maior percentual dos gastos cerca de R\$ 287 milhões (Carias, *et al.*2011).

É importante destacar que os produtos estratégicos apontados na Portaria 978 têm como premissa a orientação para a produção em território nacional, considerando ainda a incorporação de tecnologia.

A introdução de plataformas tecnológicas reduzirá gradativamente a dependência do Brasil por medicamentos importados e, conseqüentemente, direcionará o país à auto-suficiência. A incorporação dessas tecnologias também fortalecerá a posição do Brasil no cenário internacional e se traduzirá em geração de postos de trabalho especializados.

Com investimentos em absorção de tecnologia, o país está adquirindo conhecimento e plataformas tecnológicas capazes de produzir não só um ou dois tipos de medicamentos, mas um conjunto deles. Além disso, o que se busca é o desenvolvimento da produção econômico-industrial do Brasil, de forma ampla, que se refletirá em independência tecnológica e conseqüente economia para o SUS.

Desta forma, Bio-Manguinhos em agosto de 2004 assinou dois contratos de transferência de tecnologia para a produção de biofármacos: um com o Centro de Ingeniería Genética Y Biotecnología (CIGB), para o Interferon Alfa 2b Humano

Recombinante e outro com o Centro de Imunologia Molecular (CIM), para a Eritropoetina Humana Recombinante; ambos sediados em Havana, Cuba. Estes contratos prevêem a transferência da tecnologia em três fases distintas até a completa nacionalização e produção destes biofármacos por Bio-Manguinhos.

Etapa I: solicitação do Registro Sanitário, junto à ANVISA, por Bio-Manguinhos. Recebimento de informações de controle e garantia da qualidade do produto final repassada pelo cessor da transferência de tecnologia.

Etapa II: Recebimento da Informação Técnica de Formulação, Envase e liofilização e embalagem do biofármaco. Fornecimento de *naked vials* (frascos sem rótulo) pelo cessor da transferência de tecnologia. Fornecimento ao MS de produto, rotulado e embalado e controlado em Bio-Manguinhos.

Etapa III: Transferência da Informação Técnica de Produção para obtenção de Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA). Fornecimento da IFA pelo cessor da transferência de tecnologia à Bio-Manguinhos. Fornecimento ao MS de produto formulado, envasado, liofilizado, rotulado, embalado e controlado em Bio-Manguinhos.

Hoje o biofármaco Alfaepoetina humana recombinante está na fase 2 da transferência de tecnologia (recebimento de produto formulado, para controle de qualidade e processamento final) e o biofármaco Alfainterferona 2b humana recombinante na fase 3 (recebimento de Ingrediente Farmacêutico Ativo para formulação, envase, liofilização, controle de qualidade e processamento final).

Em 2006, Bio-Manguinhos a partir de ações intensivas e articulações com a SCTIE colocou no mercado cerca de 2.301.177 frascos de produtos (biofármacos alfaepoetina e alfainterferona 2b) com um aumento de deste quantitativo expressivo nos anos seguintes (demanda reprimida), chegando a 8.394.883 de frascos distribuídos em 2010. Somente no primeiro trimestre deste ano (2011) os quantitativos já estão em 2.662.675 com uma previsão de 10 milhões de frascos até o final do ano.

Focada na produção de vacinas, biofármacos e reativos para diagnóstico laboratorial, Bio-Manguinhos também tem uma importante atuação na pesquisa e desenvolvimento de novos produtos. Assim tem se voltado para consolidar sua atuação nas áreas de biotecnologia, nanotecnologia e engenharia genética e essa realidade motiva a necessidade de se capacitar para, num primeiro momento, acompanhar os avanços tecnológicos incorporados na terapêutica e, posteriormente, estar habilitado a também participar ativamente com processos, serviços e terapias inovadoras. Para isso conta com os processos de gestão da inovação, tal como o balanceamento da carteira de projetos de P&D, iniciado em 2006, que tem por objetivo prover informações qualitativas e quantitativas à Diretoria do Instituto para decidir sobre a continuidade, interrupção ou início de novos projetos, e definir as prioridades.

Neste contexto, o Programa de Biofármacos, da Vice-Diretoria de Desenvolvimento Tecnológico, atua no desenvolvimento de projetos internos, na prospecção de produtos e plataformas, na composição de parcerias nacionais e internacionais, na transferência de conhecimento tecnológico, buscando a obtenção de novos medicamentos feitos a partir de proteínas recombinantes ou ácidos nucleicos, que visam o tratamento ou prevenção de doenças com impacto na saúde pública.

Atualmente, os projetos em desenvolvimento estão alinhados em cinco plataformas tecnológicas: proteínas recombinantes produzidas em células de mamíferos; proteínas recombinantes produzidas em bactéria; engenharia de anticorpos monoclonais humanizados: peguilação de proteínas recombinantes e, encapsulamento de ácido nucleico.

Os projetos em desenvolvimento são: *a)* o Projeto de Obtenção e Humanização do anticorpo monoclonal anti-CD20, para o tratamento de Linfomas Não-Hodgkin, em parceria com o Instituto Nacional do Câncer (INCA); *b)* o Projeto de Obtenção e Humanização do anticorpo monoclonal anti-*Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA), responsável por sepsis bacteriana, com utilização no tratamento contra a infecção hospitalar, no diagnóstico sorológico rápido e na imunoradioterapia, com solicitação de Patente no INPI e PCT, em parceria com o INCA e o Centro de Imunologia Molecular (CIM) de Cuba; *c)* o Projeto de Desenvolvimento Conjunto do Interferon Peguilaado, para o tratamento das Hepatites virais, em parceria com o Centro de Engenharia Genética e Biotecnologia (CIGB) de Cuba, com solicitação de Patente no INPI e PCT, em finalização da Fase I dos estudos clínicos; *d)* o Projeto de Obtenção de Nanofármaco anti-neoplásico (em prova de princípio) para o tratamento do câncer de próstata, também em parceria com o INCA.

Paralelamente, outras parcerias estão em análise seja para a introdução de novas plataformas, novos produtos, melhoria dos existentes ou agilizar os projetos em desenvolvimento. Assim, a dinâmica de Bio-Manguinhos na investigação e desenvolvimento de novos imunobiológicos, regimes terapêuticos e sistemas diagnósticos está alinhada as necessidades de governo e assume um caráter estratégico para subsidiar a política nacional de inovação.

Referências

- Abranches, R., Marcel, S., Arcalis, E., Altmann, F., Fevereiro, P. e Stoger, E. (2005) Plants as bioreactors: a comparative study suggests that *Medicago truncatula* is a promising production system. *Journal of Biotechnology*. 120, 121-134.
- Almeida, L. dos Santos (2009). Pesquisa Qualitativa dos Requerimentos Fundamentais para a Transferência, Registro Sanitário, Estabelecimento e Parâmetros de Estabilidade de Bancos de Células de *Escherichia coli* que Expressa o Interferon Alfa 2b Humano Recombinante. Tese Mestrado Profissional em Imunobiológicos, BioManguinhos/FIOCRUZ.

- Barbosa, A.P.R; Bomtempo, J.V. & Baetas, R.G.B (2008). COMPETÊNCIAS ORGANIZACIONAIS PARA INOVAR NA INDÚSTRIA BRASILEIRA DE IMUNOBIOLOGICOS: UM ESTUDO DE CASO. Revista Gestão Industrial, ISSN 1808-0448 / v.4, n.3: p. 01-21.
- Brasil, Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Secretaria do Desenvolvimento da Produção. Fórum de Competitividade de Biotecnologia. Estratégia Nacional de Biotecnologia – Política de Desenvolvimento da Bioindústria. Brasília, jul 2006.
- Carias, C.M; Vieira, F.S; Giordano, C.V & Zucchi, P. (2011) Medicamentos de dispensação excepcional: histórico e gastos do Ministério da Saúde do Brasil, Rev Saúde Pública;45(2):233-40.
- Cox, K.M., Sterling, J.D., Regan, J., T., Gasdaska, J.R., Frantz, K.K., Peele, C.G., Black, A., Passmore, D., Moldovan-Loomis, C., Srinivasan, M., Cuisson, S., Cardarelli, P.M. e Dickey, L.F. (2006) Glycan optimization of a human monoclonal antibody in the aquatic plant *Lemna minor*. *Nature Biotechnology*. 24, 1591-597.
- Decreto 5.798 de 2006
- Gary Walsh & Roy Jefferis (2006)- Post-translational modifications in the context of therapeutic proteins. *Nature Biotechnology*. 24, 1241-1252.
- LIT – Lei de Inovação Tecnológica 10.973/2004
- Lei do Bem – 11.196/2005
- Ministério da Ciência e Tecnologia, Plano de Ação 2007/2010: Ciência, Tecnologia e Inovação para o Desenvolvimento Nacional. Brasília: MCT, 2007.
- Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio Exterior. Política de Desenvolvimento Produtivo.
<http://www.mdic.gov.br/pdp/index.php/sitio/conteudo/index/2>
- Pombo, M.L., Di Fabio, J.L. e Cortés, M.A., “Review of regulation of biological and biotechnological products in Latin American and Caribbean countries”, *Biologicals*, v.37, 2009, p.271-276.
- Portaria GM/MS 2.577/ 2006
- Portaria 978/2008
- SUNG, T. K.; GIBSON, D. V. Knowledge and technology transfer: levels and key factors. *International Journal of Technology Management*, v. 29, n. 3-4, p. 216-230, 2005.

III. VACINAS E IMUNIZAÇÕES

8. Evolução histórica e impactos de vacinas e vacinações no Brasil¹ – João Baptista Risi Jr**.

Introdução

Há exatos duzentos anos (1811), foi criada no Rio de Janeiro a Junta Vacínica da Corte, que seguindo orientação adotada em países da Europa após o experimento pioneiro de Jenner (1796), introduziu formalmente a vacinação antivariólica no Brasil. Essa iniciativa integrou um conjunto de medidas da monarquia portuguesa trasladada ao Brasil (1808), as quais romperam três séculos de isolamento imposto pelo regime colonial, e inauguraram uma nova era do país.

Desse ponto inicial, o desenvolvimento da imunização no Brasil foi condicionado por processos político-sociais que determinaram a complexa evolução e organização do setor saúde no país, marcada por histórico descompasso entre o desenvolvimento técnico-científico, a apropriação do conhecimento pelas instituições nacionais, e a capacidade de utilizar efetivamente esse conhecimento para controlar doenças.

O caso da varíola é emblemático. Apesar de iniciativas governamentais diversas e esforços de profissionais abnegados, no início do século XX ainda ocorriam epidemias de varíola que causavam elevada mortalidade em grandes cidades. O processo de produção da vacina por cultivo em vitelos – desenvolvido na Europa em 1840 – somente se viabilizou no Brasil quase meio século depois (1887), pelo empenho pessoal do médico Pedro Affonso Franco, que fundou o Instituto Vacínico Municipal no Rio de Janeiro (1894-1920) e estimulou iniciativas similares em vários Estadosⁱ.

A vacinação tomou ímpeto no início do século XX, quando epidemias de varíola, febre amarela e peste comprometiam a exportação cafeeira, que era o principal motor da economia nacional. No Distrito Federal, Oswaldo Cruz – nomeado Diretor Geral de Saúde Pública em 1903 – empregou medidas centralizadoras e métodos coercitivos que desencadearam forte reação social, conhecida como a Revolta da Vacina (1904)ⁱⁱ. Nos Estados, foram também tomadas medidas heróicas para conter epidemias e instituir processos regulares de vacinação, como em São Pauloⁱⁱⁱ e no Ceará^{iv}. No entanto, passou-se outro meio século para que o Ministério da Saúde promovesse a primeira iniciativa de âmbito nacional para controlar a doença (1962), embora sem sucesso, por insuficiência de recursos técnicos, logísticos e financeiros.

Não obstante a lentidão dos avanços, pela fragilidade de políticas públicas para expandir o acesso a cuidados básicos e superar o atraso tecnológico, as atividades de vacinação

*Texto elaborado para apresentação no *II Simpósio Internacional de Imunobiológicos*, como parte da agenda comemorativa dos 35 anos de aniversário do Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos/Bio-Manguinhos - Fiocruz, de 4 a 6 de maio de 2011, no Rio de Janeiro.

** Médico epidemiologista, ex-Secretário Nacional de Ações Básicas de Saúde, do Ministério da Saúde do Brasil

no Brasil tomaram novo rumo a partir de 1973, com a criação do Programa Nacional de Imunizações (PNI). A varíola havia sido erradicada por um programa apoiado pela Organização Mundial de Saúde (1966-1971) e a experiência nele adquirida favoreceu um conjunto de iniciativas federais correlacionadas.

Atualmente, o PNI é citado como exemplo de política pública bem sucedida. Em uma perspectiva histórica, deve-se reconhecer que os seus fundamentos estão assentados em iniciativas que remontam aos primórdios de uma base científica institucionalizada, como também a experiências adquiridas ao longo de muitas décadas, em ações federais e estaduais nos campos da prestação de serviços de saúde e de controle de doenças.

Ciência e políticas de saúde na Primeira República

No final do século XIX, algumas instituições brasileiras haviam evoluído de simples consumidoras de conhecimentos produzidos em centros europeus, e incorporado o uso do método experimental nas áreas de ciências biomédicas e de saúde pública. Destacou-se o Instituto Bacteriológico de São Paulo, criado e organizado por Adolfo Lutz (1892). No Rio de Janeiro, o Instituto Soroterápico Federal (1900), transformado por Oswaldo Cruz no Instituto de Patologia Experimental de Manguinhos (1905), firmou-se em 1908 como a principal instituição científica no Brasil. Seu êxito é atribuído a um modelo institucional que conjugava atividades de pesquisa, ensino e produção de biológicos, voltadas à solução de problemas sanitários do país^v.

Esse contexto propiciou o início de uma nova forma de atuação em saúde pública, fundamentada na experimentação científica. Trabalhos pioneiros foram realizados no combate à febre amarela, com atuação marcante de Emílio Ribas à frente do Serviço Sanitário de São Paulo (1897-1917)^{vi} e de Oswaldo Cruz, que como Diretor Geral de Saúde Pública no Distrito Federal (1903-1909) criou o Serviço de Profilaxia da Febre Amarela^{vii}. Outro marco importante foi o combate à peste bubônica em Santos (1899), que interessa especialmente à história da imunização no Brasil por ter dado origem ao Instituto Butantan (1901), dirigido por Vital Brazil^{viii}.

A atuação sanitária se projetou também pelos resultados de expedições científicas realizadas no interior do país por pesquisadores de Manguinhos^{ix}, que desnudaram para a elite brasileira a grave situação de endemias rurais que afligiam populações inteiramente desassistidas. O “movimento sanitaria” que daí emergiu, liderado por Belisário Penna, mobilizou setores da sociedade para exigir maior responsabilidade do poder público federal, em face de carências estaduais para desenvolver políticas de saneamento e saúde pública no interior do país^x. Nos centros urbanos, porém, a epidemia de gripe espanhola (1918) desafiava os condutores da saúde pública.

Em conseqüência, as atribuições do governo federal na área de saúde foram ampliadas por uma reforma administrativa que deu origem a um modelo de atuação centralizada com longa duração. A partir de 1920, o novo Departamento Nacional de Saúde Pública, dirigido por Carlos Chagas, se organizou para combater doenças endêmicas nas zonas

rurais e suburbanas, por meio de órgãos especializados (Inspetorias) nas áreas de tuberculose, lepra e doenças venéreas. O governo federal passou a exercer atividades executivas de âmbito estadual, que antes se restringiam ao Distrito Federal. Essa tendência centralizadora se radicalizou após a Revolução de 1930, quando a saúde “*seria finalmente transformada em objeto de políticas de alcance nacional, com a ajuda da Fundação Rockefeller, poderoso enclave, com atribuições e prerrogativas que rivalizavam com as do próprio Estado no tocante à saúde pública*”^v.

Programas verticais e políticas assistenciais

O Governo Provisório instalado pela Revolução de 1930 instituiu o Ministério da Educação e Saúde Pública, que na gestão de Gustavo Capanema (1934-1945) foi estruturado e reformado por duas vezes. O Departamento Nacional de Saúde (DNS) teve como figura central o sanitarista João de Barros Barreto (1937-1939 e 1941-1945), que em 1937 criou as Delegacias Federais de Saúde e as Conferências Nacionais de Saúde, estas para reunir periodicamente delegações de todos os estados, em um fórum nacional e de caráter oficial para discutir temas de saúde pública^{xi}.

A segunda reforma (1941) instituiu órgãos normativos e supletivos destinados a orientar a assistência sanitária e hospitalar, e também órgãos executivos de ação direta (Serviços Nacionais) para combater as endemias mais importantes. Para assegurar a execução coordenada de programas estabelecidos em nível nacional, técnicos do DNS foram comissionados em funções de direção junto aos governos estaduais. Dotados de mecanismos próprios de execução, os Serviços Nacionais conformaram um modelo verticalizado de atuação federal, a partir da criação do Serviço Nacional de Febre Amarela (1940). Serviços análogos foram criados para combater doenças específicas, como tuberculose (1941), lepra (1941), peste (1942), malária (1942), helmintoses (1944), câncer e doenças mentais^{xii}.

Essa forma de organização aprofundou a dissociação entre as ações de medicina preventiva – ou de saúde pública – e as práticas assistenciais de cunho individual, que se expandiram com a política de proteção médico-assistencial aos trabalhadores associados aos Institutos de Aposentadoria e Pensões (IAP). É significativo que a atenção materno-infantil, instituída organicamente na reforma de 1937, tenha sido desvinculada do DNS em 1940 e passou a ter autonomia, com a criação do Departamento Nacional da Criança^{xiii}. Esse fato teve implicações nas décadas seguintes, quanto às práticas de imunização no Brasil.

O combate à tuberculose diferenciou-se do modelo, por realizar ações assistenciais mais integradas e com ampla cobertura populacional, originadas de iniciativas filantrópicas no meio médico e na sociedade civil, diante do efeito devastador da doença na população urbana. Coube à Liga Brasileira Contra a Tuberculose (LBCT), criada em 1900, mobilizar recursos públicos e privados, instituir ações preventivas e de tratamento, produzir e promover a vacinação com BCG. O poder público se engajou na década de 1920, mas assumiu de fato a iniciativa com a Campanha Nacional Contra a

Tuberculose (CNCT), criada em 1946 para apoiar o Serviço Nacional. O impacto na redução da mortalidade por tuberculose foi constatado ainda na década de 1940. A atuação da CNCT foi pioneira na rotinização de atividades padronizadas de diagnóstico e tratamento nos serviços gerais de saúde, e na aproximação com os Institutos de Aposentadoria e Pensões^{xiii}.

A produção da BCG oral foi iniciada pela LBCT em 1927, após testes realizados com a cepa *Moreau* trazida da França, que ficou conhecida como “Rio de Janeiro”. A Fundação Ataulpho de Paiva sucedeu a Liga (1936) e continuou responsável pela produção da BCG para o programa nacional de tuberculose. Somente em 1973 foi implantada a vacinação com BCG intradérmica, que era recomendada internacionalmente havia muitos anos.

A perenidade de ações executivas federais no combate a endemias rurais foi pontuada pela atuação do Serviço Nacional de Malária (SNM), e se fortaleceu com apoio internacional. Entre 1949 e 1952, outras doenças foram incorporadas às atribuições do SNM: doença de Chagas, filariose, esquistossomose, escorpionismo. Para coordenar as ações de combate a endemias predominantes no meio rural, foi criado em 1956 o Departamento Nacional de Endemias Rurais (DNERu), que manteve ênfase na execução federal direta, estruturada organicamente em “Campanhas” específicas: malária, febre amarela, peste, filariose, esquistossomose, doença de Chagas, leishmaniose, brucelose, ancilostomose, hidatidose, bócio endêmico, boubá e tracoma^{xiv}.

Este modelo seria alterado com a criação da Campanha de Erradicação da Malária - CEM (1965), da Campanha de Erradicação da Varíola - CEV (1966) e da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública - SUCAM (1970), mas os seus delineamentos gerais permaneceriam até 1990.

A despeito de críticas à especificidade temática do combate às endemias rurais, e à autonomia gerencial de ações verticalizadas até o nível local, deve-se reconhecer que o modelo conformou uma estrutura operativa com capilaridade jamais igualada, e acesso a populações remotas no interior de um país predominantemente rural. Como tal, a cooperação e o suporte logístico dessas instituições foram decisivos para o sucesso de outras iniciativas de saúde, destacando-se aqui o controle de doenças por evitáveis por imunização.

Cooperação internacional

A partir da década de 1910, acordos estabelecidos com instituições norte-americanas influenciaram a evolução e a estruturação do sistema de saúde brasileiro, nos campos de pesquisa, tecnologia, ensino, métodos de controle de doenças e modelos assistenciais.

Em 1915, a Fundação Rockefeller passou a investir no controle da febre amarela, da ancilostomose e da malária^{xv}, como também em educação médica e pesquisa, levando a Faculdade de Medicina de São Paulo a criar a cadeira de Higiene que deu origem à atual Faculdade de Saúde Pública da USP^{xvi}. No período 1930-1942, a Fundação atuou fortemente em duas iniciativas de grande repercussão nacional, que contribuíram para

consolidar o modelo “campanhista” adotado pelo governo federal. A primeira (1932) destinou-se a apoiar o Serviço de Febre Amarela para conter o recrudescimento da transmissão da doença, no final da década anterior. A segunda (1939), dar suporte ao Serviço de Malária do Nordeste para executar o plano de erradicação do *Anopheles gambiae*, potente vetor de origem africana que havia sido introduzido nessa região.

Com apoio da Fundação Rockefeller, comprovou-se a transmissão silvestre da febre amarela e se realizaram intensas atividades de pesquisa para uma nova vacina, que em 1937 começou a ser produzida no Rio de Janeiro, com utilização no Brasil e outros países. A Fundação manteve, até 1946, o laboratório de produção construído em Manguinhos, posteriormente incorporado à estrutura de Bio-Manguinhos^{vii}.

A presença norte-americana no Brasil aprofundou-se em 1942, por convênio com o Instituto de Assuntos Interamericanos (IAIA) para criação do Serviço Especial de Saúde Pública (SESP). O seu fim principal era apoiar o esforço colaborativo na Segunda Guerra Mundial. Findo o convênio, porém, o SESP reorientou a sua atuação para dar suporte ao objetivo do governo federal de interiorizar o desenvolvimento. Em 1960, foi transformada por lei federal na Fundação Serviços de Saúde Pública (FSESP), que esteve vinculada ao Ministério da Saúde até ser extinta (1991)^{xvii}.

Tendo atuado por 48 anos e em todos os Estados brasileiros, o SESP/FSESP introduziu inovações na administração sanitária, na formação profissional de nível técnico e auxiliar, na organização de redes de serviços integrais de saúde e saneamento, na pesquisa biomédica aplicada, entre outras. Além de prestar serviços na sua rede própria, apoiou iniciativas em âmbito nacional, preparou e disponibilizou profissionais para o Ministério da Saúde e as secretarias estaduais de saúde^{xviii}. A Fundação exerceu papel relevante no controle das doenças evitáveis por imunização no Brasil.

A Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), criada em 1902 como Repartição Sanitária Pan-Americana, para promover medidas de controle da transmissão da febre amarela e da peste nos países do continente americano, desenvolveu-se como organismo de cooperação e assistência técnica em políticas públicas de saúde na Região. Desde 1949 integra também o Sistema das Nações Unidas (ONU), como Escritório Regional da Organização Mundial da Saúde (OMS) para as Américas. A OPAS/OMS mantém escritório de representação no Brasil por Convênio Básico firmado com o governo brasileiro (1954)^{xix}. O seu papel no controle de doenças evitáveis por imunização no Brasil foi decisivo para erradicar a varíola (1966-1971) e fortalecer o Programa Nacional de Imunização.

Vacinas e práticas de vacinação precursoras

Antes da criação do Programa Nacional de Imunização (1973), a administração de vacinas no Brasil seguia a lógica dos modelos institucionais consolidados no Estado Novo, mesmo após ser instituído o Ministério da Saúde (1953). Os produtos imunobiológicos que se constituíam insumos de programas verticais contra doenças

específicas, eram produzidos e utilizados sob a responsabilidade desses programas, segundo normas técnicas por eles estabelecidas. Exemplos do modelo são as vacinas contra a tuberculose e a febre amarela.

O Serviço Nacional de Tuberculose, apoiado pela CNCT, encarregava-se de manter a produção da vacina BCG na Fundação Atauilho de Paiva (FAP) e de promover o seu suprimento e aplicação nos serviços de saúde de todo o país. De igual modo, o Serviço Nacional de Febre Amarela assegurava a produção da vacina no Instituto Oswaldo Cruz, e se incumbia diretamente de aplicá-la, nas populações residentes em áreas endêmicas ou que para elas se deslocavam.

Em situação distinta estavam as demais vacinas recomendadas para uso em saúde pública, e que não correspondiam a programas nacionais específicos. Nesses casos, inexistia uma ação de âmbito nacional estruturada para planejar e custear a produção, suprimento e utilização das vacinas nos serviços de saúde. Instituições federais como a FSESP, e estaduais como as secretarias de saúde mais desenvolvidas, adquiriam os produtos por iniciativa própria, sem depender de doações eventuais do governo federal.

O combate à varíola não foi contemplado na Reforma de 1941, possivelmente porque a doença deixara de ser uma séria preocupação da saúde pública. Por razões não bem esclarecidas, passara a predominar no país a forma clínica *minor*, sem gravidade. As técnicas de produção da vacina introduzidas por Pedro Afonso Franco no Rio de Janeiro (1887) pouco evoluíram até a década de 1950. O Instituto Oswaldo Cruz, o Instituto Butantan e alguns laboratórios estaduais supriam as necessidades para uso rotineiro, inclusive a vacinação obrigatória para matrícula escolar nos centros urbanos. A situação da varíola somente veio a ser enfrentada definitivamente por força de compromissos internacionais firmados nas décadas de 1950 e 1960.

A vacina anti-rábica, tradicionalmente produzida e utilizada no Brasil, teve como paradigma a base científica do Instituto Pasteur de Paris. Em algumas capitais brasileiras foram criados laboratórios destinados à produção da vacina e ao tratamento profilático humano, sendo mais importante o Instituto Pasteur de São Paulo (1903)^{xx}. Somente em 1973 o problema da raiva urbana foi objeto de programação planejada nacionalmente.

O uso de vacinas recomendadas rotineiramente na infância era promovido pelo Departamento Nacional da Criança (DNC), criado à parte da estrutura da saúde pública, então comandada pelo Departamento Nacional de Saúde (DNS). Atuando em estreita articulação com a Sociedade Brasileira de Pediatria, o DNC promoveu a elaboração de normas de vacinação^{xxi,xxii} e estimulou essa atividade na prática clínica e nos serviços de atenção materno-infantil da rede pública.

Ademais da BCG, a vacina tríplice bacteriana (DPT) desenvolvida na década de 1930 foi incorporada à atenção infantil e produzida em alguns laboratórios oficiais brasileiros

– Instituto Butantan (SP), Vital Brazil (RJ), Fundação Ezequiel Dias (MG) – e também no setor privado (Instituto Pinheiros, SP). Esses laboratórios produziam, em separado, toxóides tetânico e diftérico para uso adulto, sendo o tetânico recomendado às gestantes para prevenção do tétano neonatal.

Seguiu-se o desenvolvimento da vacina contra a poliomielite, na década de 1950. A primeira vacina, produzida a partir de vírus inativados (vacina Salk), foi importada e utilizada em escala reduzida e esporádica, em algumas cidades brasileiras. No início da década de 1960, a vacina oral de vírus vivos (vacina Sabin) substituiu a Salk e passou a ser usada rotineiramente, à medida que o Ministério da Saúde ou secretarias estaduais de saúde eventualmente a importavam. À semelhança de outros países, a estratégia utilizada inicialmente foi a de campanhas de vacinação, sendo pioneiras no Brasil as realizadas em Santo André (SP) e em Petrópolis (RJ)^{xxiii}, em 1961.

A vacina contra o sarampo surgiu em 1962 e, como no caso da poliomielite, seria utilizada eventualmente no Brasil conforme as possibilidades de ser importada, posto que não incorporada a algum programa nacional específico. As dificuldades de apropriação dessa vacina pela rede pública foram maiores, pelo seu custo elevado, necessidade de cuidados especiais de conservação e aplicação, e relativa benignidade da doença na população de melhor nível nutricional.

A produção nacional de imunobiológicos incluía também vários tipos de soros – anti-peçonhentos, anti-rábico, antitetânico, antidiftérico – e reativos de diagnóstico para tuberculose, hanseníase, febre tifóide e outras doenças. A pesquisa e o desenvolvimento de soros antiofídicos consolidaram a posição do Instituto Butantan como um dos principais centros científicos internacionais nessa área, no início do século XX.

Com exceção dos programas verticalizados pelo governo federal, não foi instituído um sistema de registro nacional de casos conhecidos para as demais doenças, apesar de o Código Nacional de Saúde (1961) exigir a notificação de cerca de 40 doenças. Difícil, portanto, avaliar a situação epidemiológica das doenças e o impacto das atividades de vacinação realizadas. A primeira iniciativa para reunir sistematicamente os dados coligidos pelas secretarias estaduais de saúde e pelos programas federais específicos, foi realizada pela FSESP para efeito de publicação do Boletim Epidemiológico (1969).

A erradicação da varíola

A partir de 1950, propostas para erradicar a varíola se sucederam, até a aprovação na 12ª Assembléia Mundial da Saúde (1959). No entanto, as condições objetivas para o empreendimento surgiram com o compromisso de apoio financeiro dos Estados Unidos, o que concretizou o Programa de Erradicação da Varíola, aprovado na 20ª Assembléia Mundial da Saúde (1967).

Na década de 1950, a Organização Pan-Americana da Saúde promoveu um esforço de cooperação para controlar a doença no continente, por meio de programas nacionais de

vacinação em massa. Em função desse compromisso, o governo brasileiro criou a Campanha Nacional Contra a Varíola (1962), que procurou mobilizar os Estados para realizarem campanhas de vacinação. Os resultados foram pouco expressivos, pela falta de apoio técnico, logístico e financeiro à estruturação dos diversos componentes requeridos para um programa dessa natureza. O principal resultado foi o início de produção da vacina liofilizada, no Instituto Oswaldo Cruz.

No planejamento inicial do programa de erradicação global, o Brasil foi priorizado por ser o único país ainda endêmico nas Américas. O eventual desaparecimento da varíola no país possibilitaria que recursos humanos e logísticos se concentrassem nos continentes onde a varíola era, de fato, um problema grave e difícil de controlar. No Ministério da Saúde do Brasil, porém, havia ceticismo quanto à viabilidade de êxito de um novo programa nacional, em face da experiência negativa anterior e da pouca importância atribuída à doença, por sua benignidade clínica. O convencimento surgiu com a invenção do injetor a pressão (Ped-o-Jet), testado com sucesso no Território Federal do Amapá pelo CDC (1965) e que aceleraria a vacinação da população urbana^{xxiv}.

A Campanha de Erradicação da Varíola (CEV) foi então instituída por Decreto-Lei federal (1966), na presunção de que toda a população do país teria que ser vacinada e de que a cobertura vacinal alcançada se mantivesse nos anos seguintes. A coordenação nacional da CEV não se convenceram da eficácia da nova estratégia utilizada em outros países e em alguns estados brasileiros, de interromper cadeias de transmissão por meio de detecção de casos e vacinação de seus contatos. Essa relutância provocou críticas da OMS, por prolongar a duração da campanha de vacinação e comprometer recursos que se tornavam necessários em outras frentes do programa internacional^{xxv}. Desde a sua instalação, a CEV se defrontou com sérios desafios institucionais para cumprir o objetivo, dadas as condições gerais do país e do setor saúde em particular.

Não obstante, a missão foi concluída em cinco anos. O último surto de varíola foi registrado em abril de 1971, depois de se vacinar mais de 83 milhões de indivíduos e de montar uma estrutura de vigilância capacitada a investigar oportunamente todos os casos suspeitos notificados. Um inquérito de prevalência de cicatriz vacinal em áreas consideradas vulneráveis (1972) comprovou cobertura de 80% entre 779 mil pessoas examinadas. Finalmente, uma comissão técnica enviada pela OMS (1973) declarou que a transmissão da varíola havia sido interrompida no Brasil^{xxiv}.

Do ponto de vista da evolução histórica das atividades de imunização no Brasil, a erradicação da varíola representa o marco de transição para uma nova época. A direção da CEV, liderada por Oswaldo José da Silva, foi capaz de organizar novo arranjo institucional que combinou as virtudes das duas estruturas federais de saúde que então possuíam capacidade operativa real, em todo o país. De um lado o modelo campanhista tradicional, representado pela Campanha de Erradicação da Malária. De outro, o modelo

de gestão integrada de serviços básicos de saúde, representado pela Fundação SESP. Todo o quadro diretivo da CEV, técnico e administrativo, foi cedido pela FSESP.

Pela primeira vez no Brasil, um programa de vacinação em massa foi levado à totalidade da população, por equipes treinadas e supervisionadas, que administravam vacinas adequadamente conservadas e submetidas a prévio controle de qualidade. Equipes precursoras mobilizavam a população para a campanha, rompendo resistências culturais e favorecendo futuras iniciativas. Os injetores a pressão foram amplamente aceitos e continuaram em uso por muitos anos, para outras vacinas. A cobertura alcançada em cada município era avaliada por equipes independentes, usando metodologia amostral especialmente desenhada, que previa a verificação de reação cutânea em crianças primovacinas. Ressalve-se que, segundo a OMS, as vacinas produzidas no Brasil nunca atingiram o nível de potência recomendado^{xxiv}.

A CEV introduziu no Brasil o novo conceito de vigilância epidemiológica e propiciou excepcional oportunidade para capacitação de profissionais. Publicou ininterruptamente o Boletim Semanal da CEV, primeira publicação do gênero no Brasil. Influenciou a FSESP a criar o Centro de Investigações Epidemiológicas (CIE), estrutura pioneira do Ministério da Saúde nessa área (1969), que instituiu a notificação semanal de várias doenças e criou o Boletim Epidemiológico, publicado durante os 20 anos seguintes.

A Campanha organizou redes de fontes de notificação imediata de casos suspeitos de varíola em todos os Estados e procedimentos de investigação sistemática para confirmar o diagnóstico, mapear cadeias de transmissão e controlá-las por intervenções focais. O apoio ao diagnóstico foi propiciado pelos laboratórios de virologia do Instituto Oswaldo Cruz e do Instituto Adolfo Lutz. As unidades de vigilância epidemiológica (UVE), organizadas nas secretarias estaduais de saúde para realizar esse trabalho, foram apoiadas técnica e administrativamente pela FSESP e viriam a se constituir estruturas embrionárias do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica do Brasil.

Concebida como intervenção pontual para cumprir compromisso internacional firmado pelo governo brasileiro, a atuação da CEV se sobrepôs aos mecanismos regulares do setor saúde, então incapazes de coordenar um esforço nacional nessa escala. Pode-se afirmar que a meta de erradicação não teria sido atingida sem o suporte contínuo e decisivo da OPAS/OMS, nos aspectos político, técnico, logístico e material. Em tais circunstâncias, as atividades e as contribuições da CEV não puderam se inserir diretamente na prestação de serviços de saúde no Brasil. Apesar disso, a mística do programa e a experiência prática adquirida pelos profissionais que nele atuaram puderam ser aproveitadas em outras iniciativas similares.

Iniciativas associadas à CEV (1971-73)

As mudanças estruturais que ocorreram no Ministério da Saúde em 1970 geraram iniciativas na área de controle de doenças evitáveis por imunização, porém insuficientemente articuladas no plano institucional. A CEV foi incorporada à SUCAM,

que absorveu também o DNERu e a CEM. O novo Departamento Nacional de Profilaxia e Controle de Doenças (DNPCD) criou a Divisão Nacional de Epidemiologia e Estatística de Saúde (DNEES) e absorveu os programas de controle da tuberculose e da hanseníase, entre outras atribuições. O Instituto Oswaldo Cruz, a Escola Nacional de Saúde Pública e outros institutos de pesquisa passaram a integrar a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

A CEV, em vias de atingir o seu propósito, procurava meios para manter as coberturas vacinais e estimulou as secretarias estaduais de saúde a aplicarem a vacina antivariólica simultaneamente com outras, sobretudo a vacina contra o sarampo, que estava sendo difundida no país sem uma ação coordenada nacionalmente. A DNEES, por sua vez, instituiu o Plano Nacional de Controle da Poliomielite (PNCP), a primeira iniciativa de âmbito nacional para controlar a doença (1971). Em 1973, erradicada a varíola, a CEV foi extinta sem que a sua estrutura técnico-gerencial fosse inserida em uma ação federal compreensiva na área de imunização e vigilância epidemiológica.

O Plano Nacional de Controle da Poliomielite^{xxvi} estabeleceu a realização de campanhas sistemáticas de vacinação dirigidas à população urbana com menos de cinco anos de idade. Uma experiência piloto realizada no Estado do Espírito Santo mostrou a viabilidade da estratégia adotada^{xxvii}. Sem aportar recursos financeiros especiais para os Estados, a DNEES assegurava o suprimento de vacinas e promovia ampla mobilização de órgãos de governo e da sociedade civil, em cada Estado, para a realização de ao menos duas campanhas anuais, segundo normas gerais padronizadas. Cada criança vacinada era convenientemente registrada, de forma a assegurar o recebimento de três doses de vacina. O programa foi aplicado em 14 Estados, durante dois anos (1972-1973), mas a falta do componente de vigilância epidemiológica impossibilitou aferir o impacto epidemiológico das campanhas, embora nesse período não houvesse alarde sobre a ocorrência de surtos da doença.

Ainda em 1971, o governo federal instituiu a Central de Medicamentos (CEME), com o propósito de assegurar o suprimento de medicamentos essenciais à rede pública prestadora de serviços de saúde em todo o país. Para tanto, fomentou a produção nacional e o controle de qualidade de fármacos e de produtos imunobiológicos. O Plano Diretor da CEME se baseou em levantamento nacional de necessidades de produtos, que foi realizado pela FSESP. A CEME se dispôs a adquirir todos os produtos imunobiológicos requeridos pelo Ministério da Saúde e supri-los aos órgãos executores, federais ou estaduais. Tornou-se imperioso, portanto, um planejamento que integrasse as necessidades e as normas de utilização de todas as vacinas.

A demanda da CEME foi apoiada por nova gestão do Ministério da Saúde investida em 1972, que deu ênfase à formulação de planos nacionais abrangentes, inclusive para vincular a assistência médica previdenciária^{xxviii}. A DNEES e a CEME elaboraram, em conjunto, o Programa Nacional de Imunizações (PNI) cuja responsabilidade executiva, na esfera federal, foi cometida à FSESP^{xxix}. Outra iniciativa à época foi o Programa

Nacional de Profilaxia da Raiva (1973), por ação conjunta do Ministério da Saúde, do Ministério da Agricultura, da CEME e da OPAS, sob coordenação do Centro de Investigações Epidemiológicas (CIE) da FSESP.

Programa Nacional de Imunizações (PNI) e Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica

O Programa estabeleceu um conjunto de ações destinadas a articular iniciativas de imunização em andamento, para manter erradicada a varíola e controlar a poliomielite, a tuberculose, o tétano, a difteria, a coqueluche e o sarampo. Pretendeu elevar as coberturas vacinais existentes estimulando campanhas de vacinação simultânea, sempre que as condições técnico-operacionais dos serviços o permitissem. Na fase seguinte, as coberturas deveriam ser mantidas pela vacinação de rotina. Ênfase especial foi dada à vacinação contra o sarampo, que pela primeira vez foi objeto de programação nacional. As ações de vigilância epidemiológica seguiam as recomendações internacionais e, no plano operacional, o modelo desenvolvido para erradicar varíola.

Em 1974, sob outra administração do Ministério da Saúde, a estratégia de atuação do PNI foi reorientada para fortalecer ações de rotina na rede de serviços de saúde. Uma Lei federal específica tornou obrigatório o cumprimento do esquema básico de vacinação no primeiro ano de vida e dispôs sobre a organização das ações de vigilância epidemiológica^{xxx}. As campanhas de vacinação foram descontinuadas e as coberturas vacinais não sofreram incremento até o final da década, permanecendo ao redor de 50% segundo registros coligidos pela FSESP.

De certa forma, a implementação do PNI foi comprometida por uma epidemia de doença meningocócica que eclodiu em São Paulo (1972) e tomou proporções nacionais com a superposição de epidemias pelos sorogrupos A e C de *Neisseria meningitidis* (1974). O enfrentamento da epidemia incluiu a transferência de tecnologia de produção de vacinas para a FIOCRUZ, e a realização de uma campanha de vacinação que cobriu todo o país. Dois importantes subprodutos dessa epidemia foram a valorização do componente tecnológico da produção de vacinas e a criação do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica - SNVE (1975)^{xxx}.

Por delegação do Ministério da Saúde, mediante convênio específico, a FSESP elaborou um projeto para o SNVE e conduziu a sua implementação até o final da década de 1970. Para isso adequou a sua estrutura, transformando o CIE na Divisão de Epidemiologia, Estatística e Informação (DEESI). O projeto continha o Manual de Vigilância Epidemiológica, com normas e instruções técnicas para a notificação, investigação, confirmação e medidas de controle pertinentes a cada uma das doenças consideradas de relevância nacional. A edição do Boletim Epidemiológico foi fortalecida e sua distribuição ampliada. As UVE criadas pela CEV nas secretarias estaduais de saúde serviram de base para implementar as ações do SNVE, recebendo apoio técnico, logístico e administrativo das Diretorias Regionais da FSESP. Utilizava-se como

paradigma a UVE do Estado do Rio Grande do Sul, organizada com base em convênio especial com a FSESP.

Atenção especial foi dada à questão da poliomielite, que poderia ser controlada com relativa facilidade a partir de atividades de vacinação organizadas. A simplicidade de aplicação da vacina e a sua grande aceitação popular haviam sido comprovadas na execução do PNCP (1971-1973). Foram produzidas normas técnicas detalhadas de vigilância (1975) e capacitados técnicos das UVE. Os laboratórios de diagnóstico existentes no país foram apoiados para conformar uma rede regionalizada, capaz de receber amostras de qualquer procedência. Cópias das fichas de investigação eram analisadas na DEESI para divulgação no Boletim Epidemiológico^{xxxix}.

Em pouco tempo, o quadro epidemiológico da poliomielite no Brasil estava claramente delineado^{xxxii,xxxiii}. O Brasil permanecia na fase epidêmica da doença, com mais de 2 mil casos anuais associados a ampla e generalizada circulação de poliovírus tipo 1, em crianças com menos de cinco anos de idade (80% dos casos), a maioria sem receber sequer uma dose de vacina. Tornou-se óbvia a necessidade de uma estratégia de vacinação que transcendesse a rotina de serviços de saúde mal distribuídos e pouco eficientes.

Essa estratégia era antiga^{xxxiv} e havia controlado a poliomielite no mundo desenvolvido e em outros países. Mas passou a ser identificada com o modelo “campanhista”, sem sintonia com a concepção de atenção primária à saúde que seria afirmada na Reunião de Alma-Ata (1978) e que era seguida pelo Programa Ampliado de Imunização (PAI) instituído na OMS (1974) e na OPAS (1977).

Controle e erradicação da poliomielite

Em 1979, vários surtos de poliomielite ocorreram no Brasil. Um deles ganhou repercussão nacional e provocou mudanças na atuação do Ministério da Saúde, quando uma nova administração acabara de ser empossada. No mês de dezembro, o Secretário estadual de saúde do Paraná comunicou à imprensa um surto de poliomielite na fronteira com o Estado de Santa Catarina, e o considerou falha grave do sistema de saúde. Este posicionamento, pouco comum até então, expôs problemas gerenciais e dificuldades de acesso aos serviços, em dois Estados que possuíam sistemas de saúde bem desenvolvidos.

A resposta federal à ocorrência trouxe de volta ao debate a experiência do PNCP e a oportunidade de ele ser retomado com adaptações. O novo momento oferecia recursos importantes, tais como uma base de informação epidemiológica que possibilitaria medir a eficácia da campanha, além de meios de comunicação pública estruturados. A mudança para “dias *nacionais* de vacinação” foi recomendada como estratégia mais eficiente, pelo seu poder de mobilização institucional e social, produção de impacto epidemiológico e sensibilização política para a continuidade das ações.

Vigorava uma nova estrutura do Ministério da Saúde aprovada após a transferência da Pasta para Brasília (1975). O Programa Nacional de Imunizações (PNI) e o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica (SNVE), como também o Sistema de Laboratórios de Saúde Pública, faziam parte da estrutura da Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde (SNABS). Esta Secretaria liderou a “Ação de controle da poliomielite”, que se baseava na estratégia de dias nacionais de vacinação^{xxxv} e seria executada em estreita colaboração com a FSESP, a SUCAM, a FIOCRUZ e a CEME. As atividades de vigilância epidemiológica da doença foram fortalecidas por normas técnicas detalhadas^{xxxvi}, com apoio laboratorial referenciado pela FIOCRUZ^{xxxvii}.

Essa iniciativa estava respaldada na nova política institucional do Ministério, que previa um processo de articulação programática interna, com descentralização de responsabilidades para as secretarias estaduais de saúde, e articulação intersetorial com o Ministério da Previdência e Assistência Social, o Instituto de Assistência Médica da Previdência Social (INAMPS) e o Ministério da Educação^{xxxviii}. A SNABS coordenou a organização técnico-operativa do processo, com apoio de uma Comissão Nacional. Órgãos de governo e sociedade civil se engajaram à preparação dos dias nacionais, cabendo destacar a participação da Sociedade Brasileira de Pediatria.

Em 1980 foram realizados dois dias nacionais de vacinação contra a poliomielite, nos meses de junho e agosto. A execução dessas campanhas representou um esforço de mobilização institucional e social jamais experimentado no país, envolvendo grande complexidade logística de aquisição e suprimento de vacinas e outros insumos, de capacitação e deslocamento de equipes, de cobertura de populações rurais dispersas na Amazônia, de registro e apuração de doses aplicadas, de avaliação de processos para correções futuras.

Os resultados das duas campanhas superaram as expectativas, com cobertura quase total da população de 18 milhões crianças na faixa etária prioritária. Como se esperava, o impacto epidemiológico pôde ser imediatamente mensurado e produziu enorme repercussão, nacional e internacional. De 2.500 casos registrados em 1979, a incidência se reduziu a 1.290 em 1980 e continuou declinando nos anos seguintes, para atingir apenas 45 casos em 1983^{xxxix,xl}. As resistências iniciais à estratégia se dissiparam diante das evidências. O setor saúde angariou grande prestígio junto à opinião pública brasileira, as equipes técnicas federais e estaduais se fortaleceram para empreender outras iniciativas no campo da imunização.

Os dias nacionais de vacinação tiveram continuidade nos anos seguintes, apesar de mudanças institucionais significativas, como a que se seguiu à criação do Sistema Único de Saúde (1990). A estratégia tornou-se, na realidade, o eixo propulsor do controle das doenças evitáveis por imunização no Brasil, como canal de comunicação direta com a sociedade para assegurar o alcance e a manutenção de elevadas coberturas, conforme previa o PNI originalmente (1973). O resgate dessa estratégia foi reconhecido em

estudo promovido pela OPAS, como meio de potencializar a atuação dos serviços básicos de saúde^{xli}.

Os resultados alcançados no Brasil estimularam a OPAS a empreender uma iniciativa de erradicação autóctone de poliovírus selvagens nas Américas, que foi aprovado na 31ª reunião do Conselho Diretor (1985). Para atingir esse propósito, as estratégias de controle foram revisadas, estabelecendo-se normas técnicas e critérios mais estritos de atuação^{xlii}. Essas diretrizes foram adaptadas à realidade brasileira^{xliii} e aprovadas em ampla reunião técnica nacional realizada pela SNABS (1986). Um Grupo Técnico especial foi organizado para dedicar-se exclusivamente a essa fase do trabalho. O Rotary Internacional, por intermédio da iniciativa Pólio-Plus, apoiou financeiramente a iniciativa da OPAS e destinou ao Brasil parte dos recursos arrecadados.

Uma ameaça ao projeto surgiu com a detecção de aumento do número de casos de poliomielite em municípios da região Nordeste, com padrão epidemiológico distinto do usual, pela associação causal com o vírus tipo 3 e acometimento de crianças vacinadas. Com apoio da OPAS, os registros disponíveis na SNABS foram submetidos a minuciosa análise epidemiológica, que sugeriu baixa eficácia do componente tipo 3 da vacina trivalente. Essa hipótese foi confirmada por pesquisa de campo realizada pela FIOCRUZ, comparando diferentes formulações da vacina^{xliv}. A mais potente delas passou a ser usada na produção dos suprimentos seguintes, e a incidência da doença retornou ao baixo patamar conquistado anteriormente.

A iniciativa de erradicação da poliomielite levou o Ministério da Saúde a desenvolver um criativo projeto de educação e comunicação, visando difundir conceitos e práticas de imunização entre a população infantil. O projeto criou um personagem símbolo da vacina, apelidado de “Zé Gotinha” pelas crianças participantes de um concurso escolar com abrangência nacional. Essa marca do PNI orientou a produção de materiais educativos, e a programação de ações nacionais e estaduais, estabelecidas em conjunto com profissionais de comunicação de todo o país^{xlv}.

Após enorme esforço que incluiu a busca ativa de casos de paralisia flácida aguda, a coleta sistemática de amostras para diagnóstico laboratorial, o uso de novas técnicas de caracterização genotípica dos poliovírus isolados^{xlvi}, e a revisão de casos por uma comissão nacional de especialistas, entre outras medidas, logrou-se eliminar os focos de transmissão autóctone remanescentes. Em 1989, foram registrados no Estado da Paraíba os últimos casos de poliomielite por poliovírus selvagens no Brasil. Para comprovar esse resultado, a OPAS estabeleceu critérios técnicos específicos a serem cumpridos pelos países^{xlvii}. No Brasil, o Ministério da Saúde compôs uma Comissão Nacional que submeteu relatório detalhado a respeito. Em 1994, após analisar a situação em todos os países da Região, a Comissão Internacional de Certificação declarou que a transmissão da poliomielite no continente americano havia sido interrompida.

A eliminação da poliomielite no Brasil representou uma conquista do setor saúde e da sociedade em geral, que culminou esforços persistentes e experiências acumuladas ao longo de décadas^{xlvi}. Novos espaços se abriram para o PNI e o controle de doenças transmissíveis. Apesar da facilidade de aplicação da vacina oral e de sua grande receptividade pela população, inúmeras dificuldades tiveram que ser superadas para que a vacina fosse correta e eficientemente aplicada. Além das questões estruturais próprias do setor saúde, houve resistências conceituais ao modelo adotado^{xlvi} e uma inusitada controvérsia com o cientista Albert Sabin, de que se ocupou a imprensa nacional e estrangeira¹.

Produção, suprimento e controle de qualidade de imunobiológicos.

A mobilização para os dias nacionais fez aumentar o interesse pela imunização e intensificar o uso de outras vacinas do PNI, para controlar doenças como o sarampo, que ainda causava elevada mortalidade no Brasil. O rápido aumento da demanda de vacinas evidenciou uma série de questões críticas a serem enfrentadas, relativas à produção, aquisição, controle de qualidade, conservação, suprimento, controle de estoques e desenvolvimento tecnológico de vacinas. Várias instituições estavam envolvidas nesse ciclo, havia aspectos técnicos a serem aprofundados e alguns dos processos requeriam novos investimentos.

Até 1981, o controle da qualidade dos produtos imunobiológicos utilizados no país era de responsabilidade exclusiva das instituições produtoras. Por iniciativa própria, alguns deles submetiam amostras a laboratórios internacionais de referência, como no caso da BCG. Vários problemas detectados em 1981 levaram o Ministério da Saúde/SNABS a constituir um Grupo de Trabalho para controle de qualidade de imunobiológicos (GT/CQI), integrado por representantes das instituições envolvidas^{li}. O principal problema foi a contaminação por fungos de partidas de vacina contra a poliomielite importadas de fornecedor não tradicional, que determinou adiamento do primeiro dia nacional de vacinação. Outros problemas detectados foram reações indesejáveis à aplicação de toxóide tetânico e baixa potência de lotes de vacina anti-rábica e contra o sarampo.

O GT/CQI passou a realizar reuniões técnicas e visitas aos laboratórios produtores, com apoio de consultores internacionais especializados. Enquanto se estruturava o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/FIOCRUZ) criado em 1981, o Departamento de Virologia da FIOCRUZ realizou provas de potência de vacinas contra a poliomielite e raiva humana. Em 1982, o GT/CQI apresentou relatório propondo as bases para o funcionamento de um sistema nacional de controle, considerando várias irregularidades verificadas em visita às instalações produtoras. Amostras de vacinas DPT foram enviadas para análise no FDA (Estados Unidos) e no Instituto de Saúde Pública do Chile. Em 1983, foram aprofundadas as inspeções, as análises e outras medidas para regularizar a produção. Em 1984, com o INCQS em pleno funcionamento, foram concluídas as especificações técnicas dos produtos e os procedimentos para a

sistemática de controle, sendo então realizado o primeiro curso nacional de controle de qualidade de imunobiológicos^{lii}.

Por força dos problemas identificados, algumas linhas de produção de vacinas tiveram que ser temporariamente interrompidas, gerando dificuldades de suprimento para o PNI. Um dos laboratórios que apresentava maiores problemas foi a Syntex do Brasil, produtor de DPT e TT e dT mas não fornecedor do PNI, e o único vinculado ao setor privado. A direção da empresa se recusou a corrigir as falhas e optou por desativar a produção de imunobiológicos, que utilizava instalações remanescentes do antigo Instituto Pinheiros. Essa decisão teve uma consequência imprevista, o desabastecimento de soros antiofídicos, que a Syntex produzia em escala considerável e vendia diretamente a consumidores públicos e privados, sem qualquer controle oficial.

A crise de abastecimento condicionou aumento do número de óbitos e sequelas por acidentes ofídicos na população rural, e exigiu que o Ministério da Saúde fomentasse a produção nos laboratórios oficiais (Butantan, Vital Brazil e Fundação Ezequiel Dias). Todos eles apresentavam problemas estruturais que comprometiam também outras linhas de produção. Foi então proposto pela SNABS o Programa de Auto-Suficiência Nacional em Imunobiológicos (PASNI)^{liii}, que foi aprovado em reunião com todos os produtores nacionais e financiadores de fomento tecnológico (FINEP, CNPq, FINEC, BNDES), em outubro de 1985.

O PASNI se orientou nos estudos realizados pelo GT/CQI, propondo um plano de investimento na modernização física, estrutural e tecnológica dos laboratórios nacionais que produziam soros e vacinas utilizados em programas e serviços públicos de imunização e atenção à saúde. Fizeram parte, inicialmente, sete instituições: Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos/FIOCRUZ/RJ); Instituto Butantan (SP); Instituto Vital Brazil (RJ); Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR/PR); Fundação Ezequiel Dias (FUNED/MG); Fundação Ataufo de Paiva (RJ) e Instituto de Pesquisas Biológicas (IPB/RS). A partir de um plano plurianual de necessidades dos quantitativos de imunobiológicos utilizados nacionalmente, foram estabelecidas cotas de participação dos laboratórios produtores, tendo em vista o alcance das metas negociadas^{liii}.

Com relação à logística de abastecimento do PNI, foram realizados investimentos na montagem de uma rede de câmaras refrigeradas que abrangia as capitais de todos os Estados, com a central de distribuição localizada no Rio de Janeiro. Os responsáveis receberam capacitação especial na tecnologia de Rede de Frio. As atividades de suprimento foram normatizadas, com mecanismos definidos de coordenação, responsabilidades institucionais, procedimentos e fluxos de informação.

A crise de abastecimento de soro antiofídico teve de positivo a criação de um programa de controle de acidentes por animais peçonhentos, que possibilitou dimensionar o problema no país, padronizar normas técnicas de tratamento, organizar o abastecimento

de centros de referência, contribuir para a produção de soros específicos e difundir conhecimentos específicos para os serviços de saúde e a população em geral^{liv}.

O PASNI deu novo fôlego aos laboratórios produtores de imunobiológicos no Brasil. Modernizaram-se a capacidade instalada, os processos de produção e o controle de qualidade. Mas a pretendida auto-suficiência nacional encontraria dificuldades de viabilização que transcendiam os objetivos iniciais do programa, por envolver políticas de gerenciamento empresarial, preparação de recursos humanos altamente especializados, investimentos em pesquisa e em desenvolvimento tecnológico. Tudo isso em um contexto de competição internacional cada vez mais acirrada.

Controle do sarampo e da rubéola

A criação do PNI coincidiu com a divulgação de importante estudo sobre a mortalidade na infância, que expôs a gravidade do sarampo nas cidades de São Paulo, Recife e Ribeirão Preto^{lv}. Diferentes estratégias de vacinação foram empregadas desde então, incluindo campanhas de vacinação simultânea (1973-1974), incentivo à rotina nos serviços de saúde (1975-1980), campanhas específicas em áreas com baixa cobertura (1981, 1987) e intensificação da rotina procurando combinar várias estratégias^{lvi,lvii}. De maneira geral, essas intervenções não tiveram impacto persistente, pela dificuldade de manter coberturas vacinais elevadas.

Com base em experiências no Brasil e em outros países das Américas, o Ministério da Saúde adotou a meta de eliminação do sarampo proposta pela OPAS. A execução do plano nacional teve início em 1992, com a realização de campanha de vacinação dirigida a toda a população no grupo etário de 9 meses a 14 anos. Mais de 48 milhões de doses foram aplicadas, perfazendo 96% de cobertura. Após a campanha, a vigilância do sarampo intensificou a notificação, investigação e confirmação laboratorial de casos suspeitos. Nova campanha de vacinação foi realizada em 1995, para crianças de 1 a 3 anos de idade, sem incluir o Estado de São Paulo. Outras duas campanhas foram realizadas em 1997 e em 2000, para vacinar crianças de até 4 anos de idade^{lviii}.

Após a campanha de vacinação em 1992 a incidência de sarampo se reduziu para apenas 967 casos em 1995. Mas ressurgiu em 1997, com 53 mil casos notificados, dos quais 79% no Estado de São Paulo e 71% deles acima de 20 anos de idade. Essa ocorrência motivou redobrados esforços, com a realização de estudos caso-controlado para identificar fatores de risco, e de epidemiologia molecular dos vírus isolados. Medidas de vigilância e contenção foram intensificadas, ampliando a cobertura de fontes de notificação. Passaram a ser sistematicamente vacinados os contatos de casos e a população escolar. Em 2000 e 2001 foram confirmados, respectivamente, apenas 36 e um caso, entre milhares de suspeitos investigados^{lviii}. Desde então raros e pequenos surtos têm sido detectados, envolvendo casos importados ou a eles relacionados. O principal deles ocorreu em 2006 na Bahia, não tendo sido possível identificar a origem.

A vigilância intensiva do sarampo fez melhorar consideravelmente a informação sobre incidência de rubéola, principal doença a considerar no diagnóstico diferencial. O número de casos de rubéola notificados ascendeu desde 1998, alcançando 47 mil em 2000, dos quais 15 mil foram confirmados, o que reflete a sensibilidade do sistema de vigilância. A melhoria da notificação de rubéola indicou também o deslocamento da incidência para o grupo de adultos jovens, e a realização de campanha de vacinação dirigida à população feminina em idade reprodutiva.

Em 2001 e em 2002 foram realizadas campanhas de vacinação de mulheres em idade fértil, priorizando estados que registraram surtos da doença. Resultou sensível redução de casos de rubéola, mas com padrão de predominância na população masculina. Com base em estudos realizados em 2006, foi realizada em 2008 uma campanha de vacinação dirigida para os grupos etários de 12-39 anos e 12-29 anos, conforme a situação em cada estado. Estimou-se em 95% a cobertura alcançada em todos os grupos etários, e os resultados estão sendo avaliados.

Evolução institucional e programática

Fortemente marcado por um modelo centralizador e organizado para cuidar de problemas específicos, o setor saúde brasileiro segue a passos lentos uma trajetória de busca pela articulação interna e interação com outros setores de governo. Esse movimento é perceptível nas sucessivas reformas realizadas no Ministério da Saúde desde a década de 1950, mas as intenções são rapidamente defasadas pela instabilidade político-institucional reinante, e também pelas pressões de demanda que decorrem da vertiginosa complexidade do campo da saúde.

Na área de imunização, a articulação interna teve como ponto de partida a demanda da CEME para programar a aquisição e suprimento de vacinas. Resultou a criação do PNI, que inicialmente apenas deu continuidade a iniciativas já em andamento – como campanhas de vacinação contra a poliomielite e o sarampo – e tratou de sistematizar ações relativas ao esquema básico com seis vacinas. Passo adiante foi dado com a criação do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica (SNVE), que criou normas técnicas para as doenças transmissíveis em geral, várias delas cuidadas por distintos e independentes órgãos do Ministério. A FSESP atuou na aproximação com órgãos federais como a FIOCRUZ, secretarias estaduais de saúde e laboratórios de diagnóstico.

Somente na década de 1980 a coordenação efetiva do PNI e do SNVE começou a se conformar, pela mobilização interna do Ministério e das secretarias estaduais de saúde para os dias nacionais de vacinação. A FSESP, a SUCAM e a FIOCRUZ atuaram estreitamente articuladas. O impacto epidemiológico das campanhas sobre a incidência da poliomielite contribuiu fortemente para legitimar a liderança da SNABS nessas duas áreas, logo fortalecida por outras iniciativas afins. Entre elas, a articulação com a OPAS para o Programa Ampliado de Imunização (PAI), que introduziu novos conceitos, como o de Rede de Frio, e metodologias de capacitação e avaliação.

A iniciativa de controlar a qualidade das vacinas produzidas no país foi outra etapa de fundamental importância, que deu credibilidade ao PNI e aprofundou a relação com a FIOCRUZ, contribuindo para legitimar o INCQS como órgão de referência nacional. Essa iniciativa integrou também a Secretaria de Vigilância Sanitária e aumentou o poder do Ministério na negociação com a CEME. A articulação com a FIOCRUZ fortaleceu Biomanguinhos na negociação com o Japão, que transferiu ao Brasil a tecnologia de produção da vacina contra o sarampo.

Realizou-se em 1982 o Seminário de Controle de Doenças Transmissíveis, com participação de técnicos de todas as áreas do Ministério envolvidas, resultando a recomendação de “integrar todas as atividades de controle de doenças transmissíveis desenvolvidas pelo Ministério da Saúde, em um só órgão que dispusesse de estrutura suficientemente ágil, flexível e autônoma”. Estava preparado o terreno para a criação do Centro Nacional de Epidemiologia (CENEPI).

Em 1984, o Ministério da Saúde havia consolidado e integrado processos de coordenação interna nessa área. A FIOCRUZ substituíra a CEME no sistema de produção, aquisição, controle de qualidade, conservação e suprimento de imunobiológicos, já inteiramente normatizado. Um sistema de capacitação em larga escala – Curso Básico em Vigilância Epidemiológica (CBVE) e Curso de Aperfeiçoamento em Métodos Epidemiológicos (CAME) – estava para ser implementado em todo o país, com apoio da ENSP/FIOCRUZ. Recursos do BNDES, obtidos a fundo perdido, estavam sendo utilizados para apoiar as secretarias estaduais de saúde no desenvolvimento de projetos integrados de controle de doenças transmissíveis.

O Comitê Interorgânico de Controle de Doenças Transmissíveis, coordenado pela SNABS, reunia representantes da SUCAM, da FSESP, da FIOCRUZ, do INAMPS e da SNPES, para articular ações interprogramáticas. Grupos técnicos realizavam visitas programadas aos estados, para discutir a implementação do projeto estadual, utilizando metodologia de supervisão integrada especialmente desenvolvida. Após várias discussões internas no Ministério, com participação de técnicos enviados do Escritório Central da OPAS, foi aprovado documento sobre o Centro Nacional de Epidemiologia, que chegou a ser instituído formalmente (1984).

As mudanças na seguinte gestão do Ministério (1985) não afetaram profundamente a SNABS, mas romperam a lógica matricial que orientava a atuação da área de controle de doenças transmissíveis. A criação do CENEPI foi ignorada, ao passo que o PNI teve plena continuidade. Os principais avanços nesse período, que vai até 1989, foram o desenvolvimento do plano de erradicação da poliomielite e a criação do PASNI.

O governo federal empossado em março de 1990 instituiu nova ordem institucional que afetou profundamente o Ministério da Saúde. A FSESP e a SUCAM foram absorvidas por uma nova Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), enquanto a SNABS e a SNPES

foram extintas, sem que várias de suas atribuições fossem transpostas a outros órgãos. De forma circunstancial, foi resgatado o projeto CENEPI no âmbito da FUNASA.

Em setembro de 1990, a instituição do Sistema Único de Saúde (SUS) passou a reger o setor saúde brasileiro. Os municípios foram fortalecidos e financiados para assumir a gestão local do Sistema, o que reorientou as funções e os processos de trabalho de controle de doenças e de vigilância epidemiológica, nas esferas federal e estadual. O CENEPI se fortaleceu como órgão técnico e, a partir de 1999, foi dotado de meios para financiar diretamente os estados e municípios para realizarem ações nessas áreas.

A Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), criada em 2003, absorveu o CENEPI e todas as demais estruturas de controle de doenças no Ministério da Saúde, passando a coordenar e fomentar processos de grande alcance nas áreas de investigação, formação de recursos humanos e análise de situação de saúde, entre outras. O seu Centro de Informações Estratégicas em Vigilância em Saúde (CIEVS), criado para dar resposta a situações de emergência de relevância nacional, representa um dos marcos da virada institucional para uma nova fase do controle de doenças no país.

Situação atual da área de imunização

O PNI utiliza atualmente 44 produtos, entre vacinas, soros e imunoglobulinas, inclusive para atendimento em centros de referência de imunobiológicos especiais (CRBE). Calendários diferenciados orientam a vacinação de crianças, adolescentes, adultos/idosos e população indígena. A dotação orçamentária do Ministério da Saúde assegura o suprimento de todas as necessidades do programa, com produtos adquiridos nos mercados nacional e internacional. Há investimento na modernização das instalações e equipamentos dos laboratórios públicos nacionais produtores de soros e vacinas. Os produtos são distribuídos para os Estados pela Central Nacional (CENADI) situada no Rio de Janeiro, e os Estados dispõem de estruturas semelhantes para distribuição às unidades de saúde. Há controle informatizado da distribuição e de estoques.

Normas técnicas nacionais para a Rede de Frio são atualizadas com base em estudos e experiências visando agregar novas tecnologias. As secretarias estaduais e municipais de saúde têm a seu cargo a estruturação e manutenção das redes de frio correspondentes, inclusive a aquisição de equipamentos e acessórios. Supervisões periódicas têm indicado que, de modo geral, a rede de frio se encontra em condições satisfatórias. Os produtos são aplicados utilizando-se material descartável, segundo normas e procedimentos estabelecidos em manuais técnicos específicos. Está em funcionamento, desde 1992, um sistema de informação para vigilância de eventos adversos pós-vacinação, que são notificados obrigatoriamente.

Vários processos de trabalho apoiam o programa nacional de imunizações, nas áreas de informação em saúde, articulação interinstitucional, mobilização social, divulgação de informações, capacitação, supervisão, monitoramento e avaliação. Tendo em vista os progressos alcançados no controle e eliminação do sarampo e da rubéola, o Ministério

da Saúde elaborou um relatório sobre o cumprimento dos critérios estabelecidos pela OPAS para certificar a eliminação dessas doenças^{lix}.

Referências

¹ TÂNIA MARIA FERNANDES. **Vacina antivariólica: ciência, técnica e o poder dos homens, 1808-1920**. Editora Fiocruz. Rio de Janeiro, 1999.

¹ NICOLAU SEVCENKO. **A Revolta da Vacina: mentes insanas em corpos rebeldes**. CASAC NAIFY. São Paulo, 2010.

¹ LUIZ ANTONIO TEIXEIRA E MARTHA DE ALMEIDA. **Os primórdios da vacina antivariólica em São Paulo: uma história pouco conhecida**. História, Ciências, Saúde Manguinhos. Vol. 10 (suplemento): 475-98. Rio de Janeiro, 2003.

¹ LIRA NETO. **O poder e a peste: a vida de Rodolfo Teófilo**. Edições Fundação Demócrito Rocha. Fortaleza, 2001.

¹ JAIME BENCHIMOL. **A instituição da microbiologia e a história da saúde pública no Brasil**. Ciência e Saúde Coletiva, abril-junho, vol. 5, número 2. Associação Brasileira de Pós-Graduação em Saúde Coletiva. Rio de Janeiro, 2000.

¹ MARTA DE ALMEIDA. **Combates sanitários e embates científicos: Emílio Ribas e a febre amarela em São Paulo**. História, Ciências, Saúde - Manguinhos, vol. VI(3): 577-607, nov.1999 - fev. 2000.

¹ JAIME BENCHIMOL (coord.). **Febre amarela: a doença e a vacina, uma história inacabada**. Bio-Manguinhos/Editora Fiocruz. Rio de Janeiro, 2001, 469p.

¹ JAIME BENCHIMOL E LUIZ A. TEIXEIRA. **Cobras, lagartos e outros bichos: uma história comparada dos institutos Oswaldo Cruz e Butantan**. Editora UFRJ. Rio de Janeiro, 1993.

¹ FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. CASA DE OSWALDO CRUZ. **A ciência a caminho da roça: imagens das expedições científicas do Instituto Oswaldo Cruz no interior do Brasil entre 1911 e 1913**. Rio de Janeiro, 1991.

¹ GILBERTO HOCHMAN. **Logo ali, no final da avenida: Os sertões redefinidos pelo movimento sanitário da Primeira República**. História, Ciências, Saúde - Manguinhos, vol.5 suppl.0. Rio de Janeiro, 1998.

¹ GILBERTO HOCHMAN. **Reformas, instituições e políticas de saúde no Brasil (1930-1945)**. Educar, Curitiba, n. 25, p. 127-141, 2005. Editora UFPR

¹ BICHAT DE ALMEIDA RODRIGUES, AMARO LUIZ ALVES. **Evolução institucional da saúde pública brasileira**. In: Fundamentos da Administração Sanitária. Ministério da Saúde. Brasília, 1977.

¹ MIGUEL AIUB HIJJAR, GERMANO GERHARDT et al. **Retrospecto do controle da tuberculose no Brasil**. Revista de Saúde Pública 2007; 41(Supl. 1):50-58.

¹ HELBIO FERNANDES MORAES. **SUCAM: sua origem, sua história**. Primeiro volume, segunda edição. Brasília, 1990.

¹ ILANA LÖWY. **Representação e intervenção em saúde pública: vírus, mosquitos e especialistas da Fundação Rockefeller no Brasil**. História, Ciências, Saúde - Manguinhos. vol.5 no.3. Rio de Janeiro Nov. 1998/Febr. 1999.

- ¹ LINA RODRIGUES DE FARIA. **O Instituto de Higiene: contribuição à história da ciência e da administração à saúde em São Paulo.** PHYSIS: Revista de Saúde Coletiva, 9(1): 175-208. Rio de Janeiro, 1999.
- ¹ ANDRÉ LUIZ VIEIRA DE CAMPOS. **Políticas internacionais na Era Vargas: o Serviço Especial de Saúde Pública, 1942-1960.** Editora FIOCRUZ. Rio de Janeiro, 2006.
- ¹ N.C DE BRITO BASTOS. **SESP/FSESP: Evolução histórica, 1942-1991.** 2ª edição, 1995. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde.
- ¹ NÍSIA TRINDADE LIMA. **O Brasil e a Organização Pan-Americana da Saúde: uma história em três dimensões.** In: Caminhos da saúde pública no Brasil. Editora Fiocruz. Rio de Janeiro, 2002.
- ¹ MARIA ALICE ROSA RIBEIRO. **Lições Para A História das Ciências no Brasil: Instituto Pasteur de São Paulo.** História, Ciências, Saúde - Manguinhos, III (3):467-484, Nov. 1996-Feb. 1997.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento Nacional da Criança. **Normas de vacinação.** Rio de Janeiro, 1967.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento Nacional da Criança. **Normas para vacinação.** 3ª Edição. Rio de Janeiro, 1969.
- ¹ EMERSON FERREIRA. **Vacinação em massa contra a poliomielite, com vacina trivalente de virus vivos atenuados.** Jornal de Pediatria, Vol. 27 Fascículo 3, 1962.
- ¹ FENNER F, HENDERSON DA, ARITA I et al. **The programme in Brazil.** In: **Smallpox and its eradication, Chapter 12 South America.** World Health Organization; Geneva, 1988, p. 600-625.
- ¹ HENDERSON DA. **The Brazilian program – a regrettable saga.** In: **Smallpox – the death of a disease: the inside story of eradicating a worldwide killer.** Prometheus Books; New York, 2009, p.110-118.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Plano Nacional de Controle da Poliomielite.** Mimeo, 12 páginas. Rio de Janeiro, 1971.
- ¹ BRITO BASTOS, NC et al. **Programa antipoliomielítico en el Brasil: estudio de niveles de inmunidad.** Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. Vol LXXV (Julio-Diciembre), 1973. Washington DC.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política Nacional de Saúde.** Rio de Janeiro, 1973.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Programa Nacional de Imunizações.** Rio de Janeiro, 1973.
- ¹ BRASIL. **Lei nº 6.259,** de 30/10/1975
- ¹ FUNDAÇÃO SESP. **Vigilância da poliomielite no Brasil: nota preliminar.** Boletim Epidemiológico, Vol (Ano) VIII Nº 23, 1976. Rio de Janeiro.
- ¹ FUNDAÇÃO SESP. **Poliomielite no Brasil em 1975 e 1976.** Boletim Epidemiológico, Vol (Ano) IX Nº 41 e 42, 1977. Rio de Janeiro.
- ¹ FUNDAÇÃO SESP. **Vigilância epidemiológica da poliomielite no Brasil, 1975-1980.** Boletim Epidemiológico Vol (Ano) XIV Nº 13, 1982. Rio de Janeiro.
- ¹ ALBERT SABIN. **Oral poliomyelitis vaccine: achievements and problems in worldwide use.** Bulletin of the International Pediatric Association. Vol 2, Nº 2, April 1977. Pg. 6-17.

- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Ação de controle da poliomielite.** Folheto de 25 páginas. Brasília, 1981.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. SNABS. **Bases técnicas para programa de controle da poliomielite.** Brasília, 1982.
- ¹ FUNDAÇÃO SESP. **Os laboratórios de diagnóstico da poliomielite.** Boletim Epidemiológico Vol (Ano) XIII Nº 20 e 21, 1981. Rio de Janeiro.
- ¹ MOZART DE ABREU E LIMA. **A saúde entre o Estado e a Sociedade.** Entrevista concedida a História, Ciências e Saúde. Volume 10, Suplemento 2. Fiocruz, 2003.
- ¹ JOÃO B. RISI JR. **Controle da poliomielite no Brasil.** A Saúde no Brasil 1 (1) jan-mar 1983. Pg 6-17. Ministério da Saúde. Brasília.
- ¹ JOÃO B. RISI JR. **The control of poliomyelitis in Brazil.** Reviews of Infectious Diseases, Vol 6, supplement 2, May-June 1984. Pg S400-S403.
- ¹ PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **The impact of the Expanded Programme on Immunization and the Polio Eradication Initiative on health systems in the Americas. Final report of the Taylor Commission.** Washington (DC), 1995.
- ¹ PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Polio eradication field guide.** Second Edition. Technical Paper nº 40. Washington D.C. 1994.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA NACIONAL DE AÇÕES BÁSICAS DE SAÚDE. **Poliomielite: plano de erradicação da transmissão no Brasil.** Brasília, 1986.
- ¹ PATRIARCA P., LAENDER F. et al. **Randomised trial of alternative formulations of oral poliovaccine in Brazil.** Lancet; 1(8583): 429-33, 1988 Feb 27.
- ¹ CRISTINA ROCHA. **Comunicação social e vacinação.** História, Ciências, Saúde – Manguinhos. Vol. 10 (Suplemento 2). 795-806, 2003.
- ¹ SCHATZMAYR, HERMAN. **Erradicação da poliomielite no Brasil: a contribuição da Fundação Oswaldo Cruz.** História, Ciências, Saúde – Manguinhos vol9(1), pp11-24.
- ¹ ORGANIZACIÓN PAN-AMERICANA DE LA SALUD. **Plan de acción para la certificación de la erradicación del poliovirus salvaje en las Américas.** Washington DC, julio 1993.
- ¹ CAMPOS, A.L, NASCIMENTO, D.R, MARANHÃO, M. **A história da poliomielite no Brasil e seu controle por imunização.** História, Ciências, Saúde – Manguinhos vol 10 (suplemento 2), 573-600, 2003.
- ¹ TEMPORÃO, J.G. **O Programa Nacional de Imunizações (PNI): origens e desenvolvimento.** História, Ciências, Saúde – Manguinhos. Vol. 10 (Suplemento 2). 601-17, 2003.
- ¹ HAMPTON, L. **Albert Sabin and the Coalition to Eliminate Polio from the Americas.** American Journal of Public Health. January 2009, Vol 99, No. 1.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº 163/GM de 15 de julho de 1981.**
- ¹ BERMUDEZ, J.A. **Apoio ao desenvolvimento tecnológico para capacitação nacional na produção de imunobiológicos.** Relatório de 14 páginas, acrescidas de quatro anexos. 1984.

- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. SNABS. **Programa de Auto-Suficiência Nacional em Imunobiológicos**. 15 páginas. Brasília, fevereiro de 1986.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. SNABS. **Ação do Ministério da Saúde no controle dos acidentes por animais peçonhentos**. 21 páginas. Brasília, setembro de 1988.
- ¹ PUFFER R., SERRANO C. **Características de la mortalidad en la niñez**. Organización Panamericana de la Salud. Publicación científica 262, 1973.
- ¹ RISI JR, JB. Risi JB. **Control of measles in Brazil**. Reviews of Infectious Diseases 1983; 5:583–7.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. SNABS. **Sarampo no Brasil em 1988**. Boletim Nacional de epidemiologia, Ano I nº6. Brasília, junho de 1988.
- ¹ D. REBECCA PREVOTS et al. **Interruption of measles transmission in Brazil, 2000–2001**. The Journal of Infectious Diseases 2003; 187(Suppl 1):S111–20.
- ¹ MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Relatório da verificação dos critérios de eliminação da transmissão dos vírus endêmicos do sarampo e rubéola e da rubéola congênita (SRC) no Brasil**. Brasília, setembro de 2010.

9. Desenho de vacinas para países em desenvolvimento – Debra Kristensen

The power of Vaccines to eradicate diseases: Smallpox, Polio, Measles and Rubella

Ciro A. de Quadros, MD, MPH

Director, International Programs - Albert B. Sabin Vaccine Institute - Washington, D.C., USA

Over the last quarter century, immunization has been the greatest contributor to improving health in the world than any other medical intervention. And this is most notable in the Region of the Americas.

The Americas was the first region to eradicate smallpox, which was then globally eradicated, with the last case in Somalia in 1977. This experience demonstrated that diseases can be eradicated, provided they meet the preconditions for it: a. transmission is only from person to person, there is no animal reservoir for the infectious agent; b. there are effective tools to interrupt transmission from one individual to another; c. disease is perceived as a major public health problem; d. there is sufficient societal interest, translated into political will and resources.

Building on the lessons of smallpox eradication, the Americas was also the first to eradicate poliomyelitis, with the last indigenous case detected in Peru in 1991. The strategies developed in the Americas were then applied in the rest of the world and global eradication is in sight.

These successes led the Pan American Health Organization (PAHO) to set the goal of eradicating measles by the year 2000. More than three years have elapsed since the last indigenous case of measles was detected in Venezuela in September 2002. PAHO has now set the target of eradicating rubella from the Americas by 2010, and countries are now implementing strategies that will certainly achieve this goal.

Even with a new paradigm, in which eradication of diseases is not followed by discontinuation of the intervention eradication of diseases is still a good investment, avoiding expensive epidemics. Most importantly, it will prevent disabilities and save the lives of thousands of children that die every year from vaccine preventable diseases. These children can then grow healthy contribute to the economy of their countries.

While the first half of the 20th century witnessed the development of several vaccines, its second half experienced a quantum leap in technologies allowing for research and development of vaccines for over 30 diseases, including some that were thought to be chronic, degenerative, but today are known to be the result of infectious diseases. This enormous progress in research and development in the field of vaccines makes us believe that the 21st century will be the “Century of Vaccines” and will certainly lead to future eradication of other vaccine preventable diseases.

10. Plataformas tecnológicas e produção de vacinas – Vidadi Yusibov

Plant-based High-Performance Production System

Vidadi Yusibov

Fraunhofer USA, Center for Molecular Biotechnology

Newark, USA

Cell substrates are a key component of successful vaccine development and throughout the last several decades there has been a dramatic increase in the types of cells available for vaccine production. Nevertheless, there is a continued demand for new and innovative approaches for vaccine development and manufacturing. Recent developments involving cells of insect and plant origin are attracting considerable scientific interest.

The system of choice ideally would produce the safest and most active material at the lowest cost. No one system will likely be ideal for all proteins. Practical and regulatory considerations for each target will determine the choice of production system. We have developed an accelerated production platform that is applicable for expressing a broad range of monomeric and multimeric proteins, including therapeutic enzymes, monoclonal antibodies and vaccine antigens from pathogens such as influenza, Yellow fever, malaria and anthrax. This is accomplished by using launch vectors that enable the use of non-genetically modified plants for target production. The main advantages of using plant systems for the production of vaccines are their independence from pathogenic viruses as well as their cost and time efficiency.

We have demonstrated the immunogenicity and protective efficacy of recombinant HA from A/Indonesia/5/2005 produced in *Nicotiana benthamiana* plants. This plant-produced HA induced serum hemagglutination inhibition and virus neutralizing antibody titers in mice. Furthermore, immunization of ferrets with this plant-produced HA provided protection against homologous virus challenge. These and other results suggest the utility of our plant-expression system for recombinant vaccine production.

11. Programa de inovação tecnológica e produção de vacinas de Bio-Manguinhos - Ellen Jessouroun e Wilson Bucker Aguiar Jr.

I – Introdução

Embora o acontecimento da inovação tecnológica dependa fundamentalmente de embasamento científico, é necessário ainda existir uma política direcionada a esta atividade, no tocante aos procedimentos, processos e parâmetros que são específicos e diferenciados daqueles relacionados à pesquisa puramente científica (Homma, 2003), pois, é crescente o reconhecimento de que a inovação envolve não somente esforços de P&D, mas, um amplo espectro de atividades que possam fortalecer a capacidade organizacional de desenvolver inovações, bem como adotar inovações, passando por alterações organizacionais, treinamento, marketing e projetos (OECD 2010)

O Brasil é caracterizado como um país de industrialização tardia, tendo sido tardios, por conseguinte, as iniciativas de investimentos em pesquisa e desenvolvimento. O passo fundamental para o fortalecimento das atividades científicas no país ocorreu somente em 15 de janeiro de 1951, com a criação do Conselho Nacional de Pesquisa, o qual foi transformado, 25 anos depois, no Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico (CNPq) (Homma, 2003).

Na atualidade, reconhece-se a limitada capacidade do país em se transformar os avanços do conhecimento em inovações que traduzam efetivas conquistas econômicas e sociais. Desta forma, não basta promover o desenvolvimento científico, é necessário difundir este conhecimento e transformá-lo em fonte efetiva de desenvolvimento e inovação tecnológica para se materializar em bens e serviços para sociedade (Homma, 2003).

No Brasil, a Política Nacional de CT&I preconiza o estabelecimento de uma estrutura que integre os diferentes níveis e setores governamentais, com a geração de arranjos entre os setores da vida nacional e a modificação da relação entre os segmentos público e privado, de tal forma a se alcançar sistematicamente a excelência de CT&I, contribuindo para a inserção mais qualificada do país no cenário internacional e para maiores benefícios para a sociedade brasileira (Brasil MCT, 2002).

Para as empresas altamente intensivas em tecnologia, existe a necessidade de se investir continuamente em desenvolvimento tecnológico para o lançamento de novos produtos. Para isto, as empresas utilizam diferentes estratégias como a pesquisa e desenvolvimento próprios, aquisições e fusões, ou ainda transferências de tecnologias (Barbosa, 2009).

A indústria de vacinas atua em um contexto produtivo, tecnológico de mercado e institucional que engloba um conjunto amplo de atores sociais, envolvendo empresas, instituições de pesquisa, agências de fomento, organizações da sociedade civil e uma

forte participação do estado nas atividades de promoção e regulação (Gadelha e Romero, 2007).

No Brasil, o mercado de vacinas foi constituído por motivações ligadas à saúde pública. O governo coordena a aquisição e a distribuição gratuita de vacinas estabelecidas no calendário de vacinações, através do Programa Nacional de Imunizações. Este mercado público, hoje é atendido preferencialmente por empresas públicas, as quais, por motivo de economicidade e estratégia de atendimento ao interesse público, receberam do governo investimentos para ampliar sua capacidade de inovação tecnológica (Barbosa, 2009).

Com a política do governo brasileiro de oferecer de forma universal o acesso à vacinação, conseguiu-se a eliminação de importantes como a poliomielite, o sarampo e a rubéola, tornando o Programa Nacional de Imunizações o mais efetivo entre os países emergentes e comparável ao de países desenvolvidos (Homma, 2011).

II – O Programa de Inovação Tecnológica no Brasil

O Programa de Inovação Tecnológica no Brasil faz parte da Política Nacional de CT&I que objetiva fundamentalmente alcançar uma configuração para a Ciência Tecnologia e Inovação consolidada em objetivos a serem perseguidos através de diretrizes estratégicas que direcionarão o alcance de uma configuração mais propícia à produção e absorção de inovações.

Os objetivos da Política Nacional de Ciência e Tecnologia são sintetizados conforme descrito abaixo:

- 1 – Criar um ambiente favorável à inovação no país.
- 2 – Ampliar a capacidade de inovação e expandir a base científica e tecnológica nacional.
- 3 – Consolidar, aperfeiçoar e modernizar o aparato institucional de Ciência Tecnologia e Inovação.
- 4 – Integrar todas as regiões ao esforço nacional de capacitação para Ciência Tecnologia e Inovação.
- 5 – Desenvolver uma base ampla de apoio e envolvimento da sociedade da Política Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação.
- 6 – Transformar CT&I em elemento estratégico da política de desenvolvimento nacional.

Ciência Tecnologia e Inovação desempenham papel relevante em praticamente todas as atividades da sociedade. Portanto, Esta atividade deve ser incorporada como elemento estratégico na política nacional de desenvolvimento do país.

Com base nestes objetivos, hoje o Ministério da Ciência e Tecnologia estabelece como ações estratégicas de CT&I as seguintes:

- I - Expansão e Consolidação do Sistema Nacional de CT&I
- II – Promoção da Inovação Tecnológica nas Empresas
- III – Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Áreas Estratégicas
- IV- Ciência tecnologia e Inovação para o Desenvolvimento Social

Dentre estas, destaca-se a ação de CT&I número III – Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Áreas Estratégicas, que apresenta como linha de ação, dentre outras, a prioridade número 9 – Insumos para a Saúde.

A linha de ação prioritária de Insumos para a Saúde tem por objetivo fomentar o desenvolvimento de produtos e processos em áreas estratégicas para o Ministério da Saúde, com vistas à expansão das atividades da indústria brasileira, gerando maior competitividade, maior participação no comércio exterior e aceleração do crescimento econômico com a geração de novos postos de trabalho. Nesta linha de ação prioritária, estão contidos os seguintes programas:

- 9.1 – Fármacos e Medicamentos
- 9.2 – Produtos Médicos e Biomateriais
- 9.3 – Kits Diagnósticos
- 9.4 – Hemoderivados
- 9.5 – Vacinas

O programa de ações prioritárias de CT&I para Vacinas tem como objetivos estimular o desenvolvimento tecnológico e a produção nacional de vacinas para uso humano, promovendo a agregação de novas tecnologias e a ampliação da capacidade de produção nacional para buscar a diminuição da dependência de importações, o incremento da capacidade científica nacional e o desenvolvimento de novas tecnologias, em sintonia com as bases estabelecidas para vacinas na Política de Desenvolvimento da Biotecnologia e na Política Industrial e Tecnológica e de Comércio Exterior (Portal do MCT, 2011).

Através do estabelecimento deste objetivo, verifica-se o reconhecimento da necessidade de ampliação da capacidade de desenvolvimento e produção nacionais como estratégia governamental que vem sendo crescentemente secundada por ações de investimentos em DT e ainda, em virtude do reconhecimento da industrialização tardia de nosso país, ações que visam reduzir este atraso através de aquisição de tecnologias necessárias à produção destes bens.

Como ações voltadas para a elevação da competitividade em áreas tecnológicas que apresentam impactos relevantes sobre o desenvolvimento econômico do Brasil, destaca-se o Fórum de Competitividade em Biotecnologia, criado em 2004 pelo Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio que apresenta participação relevante da sociedade na construção de temas que alcançam o governo federal através do Comitê

Nacional de Biotecnologia e teve a Política Nacional de Biotecnologia submetida a este fórum em 2008 e vem sendo implementada desde então.

Como política voltada para o fomento à inovação na área de saúde, destaca-se o Complexo Industrial da Saúde, que visa reduzir a dependência externa do Brasil de insumos e equipamentos para uso médico. Dentre as medidas desta política, ressalta-se o investimento nos produtores públicos de vacinas que visa dotar o país de capacitação tecnológica e competitiva em novos imunobiológicos com destaque para as vacinas contra pneumococos, meningites, dupla viral, heptavalente, rotavírus, gripe e dengue. Esta medida se reflete na meta de atender 80% das necessidades do Programa Nacional de Imunizações em 2011, visando alcançar a completa auto-suficiência, envolvendo o ciclo tecnológico das vacinas do PNI e geração de empregos diretos e indiretos (Ministério da Saúde, 2011).

III – A Produção de Vacinas No Brasil

No Brasil, o mercado de vacinas foi constituído por motivações ligadas à saúde pública e a história dos produtores nacionais está relacionada com desdobramentos de políticas governamentais, adotadas a partir da década de 70 (Barbosa, 2009).

O Brasil se apresenta como um mercado público cujas aquisições, de produtores locais e empresas transnacionais, estão na ordem de 750 milhões de dólares. A presença dos produtores públicos locais, como suporte da política de imunizações, faz com que esses necessitem de capacitação tecnológica continuada para ampliar seu portfolio de produtos. Tal necessidade, a curto prazo, fez emergir alianças estratégicas com algumas empresas transnacionais visando a incorporação de tecnologia de produção de algumas vacinas já existentes no mercado (Barbosa, 2009).

O país importou em 2008, US\$ 321,8 milhões em vacinas e soros e exportou US\$ 27,9 milhões. Com os investimentos no CIS a ideia é reduzir esse déficit na balança comercial. Hoje, o país já domina a produção de 15 tipos de vacinas (veja abaixo) e o Ministério da Saúde proporciona acesso gratuito e universal a 90% das vacinas disponíveis no mercado (Ministério da Saúde, 2011).

De 2000 a 2008, o Ministério da Saúde investiu um montante de R\$ 220 milhões para melhorar a capacidade de produção do país, produzir novas tecnologias e reformar laboratórios. E nos próximos quatro anos serão mais R\$ 400 milhões em desenvolvimento de tecnologias de vacinas (Ministério da Saúde, 2011).

Os principais produtores brasileiros são públicos. O Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos - Bio-Manguinhos, da Fundação Oswaldo Cruz é vinculado ao Ministério da Saúde e o Instituto Butantan, ligado ao Governo do Estado de São Paulo. Esses Institutos possuem linhas complementares de vacinas utilizadas no calendário básico de vacinação e alguns de seus produtos inovadores são frutos de acordos de transferência de tecnologia com empresas transnacionais, embora possuam grupos

estruturados de P&D. Atualmente, as vacinas produzidas no país estão vinculadas aos institutos públicos da seguinte forma (Ministério da Saúde, 2011):

1. Vacina antipoliomielite oral – Bio-Manguinhos
2. Tetravalente bacteriana (para difteria, tétano, coqueluche e meningite causada por *Haemophilus influenzae* tipo B) – Bio-Manguinhos – Butantan
3. BCG (tuberculose) – Fundação Ataufo de Paiva
4. Hepatite B – Butantan
5. Tríplice viral (sarampo, rubéola e caxumba) – Bio-Manguinhos
6. Vacina oral rotavírus humano (diarréia) – Bio-Manguinhos
7. Febre amarela – Bio-Manguinhos
8. DTP (difteria, tétano, coqueluche) – Butantan
9. Dupla Adulto (difteria e tétano) - Butantan
10. Dupla infantil (difteria e tétano) – Butantan
11. *Haemophilus influenzae* tipo B – Bio-Manguinhos
12. Influenza – Butantan
13. Raiva em cultivo de célula vero - Butantan
14. Raiva canina - Instituto de Tecnologia do Paraná (Tecpar)
15. Meningite A/C – Bio-Manguinhos

Bio-Manguinhos é o maior produtor de vacinas da América Latina e o principal fornecedor da vacina contra a febre amarela para as agências das nações unidas. Em 2010, produziu mais de 100 milhões de doses de vacinas e forneceu 57% do quantitativo adquirido pelo PNI dos produtores nacionais. O faturamento do Instituto neste ano foi equivalente a mais de R\$ 800 milhões, somando o fornecimento de vacinas, biofármacos e reativos para diagnóstico. Esse desempenho se deve à introdução de novas vacinas e biofármacos de mais alto preço, produzidos através de acordos de transferência de tecnologia (adaptado de Barbosa, 2009).

IV- A Produção de Vacinas em Bio-Manguinhos - Histórico da Inovação Tecnológica (extraído de Barbosa, 2009)

Visando atender mais rapidamente às demandas geradas pelo quadro epidemiológico do país, através das políticas adotadas pelo PNI, que tem como política introduzir novas vacinas desde que seja possível a incorporação da tecnologia de produção dessas pelos Institutos produtores públicos nacionais, Bio-Manguinhos fez acordos de transferência de tecnologia para a produção de algumas vacinas que já existiam no mercado internacional.

Esses acordos foram necessários, visto que o desenvolvimento autóctone de uma vacina dura de 10 a 15 anos e o Instituto, com apenas 35 anos de existência e limitadas capacidade de desenvolvimento autóctone, não tinha condições de desenvolver esses produtos para atender às demandas urgentes.

A partir da criação do PNI, os acordos se tornaram possíveis devido ao apoio governamental, que garante a aquisição desses produtos durante o período de vigência da transferência de tecnologia, ou seja, é garantida uma reserva de mercado para as empresas que transferem a tecnologia.

Nos anos 70 aconteceu o primeiro processo de transferência de tecnologia, após uma grande epidemia de meningite meningocócica. Bio-Manguinhos produziu mais de 60 milhões de doses dessa vacina para o PNI e a pré-qualificação pela Organização Mundial de Saúde (OMS) vem possibilitando a exportação desse produto, através das agências das Nações Unidas, para países do sub Saara africano, onde a doença é endêmica.

O sarampo e a poliomielite foram erradicados no Brasil com a produção local de vacinas, fruto de transferências de tecnologia ocorridas na década de 80.

A introdução da vacina conjugada contra *Haemophilus influenzae* tipo b – Hib, cuja produção é altamente complexa envolvendo processos biológicos e de química fina, ocorreu no final dos anos 90.

Em 2003, o calendário de vacinação incorporou a vacina tríplice viral, contra sarampo, caxumba e rubéola. Por exigência do PNI, essa vacina deveria conter um determinado vírus menos reatogênico para a caxumba, que somente duas transnacionais o possuíam na composição vacinal.

Atualmente, na área de vacinas, outros contratos de transferência de tecnologia foram assinados: a vacina contra Rotavírus, produzida por um vírus geneticamente modificado, foi introduzida no calendário de vacinação nacional em 2006 pelo PNI, incentivando o Instituto a assinar acordo para absorver essa tecnologia, ocorrido no início de 2008.

Essas transferências de tecnologia permitiram que Bio-Manguinhos se constituísse na base tecnológica do Estado brasileiro para as políticas de saúde na área biotecnológica. Além disso, utilizando as mesmas plataformas tecnológicas absorvidas pode desenvolver internamente novos produtos necessários aos programas nacionais de saúde.

Assim, o Instituto segue a trajetória descrita na literatura em que as empresas de países de industrialização tardia iniciam suas atividades a partir de tecnologia importada e com esforços de aprendizagem desenvolvem sua capacidade tecnológica.

V- A Produção de Vacinas em Bio-Manguinhos - A Situação Atual

Bio-Manguinhos é o principal fornecedor de vacinas do Ministério da Saúde e sua produção é feita a partir da previsão anual do Programa Nacional de Imunizações (PNI). A Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) coordena o PNI e define como serão as

estratégias de utilização de imunobiológicos segundo a previsão da taxa de natalidade brasileira do respectivo ano e a situação epidemiológica do país. As vacinas demandadas pelo PNI são produzidas em Bio-Manguinhos (Bio-Manguinhos, 2011).

Em decorrência da pré-qualificação da vacina febre amarela pela Organização Mundial da Saúde, obtida em 2001, Bio-Manguinhos detém o direito de fornecer esse imunobiológico para as Agências das Nações Unidas, desde que cumprido o convênio com o Ministério da Saúde. Além disso, o excedente de produção desta vacina pode ser exportado também para governos e instituições públicas internacionais. Mais de 76,8 milhões de doses da vacina febre amarela foram exportadas para agências das Nações Unidas, entre 2005 e 2009. Com a exportação deste produto para mais de 70 países, Bio-Manguinhos consolida-se, num curto espaço de tempo, como o maior fornecedor de vacinas febre amarela para as Américas Latina e Central, e um dos maiores em todo o mundo, contribuindo com os esforços para a melhoria das condições de saúde em todo o globo (Bio-Manguinhos, 2011).

O Instituto também é exportador da vacina meningocócica AC, que protege contra meningite sorogrupos A e C. De 2007, ano em que começou a exportar essa vacina, até 2009 aproximadamente 8,5 milhões de doses foram enviadas ao exterior.

Atualmente, Bio-Manguinhos produz as seguintes vacinas que fazem parte do Programa Nacional de Imunizações (Bio-Manguinhos, 2011):

1 – DTP e *Haemophilus influenzae* tipo B (Hib)

A vacina combinada de DTP e Hib é também chamada tetravalente, já que protege, ao mesmo tempo, contra difteria, tétano, pertussis (coqueluche) e infecções graves pelo *Haemophilus influenzae* tipo b. Bio-Manguinhos iniciou a produção desse imunizante em 2001, em parceria com o Instituto Butantan, sendo a fração Hib produzida em Bio-Manguinhos e as frações DTP, no Instituto Butantan.

2 – Febre Amarela

Bio-Manguinhos é reconhecido internacionalmente como fabricante da vacina febre amarela (antiamarílica). Desde 1937, as preparações vacinais são obtidas em seus laboratórios a partir da cepa atenuada 17D do vírus da Febre Amarela, cultivada em ovos embrionados de galinha livres de agentes patogênicos, de acordo com as normas estabelecidas pela Organização Mundial da Saúde.

3 – *Haemophilus influenzae* tipo B (Hib)

A vacina conjugada de Hib protege contra infecções graves causadas pelo *Haemophilus influenzae* tipo b, como meningite e pneumonia. Bio-Manguinhos iniciou o fornecimento desse imunizante em 1999, como fruto do acordo de transferência de tecnologia com a Glaxo Smithkline que resultou na completa nacionalização do processo de produção em 2004.

4 – Meningite Meningocócica A e C

Existem vários sorogrupos da bactéria *Neisseria meningitidis* ou meningococo: A, B, C, Y e W-135 são os mais comuns. A prevalência de um ou outro sorotipo está associada à região geográfica. Bio-Manguinhos vem produzindo a vacina meningocócica AC desde a década de 1970, graças a um acordo de cooperação técnica com o Instituto Mérieux, da França. Conforme as recomendações do Programa Nacional de Imunizações, a vacina deve ser administrada em dose única (a mesma para adultos e crianças). Poucos dias depois da aplicação, ocorre a efetiva imunização, que se mantém em níveis adequados por, no máximo, três anos. A vacina polissacarídica deve ser aplicada em “massa” e não é eficaz em crianças com menos de dois anos. Por este motivo, não é encontrada na rotina dos postos de vacinação.

5 – Tríplice viral

Em outubro de 2003, Bio-Manguinhos e a empresa GlaxoSmithKline assinaram um acordo de transferência de tecnologia da vacina sarampo, caxumba e rubéola (chamada Tríplice Viral), até então o único imunobiológico presente no calendário básico de vacinação ainda importado pelo Ministério da Saúde. A partir de 2004, foi iniciada a assimilação da tecnologia e a produção da vacina. Ao final do processo de transferência de tecnologia, a vacina será totalmente produzida no Brasil, demonstrando o papel crucial do Instituto em relação à autossuficiência nacional neste setor.

6 – Poliomielite

A vacina utilizada no país é produzida por Bio-Manguinhos a partir do concentrado viral monovalente (bulk) importado, segundo as normas da Organização Mundial de Saúde (OMS). São utilizadas as cepas de vírus atenuados Sabin tipos I, II e III, propagadas em cultivo de célula diplóide humana (MRC5). A vacina tem especial importância para o Programa Nacional de Imunizações no que se refere à erradicação da poliomielite.

A doença já foi de alta incidência no país, deixando centenas de deficientes físicos por ano. Hoje, encontra-se erradicada no Brasil em virtude das ações de imunização e vigilância epidemiológica desenvolvidas de 1980 até 1994, quando o país recebeu o "Certificado de Erradicação da Transmissão Autóctone do Poliovírus Selvagem nas Américas". A partir de então, há o compromisso de manter altas coberturas vacinais, de forma homogênea, além de uma vigilância epidemiológica ativa capaz de identificar imediatamente a reintrodução do Poliovírus, e adotar medidas de controle capazes de impedir a sua disseminação.

7 - Novas Vacinas em Introdução na Produção

Para atender às necessidades da saúde da população brasileira, Bio-Manguinhos investe no desenvolvimento e produção de vacinas com qualidade assegurada. Bio-Manguinhos é parte integrante do sistema brasileiro de ciência, tecnologia e inovação em saúde, que envolve o Ministério da Saúde, unidades da Fiocruz, universidades, institutos de pesquisa, laboratórios públicos e privados e outros Ministérios.

Em 2008, o instituto celebrou com a Glaxo Smithkline o acordo de transferência de tecnologia para produção da vacina contra Rotavírus, a partir do cultivo de um vírus geneticamente modificado, que permite a obtenção de uma vacina com menor reatogenicidade.

O papel estratégico do Instituto nesse sistema caracteriza-se pelo constante investimento na introdução de novos produtos por desenvolvimento interno e alianças estratégicas para atender às demandas de saúde pública.

VI – Tendências para Inovação em Vacinas

Podem ser apontadas como tendências no mercado de vacinas as seguintes:

- Vacinas virais produzidas a partir do cultivo de células in-vitro
- Vacinas bacterianas protéicas e polissacarídicas conjugadas
- Formulações combinadas com múltiplos antígenos
- Formulações com adjuvantes que amplificam o poder imunizante do antígeno, reduzindo seu conteúdo por dose.
- Apresentações em menor número de doses, preferencialmente monodose, com abandono das apresentações multi-doses.

Referências Bibliográficas

Barbosa, A. P. R. - A Formação de Competências para Inovar através de Processos de Transferência de Tecnologia: um estudo de caso. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2009.

Bell, M.; Pavitt, K. Technological accumulation and industrial growth: contrast between developed and developing countries. *Industrial and Corporate Change*, v.2, n.2, p. 157-210, 1993.

Bio-Manguinhos – Portal do Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos - <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/vacinas/> - Acessado em 18/04/2011.

Bomtempo, J.V. e Baetas, R. B. - Desenvolvimento de Vacinas no Brasil: uma análise da potencialidade da P&D e das estratégias de inovação. In: Buss, P. M.; Temporão, J. C.; Carvalheiro, J. R.(org.). *Vacinas, Soros e Imunizações no Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2005. p. 215-44.

Brasil, Ministério da Ciência e Tecnologia – Livro Branco Ciência Tecnologia e Inovação. CT Brasil, Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília 2002.

Figueiredo, P.N.; Ariffin, N. - Internationalization of innovative capabilities. Counter-evidence from the electronics industry in Malaysia and Brazil. *Anais do XXVII Enanpad*, Atibaia/SP, p. 1-16, 2003.

Gadelha, C.A.G.; Romero, C. - Complexo Industrial da Saúde e Inovação: Desafios para a competitividade nacional em vacinas e o papel da Fiocruz. In: Azevedo N, Gadelha CAG, Ponte CF, Trindade C, Hamilton W. (Org.) - Inovação Em Saúde: Dilemas E Desafios De Uma Instituição Pública. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2007. p. 317-329

Gadelha, C.A.G. - O complexo industrial da saúde: desafios para uma política de inovação e desenvolvimento. In: BUSS, P; TEMPORÇÃO, J. e CARVALHEIRO, J. (Orgs). Vacinas, Soros e Imunizações no Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2005.

Homma, A.; Martins, R. M.; Leal, M. L. F.; Freire, M. S.; Couto, A. R. – Atualização em Vacinas, Imunizações e Inovação Tecnológica. Ciência e Saúde Coletiva, 16(2): 445-458, 2011.

Homma, A.; Martins, R. M.; Jessouroun, E.; Oliva, O. – Desenvolvimento Tecnológico: Elo Deficiente na Inovação Tecnológica de Vacinas no Brasil. História, Ciências, Saúde – Manguinhos vol. 10 (suplemento 2):671-696, 2003.

Katz, J. - Domestic technological innovations and dynamics comparative advantages: further reflections on comparative case-study program. In: ROSENBERG, N.; FISCHTAK, C. (Org.). International Technology Transfer Concepts, Measures, and Comparisons. Nova York: Praeger Publishers, 1985.

Kim, L. - Imitation to Innovation – the dynamics of Korea's technological. EUA: Harvard Business School, 1997.

Lall, S. Technological learning in the third world: some implication of technological exports. In: STUART, F. & JAMES, J. (eds.). The Economics of new Technology in Developing Countries. London, Frances Press, 1992.

Ministério da Ciência e Tecnologia – <http://www.mct.gov.br/> - Portal acessado em 21/03/2011.

Ministério da Saúde – Complexo industrial da Saúde – a partir do portal: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/Gestor/area.cfm?id_area=1609 – Acessado em 18/04/2011

IV. REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

**12. As novas tecnologias de diagnósticos e vitórias contra doenças – Carlos Morel
(ver apresentação anexa – pág. 205)**

**13. Tendências mercadológicas em reativos para diagnóstico laboratorial de
doenças importantes para a Saúde Pública – Brendan O'Farrell**

Brendan O' Farrell, Ph.D.
President, Diagnostic Consulting Network, Inc.
Carlsbad, CA, EUA

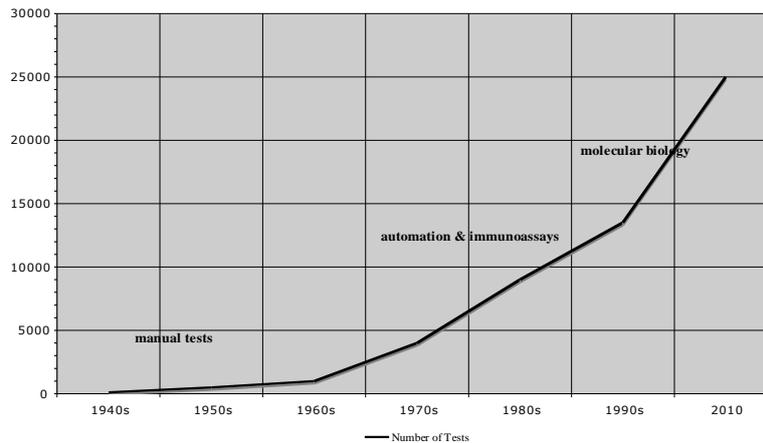
Presentation Overview

- Explosion of Test Capabilities
- IVD Industry Historic Data - 2000 to 2015
- Short overview of the status quo and trends in IVDs for infectious diseases
- Discussion on Major Testing Markets
 - Malaria
 - TB
 - HIV
 - STDs
 - HPV
- Neglected Diseases
 - Dengue
 - Chagas
- Funding for Infectious Disease Testing
- The Future

Introduction: Explosion of Test Capabilities

Explosion of Test Capabilities

EXPLOSION OF TEST CAPABILITIES
Stratcom, Montreal, QC



The In Vitro Diagnostics (IVD) industry is on an upswing. For the past 15 years the number of assays introduced has been growing at a remarkable rate. Until the 1970s lab medicine was comprised of some 500 tests performed manually with the aid of test tubes and a spectrophotometer and a microscope. The technology revolution of the 1970s saw the introduction of what were then considered highly sophisticated tests: radioimmunoassays, immunoelectrophoresis and clinical HPLC applications. Clinical diagnostics owes its growth to the expansion of these and other lab technologies and tests that are now generally considered part of the routine lab menu.

Then in the 1980s, the development of enzyme immunoassays and automation lead to a near doubling of the number of tests that could be performed in hospital labs. By the 1990s and 2000s developments in bioinformatics, molecular biology, proteomics, disease management research and the unraveling of the human genome further expanded the menu of tests available.

The lab segment that most benefited from these new technologies deals with immunoassays and molecular tests for infectious diseases. Unfortunately at this time many of the advances have not had much effect on the most urgent global infectious disease problems – in particular those of developing countries.

For example growth in molecular tests for infectious diseases is related to testing for hospital acquired infections, respiratory viruses, viral load testing for HIV and hepatitis and increased research in microorganism genotyping related to molecular variation. Many labs are beginning to transfer critical tests such as fungi, MRSA, VRE, and nosocomial infections from culture to molecular platforms. None of these are a pressing preoccupation for developing countries.

IVD Industry Historic Data - 2000 to 2015

Selected IVD Segments, World Product Sales, 200-2015
(\$ million)

Segment	2000 Sales	2005 Sales	2010 Sales	2015* Sales	CAGR, % 2000-2015
Infectious Disease Molecular	425	1300	2375	3755	16
Infectious Disease	1,785		4220	5,700	
Immunoassays		2050			8
Infectious Disease Rapid	330	360	525	1,050	8
Diabetes - self testing	3,600	5,900	8,200	9,440	7
Histology/Cytology	1,350	1,500	3,080	3,330	6
Microbiology (ID/AST)	1,700	1,800	2,180	3,835	6
Blood Group/Type	320	375	550	650	5
Hematology	1,300	1,400	2,390	2,600	5
Coagulation	700	800	1,115	1,285	4
Chemistry	6,535	6,870	6,415	7,075	1

* estimated

Source: StratCom, Montreal,
Quebec

Short overview of the status quo and trends in IVDs for infectious diseases

Automated molecular testing was launched with the commercialization of Roche Diagnostic's Amplicor chlamydia/gonorrhea test in 1992. This was the first time molecular testing was introduced to routine medical laboratories. Since then Roche's PCR has dominated the market for molecular tests and is the basis for some of the most successful infectious disease platforms and tests including Cepheid's GeneExpert system, Abbott's m2000 system, Prodesse's assays, and Qiagen's assays.

PCR is used in some 85% of molecular tests. Some competition does exist, however, including:

- bDNA Novartis, Siemens/Bayer
- TMA Gen-Probe
- LIPA Innogenetics
- NASBA bioMérieux
- SDA BD Diagnostics
- LAMP Eiken Chemical

Molecular Test Sales, Infectious Diseases, 2009-2014, \$ million

Test	2009	%	2014	%	CAGR
	Sales	Mkt	Sales	Mkt	
HAI	835	33	2,500	44	25
HIV	630	25	950	17	9
Hepatitis	550	21	850	15	9
GC/Chlamydia	350	14	450	8	5
Respiratory	100	4	125	2	5
Organism ID	50	2	750	13	72
Mycobacteria, TB	35	1	40	1	3
others	10	0	65	1	45
Total	2,560	100	5,730	100	17

Source: StratCom, Montreal, Canada

Respiratory = RSV, Strep A, FLU

HIV = all HIV diagnostics, genotyping and drug resistance

Hepatitis = all hepatitis diagnostics, genotyping and drug resistance

The world market for molecular infectious diseases tests is estimated at \$2,560 million in 2009 and with annual growth of 17% will reach \$5,730 million in 2014. Approximately 85% of this market is held in the U.S. and Europe. In 2009 approximately 60% (\$1,536 million) of the market is made up of the first wave of molecular infectious disease tests to come to market in the mid 1990s—gonorrhea, chlamydia, hepatitis and HIV testing.

The market leaders are Celera Diagnostics/Abbott Labs, Roche Diagnostics, Bayer Diagnostics, Gen-Probe Corp., and bioMérieux. Becton Dickinson and Prodesse/Gen-Probe lead the market for respiratory virus infections.

Lab-based infectious disease immunoassays have entered a mature growth phase and include tests for: TB, HIV, hepatitis, chlamydia, syphilis, gonorrhea, Strep A, Influenza, STDs, and TORCH. Growth in this segment comes primarily from sepsis testing, HIV and hepatitis, diseases that are on the increase globally. HIV, hepatitis B, respiratory infections and STDs share the top positions with **each** occupying about 12-19% of the test segment worth \$4,220 million in 2009. With 6% annual increase the world market for lab-based infectious disease immunoassays will reach \$5,700 million in 2014.

At the same time lab-based immunoassays for tests for important diseases such as Chagas, Dengue, Malaria, TB account for only 7% of the world market in 2009, \$300 million.

The largest portion of the market (87%) resides in North America, Western Europe and Japan. Emerging nations with stronger economies such as India, Latin America, and Taiwan contribute growth in general from continued expansion of the market for routine immunoassays.

All of the major IVD companies - Abbott Diagnostics, Roche Diagnostics, Siemens/Bayer/DPC, Beckman Coulter, Ortho Clinical Diagnostics and bioMerieux - market tests for infectious diseases, including hepatitis, rubella, toxoplasma, cytomegalovirus, H. pylori, Herpes, EBV, and syphilis. More than 60 to 70 dedicated immunoassay companies market immunoassay and ELISA tests for a number of infectious diseases including those that are on automated analyzers, and a host of other tests including TB, STDs, West Nile Virus, Chagas disease, malaria, influenza, and Dengue fever.

The undisputed leader in automated immunoassays for infectious diseases is Abbott Diagnostics. The company's IMx, launched in 1988, was the first fully automated immunoanalyzer that could run a full menu of immunoassays including tests for infectious diseases – HIV, Hepatitis, STD's and Rubella. In 1993 Abbott began marketing the AxSYM system for high volume labs.

Competitive systems to Abbott's include:

- Siemens Healthcare Diagnostics – Immulite, Advia Centaur
- Beckman Coulter - Access
- bioMerieux – Vidas
- Ortho Clinical Diagnostics - VITROS ECiQ Immunodiagnostic System

Now most infectious disease immunoassays can found on automated workstations that also run clinical chemistries. These include: Siemens' Dimension, Roche Diagnostics' Hitachi and Modular systems, Beckman Coulter's UniCel and Synchron, Ortho Clinical Diagnostic's Vitros

Lab-based infectious disease immunoassays, by test, 2009, \$ million

Test	Sales	% mkt
Hepatitis	820	19
HIV	750	18
Sepsis	530	13
Respiratory	510	12
STDs	540	13
TORCH	630	15
Parasitology	100	2
Mycology	40	1
Others*	300	7
Total	4220	100

* includes immunoassays for EBV, Chagas, Dengue, Malaria, TB

Source: StratCom, Montreal, Canada

Rapid immunoassays

Rapid tests are available for a range of infectious diseases including HIV, gonorrhoea, syphilis, chlamydia, herpes, hepatitis, strep A, strep B, tuberculosis, RSV, influenza, legionella, mononucleosis, mycoplasma pneumonia, E. coli, H. pylori, cryptosporidium, giardia, C. difficile, rotavirus, fungal disease, and bacterial meningitis.

The most developed market for rapid infectious disease tests is in professional test settings-community clinics, emergency rooms (ERs) and physician offices. The world market for rapid infectious disease tests is estimated at \$730 million in 2009. With an average 8% Compound Annual Growth Rate (CAGR), this is expected to grow to \$1.050 billion in 2014. The tests most performed are influenza, hepatitis, HIV, Strep A and respiratory viruses. Here again the emphasis is on developed world problems.

The market leader is Inverness Medical with 35% of the market, then comes Becton Dickinson with 15%, Meridian and Quidel with about 8% each and after that a host of some 20 international companies including: Beckman Coulter, Fisher Healthcare, Genzyme/Wyntek, Gull Labs, Polymedco, Princeton BioMediTech (Beckman Coulter), Trinity Diagnostics, and Remel (Fisher Scientific).

Some 60 or so companies serve local markets worldwide including:

- Aalto Bio Reagents Ltd.,
- Ani Biotech,
- Biokit,
- Biosystems S.A.
- Coris BioConcept
- Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG
- J. Mitra & Co. Ltd.
- Operon S.A.
- Organics Ltd.
- Panbio Limited
- Serion Immundiagnostica GmbH -Institut Virion/Serion GmbH,
- Standard Diagnostics, Inc
- Veda.Lab
- YD Diagnostics

In 2009 the U.S. accounted for approximately 42% of these tests, Europe 25%, Japan 19% and 14% in the rest of the world (ROW). Countries of the developing world will still hold only a small percentage of all infectious disease rapid test sales. Nevertheless, increased sophistication and the use of saliva and urine as alternatives to blood are stimulating sales of rapid immunoassays worldwide and especially in developing countries.

Of particular interest are molecular point of care (POC) tests that are in development. Most are designed to improve HIV and TB testing in developing countries. Also a number of biochip and array-based tests allow laboratorians to screen for a large selection of respiratory viruses and hospital acquired infections in a single test. These screening-type tests should provide further growth in this test segment.

I will now discuss market developments for some of the most pressing infectious diseases

Discussion on Major Testing Markets

Malaria

- *Overview*
- *Test Initiatives*

The World Health Organization estimates that half the world's population are at risk of malaria, with 243 million people developing clinical malaria last year (86% in Africa), and nearly 863,000 deaths (89% in Africa, most being children).

Malaria remains endemic in 108 countries. Most suspected cases of malaria are still not properly identified, resulting in over-use of anti-malarial drugs and poor disease monitoring.

Microscopy remains the gold standard for malaria diagnosis, but countries where malaria is endemic, most specifically in Africa, are receiving financial support from several international funding organizations involved in HIV and malaria control. Organizations such as the United States President's Emergency Plan for AIDS Relief (PEPFAR), the Global Fund and the President's Malaria Initiative (PMI) are investing sizeable amounts of money in the development of laboratory infrastructure and the purchase of rapid diagnostic tests and consumables.

In Latin America, the USAID Latin America and Caribbean Bureau, Office of Regional Sustainable Development developed and launched the Amazon Malaria Initiative (AMI) in 2001. By directing resources using a common conceptual framework to select and coordinate activities in priority countries, the Initiative intends to improve malaria control at the subregional level and contribute to decreased morbidity and mortality at the national level. This five-year Initiative complements the ongoing USAID Mission bilateral programs and has a budget of approximately \$2 million per year. AMI also complements efforts of Roll Back Malaria (RBM) that is coordinated by the Pan American Health Organization (PAHO) and was launched in the nine Amazon countries in 1999. The result of this initiative has been an increase in artemisinin combination therapy (ACT) in the seven targeted countries.

Recently, Global health Group has released a summary report of the fifth meeting of its expert Malaria Elimination Group. Discussions during the meeting focused on elimination efforts in Latin America including the Salud Mesoamerica 2015 regional plan for malaria elimination. These initiatives focus on prevention and treatment. In the area of diagnostics, local malaria control programs report using a relatively small number of rapid diagnostic tests in comparison with the number of malaria cases per year. Part of the problem is low sensitivity of many rapid tests and their inability to detect active infection. Even in developed countries regulating bodies recommend that rapid tests are followed-up with microscopy to confirm the results and if positive, to quantify the proportion of red blood cells that are infected.

A number of initiatives are underway to ratify tests that meet sensitivity and specificity requirements. The major one is headed by the World Health Organisation. Recent WHO malaria treatment guidelines call for diagnosis using either microscopy or the rapid tests before treatment in all cases of suspected malaria. Since many treatment centers do not have the resources to perform microscopy, rapid tests are seen as the next best alternative.

The Malaria Product Testing Evaluation Programme just completed a new assessment of the performance of 29 rapid diagnostic tests and found that 15 of them met minimum performance criteria set by WHO. Copy of the report can be found at <http://apps.who.int/tdr/svc/news-events/news/malaria-rdt>

"These rapid tests have been a major breakthrough in malaria control," said Dr Robert Newman, Director of WHO's Global Malaria Programme. "They allow us to test people who cannot access diagnosis based on microscopy in remote, rural areas where the majority of malaria occurs."

With 15 tests that now meet the WHO minimum performance criteria, malaria-endemic countries have a wider choice of tests which have been assessed for quality and reliability.

Thus it appears that rapid tests have gained considerable ground over microscopy since 2006. Information for Africa cited that 1.4 million rapid malaria tests were performed in 2006, this jumped to 74 million in 2008 and some 100 million were anticipated in 2010. The leading international companies are: Trinity Biotech, Chembio Diagnostics, Inverness Medical, and MedMira.

Several tests are currently approved by USAID, including Access Bio CareStart products, Alere-Inverness Binax Now, ICT Malaria Cassettes, Orchid Biomedical Paracheck Pf Device, Premier Medical First Response, Span Diagnostics ParaHit Dipstick, Standard Diagnostics.

Tuberculosis

- *Overview*
- *Test Initiatives*

The WHO estimates that every year there are 8.8 million new active TB cases mostly in the poorest communities of the developing world. One third of the world's population has latent TB, which may later develop into an active form of the disease. Traditional culturing methods can take as long as 10 weeks to produce results. The standard non-culture-based diagnostic tests for TB, the tuberculin skin test and blood smear were developed about 100 years ago. Despite huge advances in technology, most countries around the world are still using microscopy examination of sputum to diagnose TB.

According to the WHO Report "Diagnostics for tuberculosis: Global demand and market potential", published in 2006, high-tech molecular techniques and rapid culture systems are mostly absent in the countries with the highest burden of TB. They are used in industrialized countries, where the TB burden is low. These tests have not been implemented in high-burden developing countries to any significant degree, mainly because the level of sophistication and cost has, to date, made their routine application unfeasible.

HIV and TB travel together. HIV significantly increases an individual's chances of reactivation of latent TB infection and progression to active TB disease. HIV's associated immunosuppression also makes it more difficult to diagnose active TB due to a higher likelihood of atypical and extrapulmonary presentation and poorer performance of standard diagnostic tools.

TB is the major cause of death in individuals infected with HIV, and the combination of both illnesses creates unique treatment challenges for providers due to interactions between antituberculous and antiretroviral medications, overlapping drug toxicities, and the immune reconstitution inflammatory syndrome.

Moreover, with so much emphasis on malaria and HIV programs, TB testing appears to have suffered, especially in the three areas where TB is most prevalent – Africa, S.E. Asia and W. Pacific. TB testing in Africa is particularly low, though TB testing is often bundled with HIV.

Latin America, according to WHO data, appears to use more TB tests than the other regions and the incidence of TB there is less than any other region and has been decreasing since a high point in the mid 1990s. Despite advances in diagnostic methods and greater understanding of the reasons for treatment failure, tuberculosis remains common throughout Latin America.

There is a huge need for rapid, affordable tests for tuberculosis diagnosis, and for easy drug sensitivity testing.

Drug resistant TB has become a significant problem, worldwide, yet the countries where the problem is greatest have few resources to perform drug susceptibility testing (DST). Very few labs in the regions studied except Latin America have the capacity to perform DSTs. The West Pacific region has 224 labs and Latin America has more than one hundred labs that can run DSTs while Africa has only 45, and South East Asia has 43.

Some technological advances have improved the accuracy of diagnosis of this condition. Cellestis', (Melbourne, Australia) TB test has been recognized as an appropriate replacement for the tuberculin skin test. Approved by the FDA in October 2007, the QuantiFERON-TB Gold In-Tube (QFT) uses ELISA-type technology to detect immune reactivity to TB, by testing for interferon gamma produced by T-cells in specific response to Mycobacterium tuberculosis. This is hardly a rapid test that can be performed outside a laboratory, however. It is expensive and thus has not made any inroads in the regions studied.

More recently, the World Health Organization (WHO) gave its backing to Cepheid's Xpert MTB/RIF test, that was codeveloped with the Foundation for Innovative and New Diagnostics (FIND), a non-profit group funded by the Bill & Melinda Gates Foundation, the European Union and national donors. The test is simple enough to be done with minimal training. It requires only 15 minutes of manual labor, for taking the mucus sample, mixing it with chemicals and putting it in an inkjet-like cartridge that goes into a machine. The instrument amplifies the DNA in the sample and checks for portions of bacterial genes, a process that takes less than two hours. The test is intended to cost \$16.86 and the instrument will cost around \$17,000 as a special price for developing countries.

In a study involving 1,730 patients with suspected TB in Peru, Azerbaijan, South Africa and India, the test successfully identified 98 per cent of all confirmed TB cases and 98 per cent of cases resistant to rifampin, one of the most commonly used drugs for this disease. It correctly picked out nearly three-quarters of TB cases that were mistakenly declared negative from the microscope exam, and it accurately ruled out TB in 99 per cent of people who did not have it.

This test represents a major step forward in TB diagnosis, although again for developing countries it is based on a relatively complex platform and its impact in those areas remains to be seen.

HIV

- *Overview*
- *Test initiatives*

The World Health Organization and UNAIDS estimate that number of people worldwide living with AIDS was about 33.4 million in 2008 (the year for which the

most accurate data is available). HIV infections in sub-Saharan Africa accounted for 70% of all 2.7 million new HIV cases worldwide and 73% of the approximately 4 million people were being treated with antiretroviral therapies (ART).

HIV infection can be diagnosed with rapid immunoassays and the CD4 test.

Rapid tests do not help healthcare professionals decide when to initiate antiviral therapy. The CD4 Initiative lead by the Imperial College of Medicine in London and funded by the Bill & Melinda Gates Foundation, is dedicated to developing a rapid, instrument-free test to make CD4 cell count testing more widely available to HIV-positive people in developing nations. Their test and others in development are expected to come to market by 2012.

In the meantime, global NGOs such as the Clinton Foundation have negotiated pricing arrangements with the manufacturers of CD4 and viral load tests, which cut the price for test kits and instrument maintenance for developing countries. Flow cytometry company Partec is the leader in this initiative.

The CD4 cell count is a measure of the number of disease-fighting cells in the blood. The viral load test measures the amount of HIV in the blood. These two tests are very important because they help doctors gauge when to start antiretroviral therapy or how well it is working.

CD4 counts are run on a flow cytometer that requires a laboratory set up. The main vendors of CD4 specific flow cytometers are BD Biosciences, Partec, Beckman Coulter/PointCare, and Guava Technologies.

The major companies active in the molecular field including Abbott Diagnostics, Siemens/Bayer, Roche Diagnostics, and Ortho Clinical Diagnostics offer HIV genotyping and viral load assays to determine a patient's sensitivity to antiretroviral drugs.

Accessing CD4 testing and HIV viral load is difficult in many developing countries because people often have to travel long distances to health centers with testing equipment. CD4 and viral load testing are available mainly in urban centers and some specially established labs in larger rural sites. The equipment is also expensive to buy and run and requires specially trained operators. Thus, the research indicates that there were only about 6.3 million CD4 tests and not more than 1.6 million viral load tests performed in developing countries in 2008.

By contrast approximately 14-22 million rapid tests were used. Countries with a high burden of HIV, most specifically in Africa, receive financial support from several international funding organizations involved in HIV and malaria control. Organizations such as the United States President's Emergency Plan for AIDS Relief (PEPFAR), the

Global Fund and the President's Malaria Initiative (PMI) are investing sizeable amounts of money in the development of laboratory infrastructure and the purchase of rapid diagnostic tests and consumables.

The Global Fund also collaborated with the PAHO to manage similar programs in Latin America. The Know Your Status Initiative proposes a series of actions and tools aimed at increasing the public's demand for HIV testing and counseling services. This initiative complements PAHO/WHO's activities to support the countries' efforts to strengthen and expand HIV testing and counseling services. The ultimate goal of the Initiative is to help reduce the spread of HIV in the region and to promote universal access to comprehensive care, in fulfillment of Goal 6 of the Millennium Development Goals and Goal 2 of PAHO's Regional HIV/STI Plan for the Health Sector, 2006-2015. The Know Your Status Initiative aims at creating an environment that enables people to make informed decisions about the importance of learning one own's serological status, while at the same time encouraging the use of health services that offer HIV testing and counseling.

Sexually Transmitted Diseases

- *Overview*
- *Test Initiatives*

There is a global re-emergence of sexually transmissible diseases (STDs).

Syphilis is back. The disease was the sexual scourge of the 19th century. The widespread use of penicillin in the 1950s all but wiped it out in the Western world. But since the 1990s, syphilis has returned, worldwide. With more than 12 million new cases of syphilis being diagnosed annually worldwide, it remains a serious public health threat. Although 90% of cases are in the developing world, incidences of the disease are rising rapidly in Europe and North America. This bodes well for developing countries, it means that companies will work on more sensitive rapid tests that can be used everywhere.

In December 2009, the CDC announced that sexually transmitted diseases - chlamydia, gonorrhea, and syphilis were all found to have increased from 2007 to 2008, with reported chlamydia cases setting a record in 2008: 1.2 million cases were reported in 2008, up from 1.1 million in 2007. The CDC's latest study notes 13,500 syphilis cases were reported in 2008, an almost 18% increase over 2007. Syphilis, nearly eradicated a decade ago, among women rose 36%, but most of the syphilis cases (63%) occurred in men who have sex with men.

The CDC estimates that approximately 19 million new STD infections occur each year in the U.S. Many cases of notifiable STDs go undiagnosed. Some common viral infections, such as human papillomavirus and genital herpes, are not reported at all.

In January 2009, the European Surveillance of Sexually Transmitted Infections (ESSTI, www.essti.org) network released its annual report on “Sexually Transmitted Infections in Europe”. It presents information provided by STI surveillance collaborators in Europe and covers the years 1998 to 2007. It aims to describe basic trends of the three main bacterial sexually transmitted infections; chlamydia, gonorrhoea and syphilis, in the 24 ESSTI participating countries and the Czech Republic.

The report indicated that the overall rates of reported chlamydia infection have increased in all European countries over the past ten years. Gonorrhoea is most commonly reported in men and the number of reported cases of gonorrhoea has increased in a number of countries in the last year, although no consistent trend across Europe has been seen.

The number of reported syphilis cases has stabilized in many Western European countries following increases in the early 2000s.

The Pan American Health Organization (PAHO) provides technical cooperation for the prevention and control of HIV and other sexually transmitted diseases in the Region of the Americas. It also promotes, designs, and facilitates technical activities and policies to improve the capacity of Member Countries to reduce the number of future infections and to provide timely and adequate care for people with HIV.

Progress has been made in the development of rapid immunoassays for syphilis, trichomonas, and bacterial vaginosis, but more work is needed for chlamydia and gonorrhoea. More than 60 companies offer rapid tests for STDs, but in the developing world, laboratory services for sexually transmitted infections (STIs) are either not available, or where limited services are available, patients may not be able to pay for or physically access those services. Despite the existence of national policy for antenatal screening to prevent congenital syphilis and substantial evidence that antenatal screening is cost-effective, implementation of syphilis screening programmes remains unacceptably low because of lack of screening tools that can be used in primary health care settings.

The World Health Organization Sexually Transmitted Diseases Diagnostics Initiative (SDI) has developed the ASSURED criteria as a benchmark to decide if tests address disease control needs: Affordable, Sensitive, Specific, User-friendly, Rapid and robust, Equipment-free and Deliverable to end-users. Rapid syphilis tests that can be used with whole blood approach the ASSURED criteria and can now be deployed in areas where no previous screening has been possible. Although rapid tests for chlamydia and gonorrhoea lack sensitivity, more tests are in development. The way forward for STD diagnostics requires a continuing quest for ASSURED tests, the development of a road map for test introduction, sustainable programmes for quality assurance, and the creation of a robust infrastructure linked to HIV prevention that ensures sustainability of STD control efforts that includes viral infections.

Human Papilloma Virus (HPV)

Despite being a preventable cancer with a known primary cause, cervical cancer claims nearly 300,000 lives every year -- with 80% of these deaths occurring in developing countries. The WHO estimates that only about 5 percent of women in the developing world have been screened for cervical disease in the previous five years, compared to 40-50 percent in the developed world. HPV is transmitted sexually.

The Pap smear is the main test to screen for cervical cancer. Approximately 160 million Pap tests are performed annually worldwide, approximately 80 million of which are performed in the U.S., 45 million in the EU, 25 million in developing countries and 20 million in the ROW. The Pap smear has proved to be one of the most effective disease screening tools and has become a routine part of gynecological exams in developed countries. As a result, there was a 70% drop in the number of women dying from cervical cancer as a result of screening programs, according to the National Cancer Institute (www.nci.nih.gov). There are however some 1.5 billion women, mostly in developing countries, that have little or no access to Pap testing because lab services are not available to them.

The single most important event in molecular Pap testing is the use of FISH HPV testing as a primary screen for cervical cancer. Research has shown that human papillomavirus, HPV, is the primary causal factor in cervical cancer.

Thus there is a huge unmet need for user-friendly POC cervical cancer screening products. July 2010, Qiagen, the leader in HPV testing in the U.S. and Europe was awarded the CE mark for its careHPV Test to bring human papillomavirus (HPV) testing to public-health programs in low-resource, developing countries.

The test has been used in screening projects in India, China and S. Africa. A study in Mexico is expected to see screening for HPV migrate to the rest of L. America.

Neglected Diseases

According to a new analysis, neglected tropical diseases (NTDs) as a group may have surpassed HIV/AIDS, tuberculosis and malaria as the most prevalent infectious diseases in Latin America and the Caribbean.

Similarly, an analysis published August 25, 2010 in the open-access journal *PLoS Neglected Tropical Diseases* sheds new light on the toll that neglected tropical diseases (NTDs) take on sub-Saharan Africa (SSA), with an estimated 500 million people suffering from these debilitating and sometimes deadly diseases. Helminth infections account for approximately 85% of the NTD burden. Overall, the NTD burden may be equivalent to more than double that caused by tuberculosis and up to one-half of SSA's malaria disease burden.

The analysis found that NTDs are the most common infections of approximately 200 million of the poorest people in the region. They include tens of millions of cases of intestinal worm infections, and almost 10 million cases of Chagas disease, as well as schistosomiasis, trachoma, dengue fever, leishmaniasis, lymphatic filariasis (LF), and onchocerciasis.

Yet, there are few if any diagnostics for most of these diseases. One of the reasons is a preoccupation with HIV, TB and malaria by the WHO and multinational organizations that leaves little room for these other diseases even though they are more widespread and cause significant public health problems.

Another reason is manufacturers' preoccupation with first world infectious disease problems because there is a defined and secure market. There is some skepticism with the ability of buyers in developing countries to pay and demand is not constant or reliable.

Some tests have been developed for what the developed world calls "emerging" infectious diseases such as malaria, dengue and Chagas. This is because they have spread to Europe and the U.S. through increased travel and immigration. This has turned a preoccupation with primarily first world diseases into to a plus for those that have plagued developing countries forever. One can only hope that the tests that are being developed will make their way into the hands of developing countries.

Dengue:

At least 20 rapid tests and ELISAs have been commercialized for detection of Dengue infection. As yet, the performance of many of the rapid tests in the market leave room for improvement. For example, the WHO has evaluated the following of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin M tests:

- Dengue Duo Cassette (DuoCassette), Panbio Diagnostics, Australia.
- Hapalyse Dengue-M PA Kit (HapalyseM), Pentax Corporation, Japan
- SD Bioline Dengue IgG/IgM (SD Bioline) Standard Diagnostics, Republic of Korea
- Dengucheck WB (Dengucheck), Zephyr Biomedicals, India.

WHO found that, overall, the rapid tests showed lower agreement with the reference standard assays for both sensitivity and specificity than the ELISA-based tests. In addition both RDTs and ELISAs showed cross reactivity with Malaria and anti-Dengue IgG in the samples. Higher false positive rates were found in the RDTs. This situation makes it difficult to deploy reliable tests to developing countries.

Chagas

The case of chagas is less clear. There appears to be a focus on protecting the blood supply in the U.S and Canada, where some blood banks have begun testing donated units for chagas. Not much is being done about testing. There is growing global

concern with this disease, however. In a press release related to the World Health Assembly, May 2010: Médecine sans Frontières (MSF) and Drugs for Neglected Disease Initiative (DNDi) call for a more rounded resolution on Chagas disease. Additionally, the resolution, ‘Chagas Disease: Control and Elimination’, to be adopted by the World Health Organisation (WHO), is a step in the right direction but should not focus only on prevention. The World Health Assembly has also adopted a resolution, ‘Chagas Disease: Control and Elimination’. While all of these efforts represent steps in the right direction, the focus has been primarily on prevention. Médecins Sans Frontières/Doctors Without Borders (MSF) and Drugs for Neglected Disease Initiative (DNDi) have both called on Member States to include the integration of treatment and diagnosis at primary healthcare level and for increased efforts in research and development.

“Chagas patients have been forgotten because they are poor and fall outside the mainstream market interest, but science exists to develop better treatments and diagnostic tools for all,” says Bernard Pecoul, Executive Director of DNDi. “The first steps to making progress at an international level are through sustainable, predictable funding and strong public support. The delegates at WHA have now the opportunity to move forward and take concrete action,” adds Pecoul.

This is an opportunity for millions of people infected by this disease, which remains the leading parasitic killer in the Americas, with an estimated 10 to 15 million being infected and 14,000 people dying each year.

In 2009, the Member States of Pan American Health Organization (PAHO) adopted the resolution ‘Elimination of neglected diseases and other poverty-related infections’, where the primary strategy includes etiological treatment of children and medical care for adults, which is in line with the key messages of MSF and DNDi.

Urgent actions and measures to increase medical response must be taken to scale up diagnosis, treatment and patient access to care and to boost research and development for new tools. MSF and DNDi also call on Member States to reinforce the supply chains of existing treatments so that they are available to health staff and national programmes and to promote much needed research and development, which is virtually non-existent. They also urge a focus on better treatment (less toxic, shorter and more efficient treatment courses in all stages of the disease for children and adults), diagnostic tools adapted to the limited resources settings and a test of cure to control the Chagas disease.

Funding for Infectious Disease Testing

In developed countries, the market for infectious disease testing with immunoassays and molecular tests is pretty much established and mature. Government bodies require that physicians, clinics and hospitals report cases of infectious diseases.

In developing countries, the market for infectious disease testing is still evolving. Recent advancements in testing for TB, HIV and malaria can be attributed to efforts by several international funding organizations such as the WHO, United Nations, USAID, PAHO, FIND, the United States President's Emergency Plan for AIDS Relief (PEPFAR), the Global Fund, the President's Malaria Initiative (PMI), the Clinton Foundation and the Gates Foundation that are investing sizeable amounts of money in the development of laboratory infrastructure and the purchase of rapid diagnostic tests and consumables.

The Gates Foundation Grand Challenges Explorations is an initiative to help scientists around the world explore bold and largely unproven ways to improve health in developing countries. The grants were provided to scientists in 16 countries on five continents. The initiative is highly competitive, receiving almost 3,000 proposals in this round.

These international initiatives support treatment programs for infectious diseases—TB, HIV, malaria, and sexually transmissible diseases. This has created a market and secure funding for test devices to diagnose and monitor treatment efficacy of these diseases and other infectious diseases. The problem is that without this kind of mobilization of resources, manufacturers are loath to spend resources on tests because they are not sure to have secure market opportunities.

The Future

- Lab-based immunoassays
- Rapid Immunoassays
- Molecular Testing

Technological development and market growth in the laboratory testing market for infectious disease remains strong. Market trends indicate continued strong growth through 2015. Menu continues to expand in immunoassay and molecular testing areas, and performance continues to improve. In terms of overall market development, the use of rapid testing methods for infectious disease remains an under-explored area, particularly in developing economies. Lab-based immunoassays and molecular tests do not meet the pressing needs for mass screening and diagnostic programs required by public health professionals and clinicians in the developing and developed world. They require a well-established laboratory network and trained technologists to run the tests. These are generally not readily available in developing countries and in rural areas of developed countries.

Decentralization of testing for infectious diseases is central to controlling their continued spread and hardship caused to most of the world's population. This can only be done with the commercialization of reliable, sensitive and highly specific rapid tests.

Therefore, there is a pressing need for continued development of reliable rapid tests for infectious diseases. The application of rapid tests with appropriate performance offers the opportunity for earlier patient diagnosis, earlier treatment and savings for patients and healthcare plans, while avoiding costly delays and unnecessary quarantines. Further studies have shown that the majority of individuals seen in clinics do not return to receive the results of their lab tests and so remain untreated if positive.

It is beyond the scope of this presentation to discuss the advances in technology and performance of rapid tests that make their application in both laboratory and field-based applications more appropriate, however in recent years there have been significant advances in lateral flow and lab on a chip technologies, including the use of high sensitivity labels such as magnetics and fluorescence to improve sensitivity, and advanced manufacturing techniques to control the variability in performance that has previously inhibited the production of truly quantitative rapid tests. As a result, the application of miniaturized lab-on-a-chip and lateral flow type devices should make high performance, rapid, cost effective assays available for decentralized use. These next generation tests are not expected to make any significant market impact until 2010 to 2015, however changing market conditions could speed the growth of this segment. For example, managed care in the US is beginning to demand quicker test results for infectious disease. Additionally, WHO, PAHO and global NGOs are beginning to establish collaborations for the deployment of rapid infectious disease testing systems in developing countries. These new tests aim to facilitate the diagnosis of conditions including, for example, influenza, TB, malaria, respiratory viruses and others. For the immediate future, it is likely that a robust centralized laboratory testing market will remain focused on complex molecular and immunoassay platforms, while the application of rapid diagnostics tests will fuel the additional growth of decentralized laboratory and field based testing.

14. Plataformas tecnológicas de reativos para diagnóstico laboratorial: produção e desenvolvimento local de testes de diagnósticos - Marco Krieger

Instituto Carlos Chagas/Fundação Oswaldo Cruz

O Brasil enfrenta o desafio de preencher uma lacuna histórica e perversa localizada entre a pesquisa e o setor produtivo. Embora este seja um problema mundial, enfrentado também por países desenvolvidos, o Brasil encontra dificuldades adicionais em disponibilizar produtos de conteúdo tecnológico aos programas públicos de saúde, seja pelas dimensões continentais de sua população, seja pelo quadro epidemiológico gravado por doenças negligenciadas. Há um esforço corrente do governo brasileiro para desenvolver o Sistema Nacional de Ciência e Tecnologia. Neste período, várias iniciativas estão em curso e a produção de políticas pró-inovação tem sido intensa nos últimos anos. Neste quadro, o setor de biotecnologia assume papel de destaque e tem sido alvo de prioridades, principalmente por parte dos órgãos de fomento federais e estaduais. Especificamente, o setor de kits diagnósticos movimenta mundialmente cerca de 25 bilhões de dólares a cada ano, configurando um setor extremamente dinâmico, caracterizado por estratégias de alta intensidade de P&D, incorporação dos novos paradigmas tecnológicos e disseminação restrita dos conhecimentos produtivos e tecnológicos.

Dados divulgados pelo BNDES reportam um saldo negativo na balança comercial brasileira em reativos para diagnóstico na ordem de US\$ 200 milhões. Este número aponta para a dependência do país por importações, ao passo que a produção nacional, marcada pela oferta de produtos de baixo valor agregado e de baixa densidade tecnológica, se concentra em um restritíssimo número de empresas, em sua maioria instituições públicas de C&T. Este contexto se torna mais agudo quando analisamos o segmento de equipamentos para diagnóstico, onde o setor industrial nacional tem presença fraca e poucos recursos e iniciativas foram destinados até o momento ao desenvolvimento de capacitação tecnológica deste setor industrial. O quadro é preocupante, pois revela uma dependência estratégica do país neste segmento, visto que vários programas de saúde pública se baseiam em diagnósticos clínicos e epidemiológicos para o correto desenvolvimento de suas ações.

Esta situação amplia sobremaneira a responsabilidade das instituições de C&T na pesquisa e desenvolvimento de reativos para diagnóstico e equipamentos com densidade tecnológica e valor agregado a serem transferidos para o setor produtivo. Todavia é importante que os produtores nacionais consigam viabilizar plantas de produção que atendam as crescentes demandas das agências regulatórias, e mais do que isto, tenham equipes preparadas para transformar em produtos as provas de conceito de novos testes de diagnóstico que estão sendo gerados em nossos institutos de pesquisa e que ficam estancados devido à carência desta competência no país.

Diante deste quadro a Fundação Oswaldo Cruz sobre a Liderança de Bio-Manguinhos tem buscado alternativas para preencher este hiato visando apoiar a produção científica e tecnológica e o desenvolvimento de kits diagnósticos e equipamentos para serem produzidos pelo setor produtivo nacional. Esta iniciativa conta ainda com as importantes participações do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia INCT PARA DIAGNÓSTICO EM SAÚDE PÚBLICA, do Programa de Desenvolvimento Tecnológico de Insumos para a Saúde (PDTIS), de outras unidades técnicas científicas da FIOCRUZ e do Instituto de Biologia Molecular do Paraná. Esta iniciativa coordenada busca a implantação de metodologias de vanguarda para a produção de sistemas de diagnóstico centrados em doenças causadas por microrganismos importantes para a saúde pública no Brasil através da associação efetiva entre a pesquisa básica e o setor produtivo.

A tecnologia tem sido a chave facilitadora do crescimento da indústria de reagentes para diagnóstico laboratorial *in vitro* ao longo dos últimos anos. Desde o desenvolvimento do radioimunoensaio, na década de 60, a indústria tem sido um campo fértil para a inovação e o desenvolvimento de novas tecnologias, resultando em grandes avanços na área diagnóstica. Nesta perspectiva, as tendências atuais em novos reagentes para diagnóstico laboratorial estão voltadas, principalmente, para uma melhor orientação da conduta terapêutica com diagnósticos mais precoces, mais precisos e diferenciais, aliados a uma maior rapidez nos resultados e à realização dos testes específicos nos próprios locais de atendimento de pacientes. Estes objetivos são atendidos pelo desenvolvimento de reagentes baseados em plataformas de ensaios moleculares; testes rápidos, testes automatizados; testes *point of care* (o conceito “Point of Care” refere-se a testes cuja realização e resultado ocorrem no próprio local de atendimento ao paciente); testes múltiplos e testes genéticos.

- Esta Equipe já vem trabalhando fortemente no domínio de tecnologias associadas às demandas identificadas acima, notadamente nos Testes Rápidos tipo “Point of Care” e nos Testes Moleculares. Estes esforços já resultaram na introdução de produtos produzidos por Bio-Manguinhos como os Testes Rápidos para HIV, com ampla utilização pelo Ministério da Saúde, e o teste NAT para triagem de doadores da Hemorede Pública, já em fase de implantação pela Hemorede Brasileira. O domínio destas metodologias incorpora não apenas o aspecto tecnológico das mesmas, mas também as características de sua produção segundo as normas de Boas Práticas de Fabricação aplicadas nas duas plantas de produção destes insumos em Bio-Manguinhos (FIOCRUZ, Rio de Janeiro) e no Campus do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), através da associação do TECPAR e da FIOCRUZ sobre a coordenação do IBMP. Estas modernas instalações estarão totalmente dedicadas à produção dos testes nas duas plataformas e é importante salientar que além destes produtos já disponíveis, espera-se que com este domínio tecnológico, tenhamos importantes desdobramentos na introdução de novos testes nestas tecnologias industrialmente apropriadas.

- Uma terceira plataforma tecnológica que esta em fase final de implantação a plataforma de multitestes. Entre estes modelos estamos apostando fortemente na metodologia denominada de microarranjos líquidos desenvolvidos com base em algumas tecnologias já estabelecidas (microfluídica, fluorescência, microesferas, lasers, processamento de sinal digital e química tradicional). A evolução desta tecnologia resultou no desenvolvimento dos primeiros produtos que começam a ser disponibilizados comercialmente, além da publicação de um número crescente de artigos científicos. Nesse sistema, microesferas de poliestireno atuam como suporte sólido para a captura de diferentes moléculas-alvo sejam elas anticorpos, antígenos, peptídeos ou ácidos nucleicos. Cada microesfera é corada internamente com proporções distintas de corantes fluorescentes, permitindo a criação de 100 códigos de cor únicos e específicos para cada grupo de microesferas. Dessa forma, cada microesfera específica pode ser acoplada à molécula de captura desejada e até 100 moléculas-alvo podem ser identificadas e detectadas em um único ensaio multiteste. A ligação da molécula de captura à molécula-alvo é detectada por fluorescência utilizando-se, por exemplo, um anticorpo ou sonda marcada com ficoeritrina (PE). Comparados aos testes de ELISA, os Microarranjos Líquidos são extremamente vantajosos por serem: em geral mais sensíveis, fornecerem resultados em um tempo mais curto, requererem um número menor de passos para a sua execução, necessitarem de um volume muito menor da amostra a ser testada, possibilitarem a análise de diversos parâmetros simultaneamente e, finalmente, por apresentarem uma faixa mais ampla de detecção, o que elimina a necessidade de se fazer diluições das amostras. Além disto, esta metodologia pode ser automatizada permitindo a aplicação de protocolos rápidos e de baixo custo.

- Vale salientar que os diferentes grupos envolvidos nesta iniciativa estão envolvidos não apenas no desenvolvimento e formulação dos testes, mas também na cadeia de produção dos insumos que serão utilizados. Esta atuação se dá em diferentes campos e comportará expertises distintas que vão desde a otimização da produção de proteínas sintéticas recombinantes, síntese química de sondas moleculares, produção e desenvolvimento de polímeros e microesferas com distintas modificações (que abrangem os campos da Química Fina até a Nanotecnologia), até o desenvolvimento de aparatos e equipamentos para sua utilização. A meta maior é o desenvolvimento com maior grau de nacionalização de testes de diagnóstico de alto desempenho para atender as demandas de saúde pública do Brasil.

15. Produção de Reativos para Diagnóstico em Bio-Manguinhos – Raouf Emile Sykora

Gerente do Departamento de Reativos para Diagnósticos (Dered), Vice-diretoria de Produção Bio-Manguinhos/Fiocruz
Rio de Janeiro, Brasil

As ações de prevenção e tratamento dependem da resposta do diagnóstico e do monitoramento das doenças. Desde a década de 80, Bio-Manguinhos atua no mercado de reativos para diagnóstico. Ao longo deste período, cerca de 20 produtos da linha de reativos passaram pelo portfólio da unidade. A partir de 2005, Bio-Manguinhos vem atuando e investindo pesado no Departamento de Produção de Reativos para Diagnóstico no intuito de oferecer ao Ministério da Saúde produtos de primeira linha. Com esse objetivo foi necessária a qualificação do seu corpo técnico, adequação das estruturas físicas, aquisição de equipamentos de última geração de acordo com as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e regulamentações, tanto para produtos de diagnóstico laboratoriais humanos e veterinários. Atualmente, os reativos são produzidos nos Pavilhões Rockefeller e Rocha Lima com uma produção anual de 7.000.000 de reações e futuramente toda a produção será realizada no Centro Integrado de Protótipos, Biofármacos e Reativos para Diagnósticos (CIPBR), onde poderemos alcançar a marca de mais de 20.000.000 de reações por ano. Hoje, Bio-Manguinhos possui 17 produtos em seu portfólio (tabela 1), atendendo aos programas da Unidade de Laboratório – ULAB, Departamento de DST, AIDS e Hepatite Virais e da Coordenação Geral de Laboratórios (CGLAB) do Ministério da Saúde.

Tabela 1 - Portfólio para 2011

Doença/Patologia	Metodologia	Apresentação (reações por kit)
HIV-1	IFI	100
HIV-1 e 2	Teste rápido	20
HIV-1 e 2	DPP Screen	20
HIV-1 e 2	DPP Fluido Oral	20
HIV-1 e 2	DPP Imunoblot	20
Doença de chagas	EIE	384
	IFI	600
Leishmaniose Visceral Canina	EIE	384
	IFI	2.000
	DPP	20
Sífilis	DPP *	20
Leishmaniose Humana	IFI	600

Leptospirose	EIE	96
Helm teste	Kato Katz	100
NAT HIV/HCV	Plataforma PCR tempo real	92

- Passou pela análise prévia no INCQS, faltando somente obtenção do registro.

Outros

- Conjugado Anti-Ig Humano / FITC Bio-Manguinhos – 2500 determinações;
- Painéis para Avaliação Externa de Qualidade em Sorologia.

a) Para Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados

AEQ-A: HIV/HTLV/Doença de Chagas.

AEQ-B: Hepatites (Anti-HBc e HCV).

AEQ-C: Sífilis.

b) Para DST/AIDS:

AEQ-DST: HIV e Sífilis.

No ano de 2010, a produção de reativos teve melhorias significativas em seus processos, alcançando resultados muito positivos para o melhor atendimento aos Programas do Ministério da Saúde.

Durante o ano de 2010 aconteceram vários fatores que o identificam como um ano muito significativo para o Dered:

a) Obtenção dos registros para os kits: Kit NAT HIV/HCV, TR DPP HIV 1/2 – Bio-Manguinhos (Fluído Oral), TR DPP HIV 1/2 – Bio-Manguinhos (Screen) e Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2, faltando somente o teste DPP para Leishmaniose Visceral Canina, o qual, ainda encontra-se no MAPA para obtenção de registro.

b) Assinatura de dois contratos entre Bio-Manguinhos e a Empresa CHEMBIO de origem norte-americana para transferência de tecnologias relacionadas aos Testes Rápidos de Duplo Percurso (Dual Path Plataform - DPP) para Leptospirose e Sífilis.

c) Assinatura de um contrato entre Bio-Manguinhos e o Departamento de DST/AIDS e Hepatite virais para produção de painéis de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ) em HIV 1/2 e Sífilis e a Passagem do Programa de AEQ da ANVISA para a Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados/DAE/SAS.

d) Aumento do tempo de validade dos insumos dos kits de ELISA, passando de 6 para 9 meses após teste de Estabilidade em tempo real, com essa nova validade dos insumos o kit é liberado e entregue ao cliente com validade aproximada de 6 meses e não mais com uma média de 3 meses.

e) Permissão obtida da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para utilizarmos as áreas de produção de testes rápidos humanos e caninos em regime de campanha, o mesmo já concedido em 2009 pelo MAPA.

f) Realização de várias ações com foco de melhorias para 2011.

Dentre estas ações, destacam-se:

- A reorganização das áreas de produção.
- Implantação de novas áreas para o processamento final.
- Adequação para a nova área de produção da partícula calibradora para utilização no Kit NAT HIV/HCV.
- Adequações de áreas existentes para atendimento às exigências mais rigorosas das normas regulatórias.
- Sucesso na negociação para que os clientes passassem a enviar o cronograma de demandas com uma antecedência de 6 meses.
- Maior grau de confiabilidade dos nossos clientes em relação aos reativos para diagnóstico produzidos por Bio-Manguinhos/Dered.
- Maior integração entre Derem, PCP, Dered, Lacore e Degag.
- Participação do Dered na avaliação dos Projetos da VDTEC, com o apoio da Gepro.
- Aquisição de equipamentos novos e de última geração.
- Investimento na qualificação dos funcionários (MBA, mestrado profissional e doutorado).
- Busca na melhoria nas condições de trabalho.
- Transparência na gestão e informação.
- Rodízio na participação dos funcionários em eventos externos da unidade contribuindo assim no aprimoramento e na divulgação da instituição e dos produtos de Bio-Manguinhos.
- Produção de futuras amostras que serão utilizadas na formação de novos painéis para serem utilizados nos controles de pré-kit e controle final dos kits produzidos pelo Dipre e Lacore.
- Utilização da nova embalagem biossegurança para o transporte de amostras biológicas classificadas como UN 3373.
- Implementação imediata no processamento final, do turno de 12/36, devido ao aumento de demanda e novos produtos.

As ações de melhoria adotadas pelo departamento minimizaram as perdas de insumos e reprovações, o que resultou no melhor atendimento ao cronograma de entregas dos kits

como também entregas dos painéis aos programas do Ministério da Saúde de 2010/11 (tabela 2, 3 e 4, respectivamente) e nos preparando para o cronograma e atividades para 2011 (tabela 5).

Tabela 2 - Total de lotes produzidos:

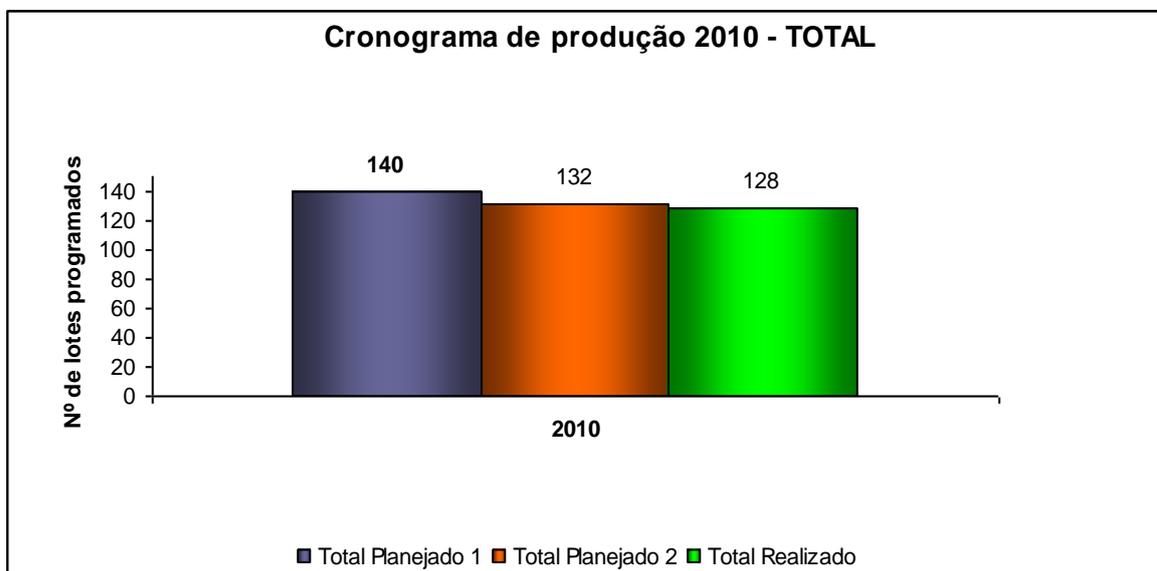


Tabela 3 - Total de lotes entregues

Kit	Total lotes entregues	Total kits entregues	Total reações entregues
EIE Chagas	4	247	94848
IFI Chagas	3	277	166200
EIE LVC	19	2839	1090176
IFI LVC	10	1048	2096000
IFI Humana	4	426	255600
EIE Leptospirose	3	270	25920
TR HIV	38	45368	907360
IFI HIV	17	757	75700
Helm Test	13	13263	1326300
NAT	8	396	36432
TOTAL	119	64.891	6.074.536

Tabela 4 - Quadro consolidado de produção e entrega de Painéis

Painel	Quant. Painel	Amostras de referência	Painéis enviados
AEQ-24	125	2250	321
AEQ-25	125	2250	324
AEQ-26	125	2250	309
DST – 1	170	1700	153
Total	545	8450	1107

Para 2011, o Dered, além dos produtos já incorporados ao seu portfólio, terá a inclusão de mais 4 produtos:

- TR DPP – Leptospirose.
- Produção da partícula calibradora para utilização no Kit NAT HIV/HCV.
- Monoclonais – CD3; CD4; CD8; CD45.
- Microarranjos.

V. INOVAÇÃO TECNOLÓGICA E REGULAÇÃO

16. Criando ambiente propício à inovação tecnológica de imunobiológicos – Carlos Gadelha e Ana Paula Reche Corrêa

O desenho de uma política de saúde que contemple a complexidade do setor Saúde é um desafio quando essa dimensão se estende às interfaces com os demais setores, o que alcança o setor produtivo de forma bastante significativa. O peso crescente na balança comercial, a busca da garantia de acesso da população a novas tecnologias e a necessidade de diminuição das vulnerabilidades do Sistema Único de Saúde fizeram com que a gestão pública olhasse também para fora do sistema de saúde propriamente dito, buscando estruturar e fortalecer o Complexo Econômico e Industrial da Saúde (CEIS) para a produção de insumos estratégicos.

O setor Saúde representa atualmente 8,4% do PIB e o déficit comercial do complexo da saúde aproxima-se de US\$ 10 bilhões, com tendência de crescimento acentuado, tendo em vista a estratégia pública de ampliação do acesso da população a produtos e serviços de saúde. Além disso, no âmbito global, no qual 22% do gasto mundial com pesquisa e desenvolvimento tem como foco a saúde, apenas 3% deste esforço tem sido realizado nos países de baixa e média renda per capita, entre os quais se inclui o Brasil.

Reduzir a situação de vulnerabilidade que se conforma para o sistema público de saúde demandou que a política nacional de saúde adotasse como pilar estratégico o fortalecimento do CEIS. De forma convergente com esse direcionamento, a política de Estado voltada à inter-relação entre as principais políticas governamentais propiciou o ambiente necessário para que muitas das questões que antes eram discutidas pelos setores de forma individualizada passassem a ser discutidas por parceiros governamentais, na busca de soluções de caráter mais permanente. Essas questões estão relacionadas principalmente a financiamento, propriedade industrial, política comercial, suporte tecnológico, cooperação internacional, política industrial e tecnológica, regulação sanitária e compras públicas. É entendimento comum entre esses atores responsáveis por essas políticas que, por sua dimensão e importância social, econômica e estratégica, o setor público de saúde tem a capacidade de estimular a consolidação de um parque produtivo nacional de grande capacidade tecnológica, capaz de suprir as demandas do Estado e voltado para a garantia do acesso da população a novas tecnologias.

O principal instrumento adotado pelo Ministério da Saúde para promover o desenvolvimento do CEIS foi o Grupo Executivo do Complexo Industrial da Saúde (GECIS). Esse grupo, de caráter deliberativo, foi criado pelo Decreto Presidencial de 12

de maio de 2008 visando à integração das políticas governamentais no âmbito do CEIS, tendo como principal objetivo promover medidas e ações concretas para implementação do marco regulatório brasileiro no campo da Saúde. Assumir plenamente essa função requereu também a adequação organizacional do Ministério da Saúde, que não dispunha de nenhuma área que pudesse assumir de forma plena a interlocução com o setor produtivo. Atendendo a essa necessidade, a criação da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos foi a estratégia adotada para dar organicidade e institucionalidade ao processo, bem como orquestrar o relacionamento externo do Ministério da Saúde com os parceiros governamentais e o setor produtivo.

A superação das fragilidades nacionais passa necessariamente pelo enfrentamento de alguns entraves: i) a fragilidade do Complexo Econômico e Industrial da Saúde, que representa situação de vulnerabilidade para o Sistema Único de Saúde (SUS) danosa para o bem-estar da população; ii) a perda de competitividade internacional das indústrias, as quais são dependentes em setores estratégicos, tanto do ponto de vista tecnológico quanto das necessidades de saúde e iii) o déficit comercial crescente no segmento da Saúde, com maior peso dos produtos de maior densidade de conhecimento e tecnologia.

Com todas essas variáveis interferindo em seu desempenho, o Setor Saúde apresenta muitas particularidades no componente de compras governamentais. O peso da aquisição de insumos para a saúde na balança comercial, o nível de excelência tecnológica que envolve muitos produtos de alto valor agregado, somados às características de universalidade, equidade e integralidade do SUS, agregam muitas variáveis a serem administradas pelos gestores desse sistema. É fato também que essa complexidade ainda não está compreendida no arcabouço legal que rege as compras públicas, que apresenta lacunas para a garantia dos quesitos “qualidade” e “tecnologia”. Conforma-se assim um contexto crítico de vulnerabilidade no que tange a insumos tecnológicos de alto valor agregado, para os quais o país ainda não tem o domínio da tecnologia. Principalmente nesse setor, é necessário que o poder de compra do Estado seja visto como mais que um processo de aquisição de insumos, pois consiste em poderosa ferramenta para o desenvolvimento industrial do país.

O modelo atual de compras públicas, regido pela Lei nº 8.666/1993, necessita de aprimoramento para as questões tecnológicas, pois carece de eficiência, uma vez que dificulta sua maior premissa, que é a de “comprar mais rápido e melhor pelo menor custo possível”. Essa lei, de caráter pontual, não contempla a visão estratégica de custo global do sistema e desestimula a competitividade por depender de produtos importados. É fato que a atual legislação privilegia o produto importado, que não agrega tecnologia ao país, muitas vezes carece de qualidade, e é isento dos impostos que são pagos pelas empresas nacionais no processo produtivo, o que resulta em menores preços, mas com alto custo. É necessário que o poder de compra do Estado seja visto

como mais que um processo de aquisição de insumos, pois consiste em poderosa ferramenta para o desenvolvimento industrial do país. Essa nova diretriz deve estar focada em uma política de compras que privilegie segmentos estratégicos e relevantes para o desenvolvimento econômico e social sustentável.

Frente às condições restritas estabelecidas pelo arcabouço normativo nacional vigente, as Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo (PDP) são o mecanismo de maior vulto preconizado pelo GECIS. Essas parcerias buscam viabilizar a produção pública e privada de forma integrada para o desenvolvimento de produtos estratégicos, consistindo em modelo também promissor para o campo dos imunobiológicos. O foco são os produtos estratégicos que estão listados em portaria ministerial (Portaria nº 978/08, atualizada pela Portaria nº 1284/2010). Integrar essa lista significa que o produto tem prioridade no setor público, sendo passíveis de *fast track* na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por exemplo. Essa lista abrange vacinas, medicamentos, equipamentos e materiais em saúde.

Até o momento foram aprovadas pelo Ministério da Saúde 24 parcerias para a produção de 29 produtos. Juntos, esses insumos representam US\$ 910 milhões das compras anuais em Saúde. O Ministério estima que o setor público irá gerar uma economia média de aproximadamente US\$ 236 milhões/ano por meio desse mecanismo, e que a economia de divisas deverá alcançar o valor de US\$ 635 milhões. Outras parcerias serão firmadas no ano de 2011, o que reafirma a viabilidade jurídica desse modelo.

Dentre os vários segmentos que produzem insumos para a Saúde, a maturidade do complexo produtivo público de imunobiológicos garante muitas vantagens competitivas ao País, que pode negociar suas aquisições e determinar os insumos para os quais se deseja direcionar os investimentos. O que se apresenta agora é um cenário propício ao fortalecimento da articulação entre os laboratórios públicos produtores de imunobiológicos, sob a coordenação do Ministério da Saúde, cujo papel é estabelecer as prioridades produtivas para o atendimento às demandas do SUS e atuar como instância mediadora e de indução, momento em que se vislumbra um salto de qualidade no projeto de colaboração entre os laboratórios.

O eixo condutor da política atual de saúde é a ampliação do acesso, o que passa necessariamente pela redução de custos de tratamento. No entanto, inovações requerem investimentos e os custos de um produto tecnológico devem ser assumidos pelo Estado quando da decisão de sua incorporação no sistema. Nesse quesito, a parceria deve ser não só a que une os produtores, mas também a que une gestores em torno das prioridades para incentivo e investimento, o que demanda uma agenda produtiva e tecnológica regida por demandas epidemiológicas de curto, médio e longo prazos.

É requisito que o estímulo governamental a processos tecnológicos seja realizado com foco em uma visão sistêmica, que monitore a passagem pelo complexo produtivo em direção à cadeia de serviços de saúde, sem solução de continuidade. Nesse ponto, não basta desenvolver a capacidade de produzir imunobiológicos de alto padrão de qualidade. Deve-se também preparar o sistema para receber um novo insumo, o que requer o planejamento estratégico de todos os seus componentes. Configura-se assim outro grande desafio, que é a integração dos processos de desenvolvimento e implantação, em gestão sustentável tanto financeira quanto logisticamente.

Merece registro o papel estatal na produção de insumos de importância epidemiológica, mas não de mercado. É fato que as instituições, mesmo as públicas, devem sustentar-se operacionalmente, ao tempo em que incrementam sua capacidade tecnológica, mas é necessário garantir o equilíbrio entre a produção de insumos de alto valor agregado, com retornos garantidos à instituição, e a produção de insumos de baixo valor agregado, no qual se cumpre o papel do Estado de prover à população determinados insumos estratégicos.

Em outra dimensão, consolidar um planejamento integrado, acordado entre produtores e gestores, motiva ainda mais a tomada de decisão, o que amplia a base de apoio em torno dos projetos comuns e diminui o peso de ingerências de toda ordem. Se por um lado a produção deve ser pautada pela situação em saúde, pelo outro, demanda-se a articulação macro estratégica do conjunto de produtores, de forma a administrar tanto a cooperação como a competição entre eles.

Há que se pensar em alcançar alguns parâmetros determinantes nesse processo de negociação interna, como (i) o parâmetro preço, que tem que dar sustentabilidade ao acesso, (ii) o parâmetro tecnologia, que tem que agregar valor ao processo produtivo nacional, e (iii) o parâmetro investimentos necessários. Tendo em vista a escala com que esse conjunto de produtores trabalha, é necessário articular de forma intensa e integrada para a potencialização dos recursos disponíveis, tanto técnicos, como tecnológicos e financeiros. Dar transparência aos valores destinados às instituições, a investimentos na produção e a aquisições propriamente ditas é parte importante desse modelo de integração para o desenvolvimento e produção de insumos.

O ponto-chave para os imunobiológicos é a consolidação de um programa governamental articulado de produção e inovação, que envolva as perspectivas tecnológicas comuns entre os produtores e a análise de sua viabilidade. Esse programa deve ser respaldado por instrumentos que lhe deem segurança jurídica e sustentabilidade, como é o caso das parcerias para o desenvolvimento produtivo, que

abordam aspectos tecnológicos, de preços, investimentos e custos. Esse instrumento possui a capacidade de registrar a participação de empresas privadas parceiras, ao tempo em que rege a relação entre o setor público e o setor privado. Até que sejam criados instrumentos que permitam o uso direto do poder de compra do Estado no campo da Saúde, as parcerias têm demonstrado ser a melhor estratégia.

Uma agenda concreta já se delineia para o ano de 2011: (i) a implementação e acompanhamento das Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo (PDP); (ii) a instituição dos comitês regulatórios (*fast track*); (iii) a revisão da Portaria de Produtos Estratégicos para o SUS (estímulos para a maior internalização tecnológica em genéricos, equipamentos médicos e produtos críticos para a saúde); (iv) a definição do aporte concreto de financiamento via crédito e orçamento para a produção e a inovação; (v) a regulamentação da legislação de compras para a saúde; (vi) a consolidação de estruturas de suporte tecnológico (qualidade e P&D); e (vii) o estudo de incentivos diferenciados para produtos estratégicos para o SUS produzidos no País.

Para além da sintonia no âmbito interno, já se pode vislumbrar outra etapa a ser vencida, que é a busca por parceiros internacionais e por outros mercados. Isto requer a preparação do complexo produtivo, o que diz respeito não só à capacidade produtiva de suprir o mercado interno e a demanda externa, ou mesmo a capacidade tecnológica de oferecer produtos de grande densidade tecnológica. O ponto crítico é garantir que os produtos nacionais, como regra, alcancem os padrões internacionais inerentes a esse setor.

Nesse complexo emaranhado de atores, dimensões e setores, a produção pública de vacinas no Brasil consiste em exemplo que articula uma política de inovação com as demandas do Programa Nacional de Imunizações (PNI), a produção nacional, e a transferência de tecnologias. Passo decisivo é o caminho da inovação e da realização de atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação como desafio para o futuro, para que todo o esforço realizado não se perca em decorrência do alto dinamismo tecnológico do setor.

17. O papel regulador da ANVISA na perspectiva do desenvolvimento tecnológico

- Dirceu Aparecido Brás Barbano

Diretor-presidente substituto, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)
Brasília, Brasil

Na década de 90 iniciou-se a discussão sobre a possibilidade de organizar as ações de vigilância sanitária por meio de um sistema nacional, que fosse capaz de responder às crescentes demandas e à complexidade do setor regulado. Assim, em 1999, por meio da publicação da Lei nº 9.782, foi instituído o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) e criada a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

A ANVISA é uma autarquia especial caracterizada pela independência administrativa, estabilidade de seus dirigentes e autonomia financeira, vinculada, sem subordinação, ao Ministério da Saúde. A ANVISA compete regulamentar e coordenar o SNVS, como também executar as ações de controle. A ANVISA baseia suas ações no controle do risco sanitário de bens e produtos submetidos ao controle e fiscalização sanitária, que compreendem:

- medicamentos de uso humano, suas substâncias ativas e demais insumos, processos e tecnologias;
- alimentos, inclusive bebidas, águas envasadas, seus insumos, suas embalagens, aditivos alimentares, limites de contaminantes orgânicos, resíduos de agrotóxicos e de medicamentos veterinários;
- cosméticos, produtos de higiene pessoal e perfumes;
- saneantes destinados à higienização, desinfecção ou desinfestação em ambientes domiciliares, hospitalares e coletivos;
- conjuntos, reagentes e insumos destinados a diagnóstico;
- equipamentos e materiais médico-hospitalares, odontológicos, hemoterápicos e de diagnóstico laboratorial e por imagem;
- imunobiológicos e suas substâncias ativas, sangue e hemoderivados;
- órgãos, tecidos humanos e veterinários para uso em transplantes ou reconstituições;
- radioisótopos para uso diagnóstico in vivo, radiofármacos e produtos radioativos utilizados em diagnóstico e terapia;
- cigarros, cigarrilhas, charutos e qualquer outro produto fumífero, derivado ou não do tabaco;
- quaisquer produtos que envolvam a possibilidade de risco à saúde, obtidos por engenharia genética, por outro procedimento ou ainda submetidos a fontes de radiação.

Além de bens e produtos, alguns serviços são submetidos ao controle e fiscalização sanitária, a saber:

- aqueles voltados para a atenção ambulatorial, seja de rotina ou de emergência, os realizados em regime de internação, os serviços de apoio diagnóstico e terapêutico, bem como aqueles que impliquem a incorporação de novas tecnologias;
- as instalações físicas, equipamentos, tecnologias, ambientes e procedimentos envolvidos em todas as fases de seus processos de produção dos bens e produtos submetidos ao controle e fiscalização sanitária, incluindo a destinação dos respectivos resíduos.

Observa-se assim que a atuação regulatória da ANVISA baseia-se fundamentalmente em ações pré e pós-mercado. As ações pré-mercado incluem, entre outras: a expedição de autorização de funcionamento para os estabelecimentos e serviços aptos a atuar nas áreas sujeitas à regulação sanitária; a emissão de Certificados de Boas Práticas de Fabricação; o registro de produtos, cuja análise se baliza na comprovação da eficácia e segurança dos produtos sujeitos à vigilância sanitária; o controle sanitário de Portos, Aeroportos e Fronteiras, que visa à proteção à saúde do viajante, dos meios de transporte e dos serviços submetidos a vigilância sanitária, e a anuência e isenção de produtos, insumos e da tecnologia a eles relacionados.

As ações pós-mercado dizem respeito às ações de fiscalização e monitoramento, como as realizadas no âmbito da vigilância pós-uso ou pós-comercialização. Incluem, ainda, a regulação econômica do mercado farmacêutico e as ações de monitoramento da propaganda de produtos sujeitos à vigilância sanitária.

Considerando o exposto, fica evidente a interface das ações da ANVISA com o desenvolvimento tecnológico do País. Nesse sentido, vale reiterar que a regulação sanitária deve ser considerada um ponto estratégico para o desenvolvimento tecnológico do país. Uma regulação sanitária eficiente permitirá que sejam disponibilizados produtos eficazes e seguros, que poderão ser inseridos no mercado em menor prazo, movimentando a economia do País e conferindo à indústria nacional maior competitividade no mercado internacional. Pelo contrário, em um ambiente de regulação frágil, produtos eficazes e seguros concorrem com produtos de baixa qualidade, enfraquecendo a economia do país e colocando a saúde da população em risco.

A ANVISA tem atuado de maneira articulada ao Ministério da Saúde, acompanhando e participando ativamente dos desdobramentos de cooperações firmadas pelo Governo Federal, cujo intuito é o de fomentar o desenvolvimento tecnológico do parque fabril nacional. Um exemplo é o Acordo de cooperação técnica, científica e tecnológica que foi firmado entre o Brasil e o Governo da República de Cuba, que contempla, entre outras áreas, a produção de medicamentos, inclusive os oriundos de biotecnologia. Com iniciativas dessa natureza vislumbra-se a possibilidade de fornecer à população

brasileira medicamentos novos, eficazes, a custos menores e que respondam a necessidades em saúde não atendidas.

Nesse sentido, deve-se citar também o registro do kit NAT HIV/HCV, deferido pela ANVISA em dezembro de 2010, para Bio-Manguinhos/Fiocruz. O produto usa a tecnologia do Teste de Amplificação de Ácidos Nucléicos (NAT), desenvolvida para a detecção do ácido nucléico do Vírus HIV e do Vírus da Hepatite C em bolsas de sangue destinadas à transfusão. O teste permite identificar os vírus precocemente e em níveis de anticorpos indetectáveis, em comparação aos testes sorológicos tradicionais, reduzindo o período de janela imunológica. O produto foi desenvolvido por um consórcio público formado por Bio-Manguinhos, Universidade Federal do Rio de Janeiro e Instituto de Biologia Molecular do Paraná, sob coordenação do Ministério da Saúde e com a participação da ANVISA, havendo a previsão que seu custo seja até quatro vezes inferior ao dos produtos similares comercializados por empresas privadas multinacionais.

Outra iniciativa que merece destaque são as medidas que vem sendo discutidas, junto ao Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT), que visam desburocratizar e simplificar os procedimentos para as importações de insumos e equipamentos destinados à pesquisa científica, com a consequente redução do tempo para a sua liberação. Tais medidas estão em discussão e deverão ser conjuntamente adotadas por diversos órgãos da administração pública além da ANVISA, a saber: Conselho Nacional de Pesquisa Científica e Tecnológica (CNPq), Receita Federal, Empresa Brasileira de Infraestrutura Aeroportuária (Infraero) e Sistema de Vigilância Agropecuária (Vigiagro). A expectativa é que o sistema seja inicialmente implantado como um projeto piloto no Terminal de Cargas da Infraero em Guarulhos (São Paulo), que concentra, atualmente, aproximadamente 60% das importações voltadas à pesquisa no País. Cabe ressaltar que os procedimentos para importação e liberação de produtos sob vigilância sanitária com a finalidade de pesquisa científica estão dispostos na Resolução RDC nº 1/2008, e no Capítulo XIX da Resolução RDC nº 81/2008.

Em relação à área de produtos para saúde, um estudo prospectivo sobre o setor de equipamentos médicos, hospitalares e odontológicos realizado pela ABDI aponta que no País há aproximadamente 500 fabricantes desses produtos. Desses, 52,20% são indústrias de médio porte e 25,7%, micro ou pequenas empresas. Entretanto, embora o setor esteja em evolução, a balança comercial ainda é deficitária. Em 2009, o país importou US\$ 2,70 bilhões enquanto as exportações alcançaram US\$ 580 milhões.

Dados da ANVISA indicam que, atualmente, aproximadamente 85% dos processos de registro de equipamentos médicos e implantes ortopédicos não são aprovados na primeira solicitação, recebendo ao menos uma exigência em decorrência de ausência de um documento, de um teste ou mesmo devido à falta de clareza na prestação das informações. A consequência direta desse fato é o retrabalho gerado tanto para

requerente, quanto para a autoridade sanitária, bem como os custos associados, e o atraso na entrada de produtos no mercado.

Dessa maneira, com vistas a estimular a competitividade e melhorar a qualificação das empresas nacionais, especialmente das micro e pequenas que fabricam produtos sujeitos à regulação sanitária, relacionados direta ou indiretamente à saúde, foi firmado Acordo de Cooperação Técnica entre a ANVISA, a Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial (ABDI) e o SEBRAE. No escopo desse Acordo, foram previstas uma série de ações estratégicas, dentre as quais a realização, no ano de 2010, de seis Seminários em diferentes estados brasileiros com o objetivo de esclarecer os fabricantes de equipamentos médicos e implantes ortopédicos sobre as exigências legais e operacionais para fabricação, registro e comercialização desses produtos.

As diversas iniciativas adotadas pela ANVISA objetivando a indução ao desenvolvimento tecnológico indicam que a Agência tem assumido, dentro de suas competências como autoridade regulatória nacional, o papel fundamental que lhe cabe, tendo como objetivo final a promoção e a proteção da saúde da população.

18. Avanços e desafios em imunização na América Latina - Brendan Flannery

Successes and Challenges in Immunizations in Latin America

Apresentação de Brendan Flannery,

Consultor em Imunizações, Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS/OMS)

In May, 2011, the same month in which this Second International Symposium on Immunobiologicals takes place, the British medical journal *The Lancet* launched a historic series of articles looking at the Brazilian health system.² The series highlighted significant improvement in maternal and child health and control of infectious diseases in Brazil. An article in the series by Mauricio Barreto of the *Instituto de Saúde Coletiva* at the Federal University of Bahia and colleagues highlights Brazil success in the control of vaccine-preventable diseases, including poliomyelitis, measles, tetanus, pertussis and *Haemophilus influenzae* type b, as well as the substantial increase in domestic production of vaccines by *Instituto Butantan* and BioManguinhos during the past 20 years.³ By working in the field of vaccines, all of you present play a part in this success story and you should be proud of this achievement.

Because of its large birth cohort (approximately 3 million children born each year), Brazil is one of 68 priority countries being monitored by the Countdown to 2015 for Maternal, Newborn, and Child Survival initiative for progress towards achieving Millennium Development Goal 4 (MDG4), which calls for a two-thirds reduction in child mortality between 1990 and 2015.⁴ In 2006, all six priority countries in the Americas (Bolivia, Brazil, Guatemala, Haiti, Mexico and Peru) were on track to meet MDG4, while only 10 of the 62 priority countries in other regions of the world were making sufficient progress. Much of the reduction in child mortality in Brazil has been achieved by preventing deaths in the first year of life, especially during the postneonatal period (after 30 days of life), when vaccines and life-saving therapies have their greatest effect.⁵ Better yet, improvements in child survival have been observed in all five regions of Brazil (North, Northeast, Central-West, South and Southeast) and among children of all socioeconomic strata.

² Health in Brazil. *The Lancet*, May 2011. Available at <http://www.thelancet.com/series/health-in-brazil>. Accessed 10 August 2011.

³ Barreto ML, Teixeira MG, Bastos FI, Ximenes, RAA, Barata RB, Rodrigues LC. **Successes and failures in the control of infectious diseases in Brazil: social and environmental context, policies, interventions, and research needs.** *Lancet* 2011;377:1877-89.

⁴ Countdown Coverage Writing Group. Countdown to 2015 for maternal, newborn, and child survival: the 2008 report on tracking coverage of interventions. *Lancet* 2008;371:1247-58.

⁵ Barros FC, Matijasevich A, Requejo JH, Giugliani E, Goretti Maranhão A, Monteiro CA et al. Recent trends in maternal, newborn, and child health in Brazil: progress toward Millennium Development Goals 4 and 5. *Am J Pub Health* 2010;100:1877-89.

Introduction of vaccines against rotavirus and *Streptococcus pneumoniae* (the pneumococcus), two of the leading causes of death in young children worldwide, is expected to accelerate the rate of progress towards MDG4. Countries in the Americas have been among the first to introduce second-generation rotavirus vaccines into their national immunization programs. Data from Mexico⁶ and Brazil⁷ show substantial reductions in diarrhea deaths and hospitalizations following the introduction of oral rotavirus vaccine. In Brazil, diarrhea mortality and hospitalizations dropped 22% and 17% over a three year period following introduction of rotavirus vaccination, resulting in 1.500 fewer deaths and 130.000 fewer hospitalizations among children younger than five years.

We can also compare the recommended immunization schedules in Brazil and other Latin American countries to those of the United States or Canada. In 2010, Brazil added 10-valent pneumococcal conjugate vaccine to the routine infant immunization calendar. The United States and Canada introduced pneumococcal conjugate vaccine in 2001 and 2002, respectively, and by 2010, 17 countries in the region were vaccinating young children against pneumococcal disease. In 2010, Brazil also introduced infant immunization with meningococcal group C conjugate vaccine, which is currently recommended in Canada while in the United States, quadrivalent meningococcal conjugate vaccine is recommended for adolescents. Brazil has been one of the leaders in Latin America in the use of seasonal influenza vaccine, with annual influenza vaccination campaigns targeting persons 60 years and over for more than 10 years. As of 2010, 18 of 20 Latin American countries had introduced seasonal influenza vaccination—the influenza A (H1N1) pandemic increased use of influenza vaccine among pregnant women, persons with chronic diseases and young children, groups at higher risk of complications of influenza compared to the general population. As a result, in 2011, Brazil expanded target groups for annual vaccination against seasonal influenza to include these groups. Finally, several Latin American countries have introduced vaccines against human papilloma virus (HPV), the leading cause of cervical cancer, in their immunization programs for adolescent and pre-adolescent girls.

There are also many challenges ahead for Brazil's immunization program. Brazil must maintain high vaccination coverage and effective surveillance to prevent eliminated diseases such as poliomyelitis and measles from becoming re-established. Maintaining public confidence in vaccine safety is critical. Concerns about declining participation in national immunization days against poliomyelitis, especially among children in the

⁶ Richardson V, Hernandez-Pichardo J, Quintanar-Solares M, Esparza-Aguilar M, Johnson B, Gomez-Altamirano CM et al. Effect of rotavirus vaccination on death from childhood diarrhea in Mexico. *New Eng J Med* 2010;362:299-305.

⁷ do Carmo GM, Yen C, Cortes J, Siqueira AA, de Oliveira WK, Cortez-Escalante JJ et al. Decline in diarrhea mortality and admissions after routine childhood rotavirus immunization in Brazil: a time-series analysis. *PLoS Med.* 2011;8:e1001024.

highest socioeconomic stratum,⁸ led the National Immunization Advisory Committee (*Comite Técnico Assesor de Imunizações*) to recommend introduction of inactivated polio vaccine into the routine infant immunization schedule to prevent rare cases of poliomyelitis associated with oral polio vaccine. Brazil's national immunization program plans to introduce a sequential schedule beginning with two doses of inactivated polio vaccine followed by two doses of oral polio vaccine in 2012.

Lower vaccination coverage among children in families of higher socioeconomic status is also concerning because children of wealthier families are more likely to travel internationally where they may be exposed to measles and other diseases that have been eliminated in Brazil. In the United States, parent refusal to vaccinate their children against measles is a major contributor to measles outbreaks associated with measles virus importations from other regions. Unfounded claims about risks of measles vaccination have led to low measles coverage in several European countries where large measles epidemics have been occurring; in 2010 and 2011, Brazil suffered several measles outbreaks associated with travelers to and from European countries.

As more vaccines are added to the infant immunization schedule, use of combination vaccines will be increasingly important to take advantage of existing opportunities for immunization without increasing the number of injections required. However, combination vaccines may have different safety profiles and adverse events must be closely monitored. For example, children in the United States who received a combination measles-mumps-rubella-varicella vaccine had twice the rate of febrile convulsions as children who received MMR and varicella vaccines simultaneously but in separate injections.⁹

Studies may also be conducted to evaluate whether the number of vaccine doses required to immunize children against a specific disease can be reduced. For example, immunogenicity studies conducted in the United Kingdom suggested that two doses of meningococcal conjugate vaccine were equivalent to three doses in the first year of life,¹⁰ or that a single booster dose of pneumococcal conjugate vaccine was sufficiently immunogenic in the second year of life.¹¹ Reduced schedules may result in substantial

⁸ Mello MLR, Moraes JC, Barbosa HA, Flannery B. Participação em dias nacionais de vacinação contra poliomielite: resultados de inquérito de cobertura vacinal em crianças nas 27 capitais brasileiras. *Rev Bras Epidemiol* 2010;13:278-88.

⁹ Centers for Disease Control and Prevention. Available at www.cdc.gov/vaccines. Accessed 5 May, 2011.

¹⁰ Southern J, Crowley-Luke A, Borrow R, Andrews N, Miller E. Immunogenicity of one, two or three doses of a meningococcal C conjugate vaccine conjugated to tetanus toxoid, given as a three-dose primary vaccination course in UK infants at 2, 3 and 4 months of age with acellular pertussis-containing DTP/Hib vaccine. *Vaccine* 2006;24:215-9.

¹¹ Goldblatt D, Southern J, Ashton L, Richmond P, Burbidge P, Tasevska J et al. Immunogenicity and boosting after a reduced number of doses of a pneumococcal conjugate vaccine in infants and toddlers. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25:312-9.

cost savings for governments as well as reducing the number of injections given at a single visit to a health center. Innovations such as new-generation needle-free injection devices may offer alternatives to use of needles for delivery of vaccines, both reducing the risk of needle-stick injuries among healthcare professionals and the amount of hazardous medical waste for disposal.

Finally, surveillance for adverse events following immunization in Brazil will increasingly gain importance as other countries look to Brazil for information about the safety of vaccines used in this country before other countries, or on a much larger scale. For example, Brazil and Mexico participated in an evaluation of intussusception risk following rotavirus vaccination that documented short-term increased risk of intussusception, especially following the first dose of oral rotavirus vaccine among children in Mexico.¹² Based on review of potential risks along with documented benefits of vaccination mentioned earlier, the Global Advisory Committee on Vaccine Safety of the World Health Organization supported the continued use of oral rotavirus vaccines.¹³ In another example, in response to the emergence of pandemic influenza A(H1N1) in 2009, more than 89 million doses of pandemic influenza vaccines were administered in Brazil. Reports of increased incidence of febrile convulsions among children who received trivalent seasonal influenza vaccine in Australia¹⁴ or reports of narcolepsy following receipt of pandemic influenza vaccine in several European countries,¹⁵ led to a re-examination of reported adverse events following receipt of pandemic influenza vaccines in Brazil.

Brazil's success in the control of vaccine-preventable diseases is recognized worldwide. It is important to document the lessons learned in Brazil that may be useful as other countries pursue measles and rubella elimination, or as they introduce new vaccines. As the immunization program continues to expand, Brazil will face challenges both to maintain public trust in vaccines and to monitor the safety and impact of immunizations.

¹² Patel MM, López-Collada VR, Bulhões MM, De Oliveira LH, Bautista Márquez A, Flannery B et al. Intussusception risk and health benefits of rotavirus vaccination in Mexico and Brazil. *N Engl J Med.* 2011;364:2283-92.

¹³ World Health Organization. Rotavirus vaccine and intussusceptions. *Weekly Epidemiol Record* 2011;86:37-44.

¹⁴ Department of Health and Ageing. Investigation into febrile convulsions in young children after seasonal influenza vaccination, Interim findings and recommendations. Australian government, 1 June 2010.

¹⁵ World Health Organization. Statement on narcolepsy and vaccination. 21 April 2011.

19. Tendências tecnológicas do desenvolvimento de vacinas – Julie Milstien

Technological Trends in Vaccine Development

Julie B Milstien, PhD

University of Maryland School of Medicine

Introduction

Advances in technology have brought us to the threshold of a new era in vaccine development. Not only will new technologies in vaccine R&D allow the development of new constructs against some of the more difficult disease-producing organisms. In addition, rational design, predicting the impact of a vaccine candidate on the immune system of the recipient, and eventually its safety and efficacy, will become possible.

New technologies will mean new parameters in vaccine manufacture and see a change in emphasis in how vaccine production is done. Tomorrow's vaccine producers will be increasingly concerned with computer software and its validation, for example. These manufacturing changes will in turn impact vaccine regulation.

Perhaps more importantly, these new technologies will impact regulatory and public health strategies, with more importance given to improving vaccine safety, resulting in larger clinical trials and more stringent risk management. This is already happening.

Finally, these advances in technology will mean changing roles in the public health sector. As vaccines become more expensive the role of immunization partners will be increasingly focused on market shaping.

This paper aims to understand potential future changes so as to be able to react to them constructively – a challenge as technology continuously advances, but it can only skim the surface of the changes in store.

Historical view of vaccine technology trends

- The beginnings. The history of vaccine development has been traced in many publications and will not be recounted here,¹⁶ starting from smallpox vaccine in 1798.¹⁷ Early vaccines were relatively crude suspensions or powders of killed or inactivated (rabies, pertussis) or live attenuated (BCG, yellow fever, oral poliovaccine) organisms, or partly purified and toxoided protein toxins (diphtheria and tetanus toxoids). These vaccines were controlled by testing of characteristics, usually through animal tests as well as by field trials. Regulatory oversight as we know it today did not exist, and so,

¹⁶ MM Levine, R Lagos, J Esparza. Vaccines and vaccination in historical perspective. New Generation Vaccines 4th Edition. MM Levine et al, eds. 2010. New York: Informa Healthcare, Chapter 1, pp 1-11.

¹⁷ J Milstien. Regulation of vaccines : strengthening the science base. Journal of Public Health Policy. 2004. Vol 25 No 2: pp 173-189.

not unexpectedly, there were some calamities.¹ Each of these resulted in important lessons learned and changes in the way vaccines were produced and controlled.

Figure 1. Drs. Harry Meyer and Paul Parkman and the development of rubella vaccine



- Classifications. As recently as 2010¹⁸ vaccines were characterized in the following categories: attenuated microbial cells, killed microbial cells, live attenuated viruses, killed viruses, purified polysaccharides, conjugated polysaccharides, purified proteins, excreted or cell associated, live microbial vectors, live viral vectors, and DNA vaccines, with manufacturing methods following these classifications. However, in this publication the authors state, “It is entirely possible that the biologics industry of the future may include entirely different classifications than those we deal with in this chapter.”
- History of regulation. Early aspects of vaccine regulation depended mainly on laboratory testing, mostly in animal systems, but as mentioned above, vaccine disasters such as the Cutter incident¹⁹ indicated the need for more control of process and product.

¹⁸ G Dietrich, J Milstien, S Jadhav, PC Stowe. Manufacturing of vaccines. New Generation Vaccines 4th Edition. MM Levine et al, eds. 2010. New York: Informa Healthcare, Chapter 15, pp 145-152.

¹⁹ CBER Vision Newsletter, Special Commemorative Issues July 2002, at <http://www.fda.gov/downloads/AboutFDA/WhatWeDo/History/ProductRegulation/100YearsofBiologicsRegulation/UCM070104.pdf>, accessed 5 March 2011.

Figure 2. Testing pertussis vaccine



Thus quality assurance guidelines were developed through the World Health Organization (WHO) Expert Committee on Biological Standardization (ECBS),²⁰ and an array of regulatory functions was defined.²¹ Stronger risk assessment and the adoption of state-of-the-art pharmaceutical science are now *de rigueur* in a competent regulatory authority.²²

- History of vaccine use. Earlier vaccines were delivered using immunization schedules mostly defined by trial and error. Newer vaccines intended for infants generally fit into the already existing infant immunization schedule of the Expanded Program on Immunization (EPI), with five contacts before the first birthday, at birth, six, 10 and 14 weeks, and nine months of age. For newer, more complex vaccines, newer delivery systems and schedules may be considered. One innovation is the development of newer adjuvants to complement or replace the aluminum salts that have been used almost exclusively for over 75 years.²³ New delivery technologies including oral, aerosol and powdered formulations administered by jet gun have been used. For some complex situations, the first and second dose of vaccine may be entirely different formulations, the first serving to prime the immune system, and the second to boost the vaccine response.

We will consider these technological innovations and their impacts in more detail below.

²⁰ Expert Committee on Biological Standardization. Forty-second Report. Guidelines for national authorities on quality assurance for biological products. Technical Report Series 1992. 822: Annex 2.

²¹ Expert Committee on Biological Standardization. Forty-fifth Report. Regulation and licensing of biological products in countries with newly developing regulatory authorities. Technical Report Series 1997. 858: Annex 1.

²² A Homma. Commentary. Regulation of vaccines. Journal of Public Health Policy 2004. Vol 25No 2: pp 190-196.

²³ RT Kenney and AS Cross. Adjuvants for the future. New Generation Vaccines 4th Edition. MM Levine et al, eds. 2010. New York: Informa Healthcare, Chapter 25, pp 250-262.

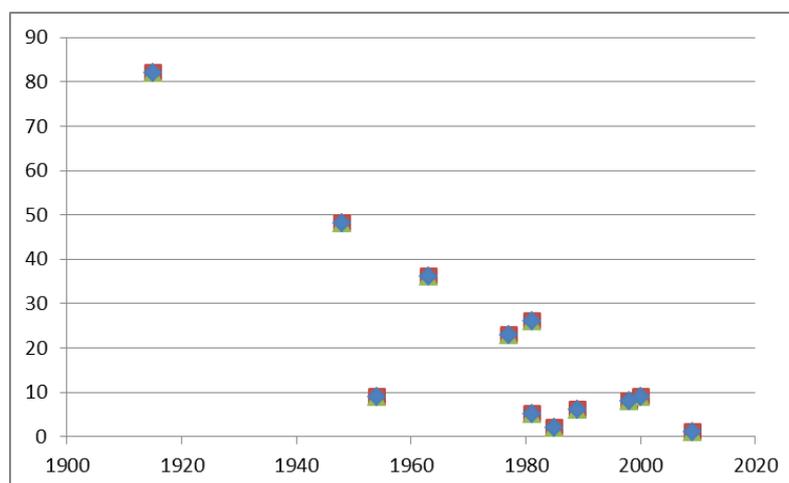
Trends in vaccine development

The number of new vaccines being introduced is rapidly increasing. According to the recently published US National Vaccine Plan,²⁴ “a child born today can be protected against 17 diseases and conditions, while one born in 1995 could be protected against only nine.” Even children in the poorest countries of the world are being offered through the GAVI Alliance²⁵ financial support to introduce more vaccines than the original six antigens covered in the EPI, including vaccines against hepatitis B, *Haemophilus influenzae* type b (Hib), measles (second dose), yellow fever, and rotavirus, as well as new pneumococcal (10- or 13-valent) and meningococcal type A conjugate vaccines.

Along with this is a trend for a shorter vaccine life cycle. Figure 3 shows that the time to replacement of vaccines is getting shorter. This means that manufacturers will attempt to optimize the useful life of a product by getting it to market as early as possible, which could result in products with less than optimal characteristics for the developing world.

Figure 3. Time to Second Generation Product after Original US Introduction

(Vaccines for which second generation products are represented in the figure include smallpox, diphtheria-tetanus-pertussis (DTP), inactivated poliovaccine (IPV) and enhanced IPV, oral poliovaccine (OPV), pneumococcal polysaccharide and pneumococcal conjugate 7-valent, 10-valent and 13-valent vaccines, hepatitis B, meningitis tetravalent polysaccharide and conjugate vaccines, Hib polysaccharide and conjugate vaccines, and rotavirus vaccine).



- Vaccine types. A classification of vaccine types, reflecting their manufacturing processes, has been presented above in part 2.b. But this list, published in 2010, is not

²⁴ US Department of Health & Human Services. The 2010 National Vaccine Plan, p 11.

²⁵ At http://www.gavialliance.org/vision/policies/new_vaccines/index.php, accessed 7 March 2011.

complete. New advances in biotechnology are being used to generate additional types of vaccines, where use of biotechnology to develop the seed lots differs from earlier products.

One example, represented, for example, by the recently developed human papilloma virus (HPV) vaccines, is virus-like particles (VLPs) produced using recombinant DNA technology. VLPs are self-assembled protein structures resembling the virus from which the protein comes, but devoid of nucleic acid. They in fact constitute an effective delivery system in that they induce strong antibody responses without adjuvants and also efficiently induce T-cell immunity.

Live chimeric vaccines are those in which the proteins of one type of virus are expressed on the backbone of a related virus type. For example, several dengue chimeric vaccines are in development. While the eventual manufacturing of these products is generally similar to the process used for live oral vaccines, the development of the seed lots depends on the development of infectious clones of the genomes of interest to construct genetically engineered chimeras.

Lipopeptide vaccines are essentially stabilized epitopes of a disease causing organism that can be used to induce protective immunity. To date these have not resulted in a vaccine, but studies have shown that a hepatitis B-specific cytotoxic T-lymphocyte response of comparable magnitude to that induced in acute virus infection could be induced by lipopeptide vaccination.²⁶

Some efforts to develop a malaria vaccine have used the concept of a whole organism vaccine – not so innovative when the whole organism is a virus or bacterium, but more complex when it is a whole parasite or sporozoite. Some of these products have shown promising results although the challenges to their production and use seem formidable.²⁷

Not a new type of vaccine but a novel way of delivering antigens is the “prime-boost” strategy, in which the first antigen delivered may be one that does not result in immediate protective immunity but primes the immune system so that the second antigen can then elicit durable protective immunity.²⁸

²⁶ BD Livingston, C Crimi, H Grey et al. The hepatitis B vaccine specific CTL responses induced in humans by lipopeptide vaccination are comparable to those elicited by acute viral infection. *J Immunol* 1997. 159 (3): 1383-1392.

²⁷ SL Hoffman, B Kim Lee Sim, A Richman, A Pinzon-Charry, MF Good, J McCarthy. Pre-erythrocytic and asexual erythrocytic stage whole-organism malaria vaccines. *New Generation Vaccines 4th Edition*. MM Levine et al, eds. 2010. New York: Informa Healthcare, Chapter 71, pp 783-789.

²⁸ See MJ Newman, Heterologous prime-boost vaccination strategies for HIV-1: augmenting cellular immune responses. *Current Opin Investig Drugs* 2002 Mar. 3 (3)/ 347 – 348 for an overview.

- Trends in adjuvants, vehicles and carriers. For decades the sole adjuvants contained in licensed vaccines were aluminum salts, a situation which has changed only recently. A recent publication has provided a comprehensive list of modern vaccine adjuvants, carriers, and vehicles.⁸ Table 1 shows these classes of products with examples (adapted from reference 8).

Table 1. Classification of Adjuvants, Carriers, and Vehicles (adapted from reference 8)

Class	Type	Example
Adjuvant	Mineral salts	Aluminum hydroxide
	Mycobacterial, bacterial and plant derivatives	Complete Freund's adjuvant
	Surfactants	Saponin
	Polymers	Double stranded polynucleotides
	Cytokines, vitamins, hormones	IFN- γ
	Synthetic constructs	Linear polymerization of haptens
Carrier	Proteosomes	Meningitis outer membrane protein
Vehicle	Mineral oils and emulsions	MF-59

Some of these have been licensed in Europe for several years. Novartis' adjuvant, MF59, has been licensed for use in Europe since 1997 as part of a seasonal influenza vaccine, and 45 million commercial doses have been distributed. It provides protection against drifted strains. It has also been used in pandemic influenza vaccines.²⁹ GSK has an HPV vaccine which contains their proprietary adjuvant, ASO4, which is now licensed by the US Food and Drug Administration (FDA).³⁰

Not covered in this short overview are the many different ways of delivering vaccines under investigation, exploiting their characteristics and aiming for better immune responses. These include jet injectors, and oral and aerosol routes with new adjuvants, new doses and new delivery schedules.

- Rational design of vaccines. Advances in analyzing and understanding the genome have advanced to such a point that vaccine development has basically changed. The new approach, called 'reverse vaccinology',³¹ starts from the genetic sequence of the disease-causing organism, which is used as a starting point for finding potential vaccine candidates. Another useful advance is the better understanding of the immune system which now allows an enhanced ability to design vaccine candidates that might be likely to elicit the desired immune response.³²

²⁹ <http://www.flutrackers.com/forum/showthread.php?p=279327>, accessed 8 March 2011

³⁰ http://www.gsk.com/media/pressreleases/2009/2009_us_pressrelease_10056.htm, accessed 8 March 2011.

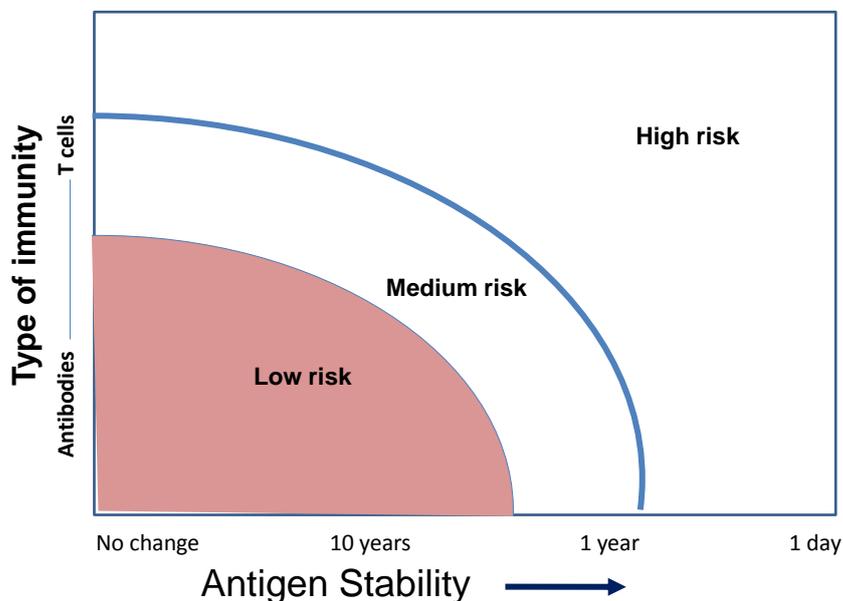
³¹ R Rappouli. Reverse vaccinology. *Curr Opin Microbiol* 2000. 3 (5): 445-450.

³² MB Sztein, R Ahmed, S Crotty. Recent advances in immunology that impact vaccine development. *New Generation Vaccines* 4th Edition. MM Levine et al, eds. 2010. New York: Informa Healthcare, Chapter 17, pp 166-182.

A recent study by Gaucher et al³³ analyzed the 17D yellow fever vaccine using gene-expression array analysis and evaluating immune responses. This study used genomics not for identification of new vaccine antigens, as done by Rappouli,³⁴ but as a mechanism to evaluate vaccine-induced immune responses.³⁵ The analysis in reference 20 suggests that genomics may be useful in the identification of correlates of protection, which could thus simplify clinical trials and prediction of vaccine potency.

In a further analysis, Rappouli et al have constructed a diagram that could be useful in understanding whether or not a vaccine development approach could be successful, based on the stability of the antigen and the type of immunity (T cell or antibody) induced.³⁶ Figure 4 illustrates this approach schematically.

Figure 4. Risk of failure of vaccine candidates with different characteristics (adapted from reference 20)



Thus, advances in biotechnology are changing the face of how vaccines are developed and may be adapted to better predict success of various constructs.

³³ D Gaucher, R Therrien, N Kettal et al. Yellow fever vaccine induces integrated multilineage and polyfunctional immune response. *J Exp Med* 2008. 205 (13): 3119-3131.

³⁴ S Bambini, R Rappouli. The use of genomics in microbial vaccine development. *Drug Discov. Today* 2009. 14: 252-260.

³⁵ N Ahmed, S Gottschalk. How to design effective vaccines: lessons from an old success story. *Expert Rev Vaccines* 2009. 8 (5): 543-546.

³⁶ R Rappouli, G Douglas, I Delany. Developing vaccines in the era of reverse vaccinology. *New Generation Vaccines 4th Edition*. MM Levine et al, eds. 2010. New York: Informa Healthcare, Chapter 2, pp 12-24.

Changes in vaccine manufacture

- Traditional vaccine manufacture. The tools of vaccine production 20-50 years ago, and still now in some developing country facilities, were generally flasks for bacterial growth on shakers, and cell culture bottles, as shown in Figure 1. Vaccine manufacture was largely empirical and intuitive. Although a seed lot system was in use, and care was taken to document the history of these lots, the production process was not strictly in control in terms of temperature, pH, and concentrations and purity of nutrients.

- New equipment, new starting materials, and the impact of Good Manufacturing Practice (GMP). A major change in vaccine manufacture took place when vaccine production began to be carried out in fermenters, closed systems which assured not only sterility, but also better environmental control. This was applied first to bacterial vaccine but was also useful for cell culture platforms on microcarriers. A second major change was the precise definition of substrates, whether bacterial cells, yeast, or animal cells in culture. A recent advance has been the development of well-characterized continuous cell lines approved for viral vaccine production.³⁷ Reference 22 describes some of the considerations in developing such substrates, the kinds of documentation necessary, and the flexibility they provide in vaccine production.

Perhaps the most far-reaching change in vaccine manufacture has been the requirement for adherence to the principles of GMP.^{38,39, 40} This includes strict documentation practices, including written Standard Operating Procedures (SOPs) for all steps, an attention to appropriate validation for all laboratory tests used to characterize raw materials, intermediate and final products, and stringent calibration and validation to performance criteria of all equipment used in the manufacturing process. In addition, control of the environment, airflow and particle counts, water purity, and segregation of processes is required. This has been viewed as a barrier to entry into vaccine production as it is practiced today, especially for emerging manufacturers. The impact of these changes on these manufacturers has been described.⁴¹ These authors postulate that enforcement of GMP compliance has been a key driver in the increased sourcing of vaccines for public sector immunization programs from emerging manufacturers.

³⁷ PN Barrett, W Mundt, O Kistner, MK Howard. Vero cell platforms in vaccine production: moving towards cell culture-based viral vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2009. 8 (5): 607-618.

³⁸ Federal Register. Drugs: current good manufacturing practices in manufacture, processing, packing, or holding. Part 133, 28 CFR 6385, 20 June 1963.

³⁹ Expert Committee on Biological Standardization. Good manufacturing practice guidelines for biological products. Technical Report Series 1992. 822: Annex 1.

⁴⁰ ICH Harmonized Tripartite Guideline Q7A : GMP guide for active pharmaceutical ingredients. Final version. November 2000.

⁴¹ J Milstien, A Costa, S Jadhav, R Dhere. Reaching international GMP standards for vaccine production: challenges for developing countries. *Expert Rev Vaccines* 2009. 8 (5): 559-566.

- Looking toward the future: the impact of genomics and increasing computer control. Already mentioned above is the impact of genomics on vaccine design. Increased use of biotechnology to develop constructs as vaccine candidates means that the vaccine production laboratory will need a major investment in recombinant DNA technology. Even if the vaccine seeds are developed elsewhere, there will still be a need for increasingly sophisticated tests to characterize the seeds and to assure their stability. Moreover, all the steps of production, from control of raw materials to bulk production and purification, to filling, finishing and distribution of products as well as clinical trials and safety monitoring will be increasingly under computer control. Dossiers and adverse event reports will be filed electronically. This means that computer software, security, and validation will be major expenditures.

Changing regulatory strategies

- Traditional regulatory modes. In the early days of vaccine production, the role of the testing laboratory was paramount. Most biological products were living or formerly living organisms tested in biological systems. This required an extensive assortment of biological standards and reference reagents to standardize the tests.^{2, 42} But as products become more sophisticated, the tests have become more sophisticated. In addition, there is increasing dependence on

- Adequately characterized starting materials,
- Adequately validated production processes, and
- Demonstration of consistency of production, among other things.⁴³

An extremely important concept is that of correlates of protection that can be assured in the laboratory.⁴⁴ With these in hand the need for clinical trials could be reduced.

- New trends in regulation: characterization of vaccine starting materials. As GMP becomes more important the idea of characterization of suppliers and sources has evolved. However, a new change is the need for sophisticated genetic characterization necessary for products developed through genomics.⁴⁵

- New trends in regulation: increasing complexity. As products have become more complex, it is increasingly more difficult for a regulatory agency to have on board the expertise to rigorously review all the aspects of a dossier. Thus the need for experts in different aspects: toxicologists, those understanding principles of cleaning and sterility,

⁴² See http://www.who.int/biologicals/reference_preparations/en/, accessed 10 March 2011.

⁴³ N Dellepiane, E Griffiths, JB Milstien. New challenges in assuring vaccine quality. Bull WHO 2000. 78 (2): 155-162.

⁴⁴ SA Plotkin. Correlates of protection induced by vaccination. Clin Vacc Immunol 2010. 12 (7): 1058-1065; SA Plotkin. Vaccines: correlation of vaccine-induced immunity. Clin Infect Dis 2008. 47(3): 401-409; SA Plotkin. Immunologic correlates of protection induced by vaccination; Pediatr Infectious Dis J 2001. 20 (1): 63-75.

⁴⁵ See, for example, Guideline on quality, clinical and non-clinical characteristics of live recombinant viral vectored vaccines. EMA/CHMP/VWP/141697/2009, 24 June 2010, at http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/08/WC500095721.pdf, accessed 10 March 2011.

those versed in epidemiology and organism spread, those knowledgeable in the molecular biology of nucleic acid structures, experts in the human immune response, and experts in equipment calibration and validation, to name a few. Some regulatory agencies count on a large staff of experts to respond to all these needs; others rely on *ad hoc* consultants and expert advisors to provide needed expertise.

In some cases less developed, or even more developed, regulatory agencies have assembled criteria to accept certain of the decisions of other agencies. For example, the ICH process, where a group of experts on a particular issue, for example, stability testing, develops guidelines that are then adopted by participating regulatory agencies.⁴⁶ Similar types of guidelines emerge from deliberations of the ECBS.⁴⁷

Finally, the idea of joint review has arisen. This has been implemented through the European Medicines Authority with review by the Vaccine Working Party. It has also been used as a way to strengthen regulatory authorities in particular areas through a twinned approach (Joint file review by the Indian and Canadian regulatory agencies, for example).⁴⁸ WHO has used this process as a mechanism for capacity building of regulatory agencies, through the Developing Countries Vaccine Regulators Network.⁴⁹

Changing consumers

- Historical situation. Immunization has been a pillar of the public health system. When infectious diseases were rampant in the developed world, mothers rushed to get their children protected, for example, against poliomyelitis, and the vaccines' developers were seen as national heroes.⁵⁰

Figure 5. Nation's Gratitude: Shopkeeper expresses a nation's gratitude for Dr. Salk's discovery: April 13, 1955.

Photo Credit: March of Dimes Birth Defects Foundation.

⁴⁶ At

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC50002651.pdf, accessed 10 March 2011.

⁴⁷ At

<http://www.who.int/biologicals/publications/meetings/areas/vaccines/stability/Stability%20Report%20June%202004%20GVA.pdf>, accessed 10 March 2011.

⁴⁸ See <http://www.globalhealth.gov/topics/01122010fvaccineworkshoppresentation.pdf>, accessed 10 March 2011.

⁴⁹ Richard Mahoney, Liliana Chocarro, James Southern, Donald P. Francis, John Vose, Harold Margolis. Dengue Vaccines Regulatory Pathways: A Report on Two Meetings with Regulators of Developing Countries. PLOS Med 2011. 8 (2) e1000418. doi:10.1371/journal.pmed.1000418.⁵⁰ See

<http://perryjgreenbaum.blogspot.com/2010/12/polio-vaccine.html>, accessed 11 March, 2011.

⁵⁰ See <http://perryjgreenbaum.blogspot.com/2010/12/polio-vaccine.html>, accessed 11 March, 2011.

Source: March of Dimes Birth Defects Foundation; in book: Smith, Jane S. (1990).

Patenting the Sun: Polio and The Salk Vaccine. New York: William Morrow. [ISBN 0688094945](#)



In contrast, in recent years, as vaccine-preventable diseases become rarer, even a tenuous possibility of an adverse reaction can depress immunization rates.⁵¹

- Increasing importance of the private sector. Though traditionally vaccines were given first and for the most part in the public sector, now, even in developing countries the role of the private sector as the leader in vaccine adoption in any given country has become more important,⁵² and has contributed to the rise in state-of-the-art manufacturing facilities in countries such as India,⁵³ where profit margins can be larger and product advertising more important in product choice.

⁵¹ Fiona Godlee, Jane Smith, Harvey Marcovitch. Wakefield's article linking MMR vaccine and autism was fraudulent. *BMJ* 2011.342:c7452

⁵² The market for vaccines made by the private sector is estimated at \$120 million (Rs 560 crore). E Kumar Sharma. The vaccine immunity bug bites. *Business Today*, 5 August 2010, at <http://businesstoday.intoday.in/bt/story/the-immunity-bug-bites/1/5896.html>, accessed 11 March 2011.

⁵³ Private market share for vaccines is 15 % of total in India. Vaccinating infants: the risk to India's newborns. At http://preventdisease.com/news/10/062210_vaccinating_newborns_india.shtml, accessed 11 March, 2011.

- Decreasing disease. When the EPI was first started, six vaccines against six important childhood diseases, infant complications of tuberculosis, diphtheria, tetanus, pertussis, measles, and poliomyelitis, were used. Gradually, new vaccines have been developed as other diseases have become more important in the industrialized world. Some of these are already being introduced in the developing world as well. But the emergence in importance of neglected tropical diseases has resulted in a change in the market. That is not to say that new diseases will not emerge for which vaccines will be of interest to all countries, such as pandemic influenza. But the profile of needed products is diverging in industrialized and developing countries. This has implications for product development and regulation.

Changing role of public health organizations

- New partnerships promoting increased access to vaccines. With the initiation of first, the Children's Vaccine Initiative,⁵⁴ and then the GAVI Alliance,⁵⁵ and now many product development partnerships (PDPs)⁵⁶ with a goal of promoting access to vaccines and vaccination, the role of organizations that are partners in public health has vastly changed, from a previous role as donors or a limited role in setting global norms and standards. In fact these partnerships may catalyze research and development for vaccines targeted at neglected tropical diseases, carry out critical clinical trials in the developing world, support regulatory strengthening, put together data on cost effectiveness, explore ways to lower prices, support country decision making related to epidemiology, disease burden and treatment costs, and work for price affordability.
- Public protection strategies. The role of the public sector in supporting availability of vaccines and other medicines for certain public health protection issues such as bioterrorism or pandemic flu. The US government has for example commissioned vaccine development and maintained vaccine stockpiles through Project BioShield,⁵⁷ and recently published a document on the emerging Medical Counter Measures Enterprise.⁵⁸

⁵⁴ Violaine S. Mitchell, Nalini M. Philipose, and Jay P. Sanford, Editors. The Children's Vaccine Initiative: Achieving the Vision. Committee on the Children's Vaccine Initiative: Planning Alternative Strategies, Institute of Medicine. 1993

⁵⁵ See mission statement at <http://www.gavialliance.org/>, accessed 11 March 2011

⁵⁶ Laura Herman, Amanda Oudin, Elisabeth Gardiner, Florence Camus-Bablon, Don Douglas, on behalf of the PDP Access Steering Group. PDP Access Strategy Discussion Paper, October 2010, at http://www.fsg.org/Portals/0/Uploads/Documents/PDF/PDP_Access_Strategy_Discussion_Paper.pdf?cpgn=WP%20DL%20-%20PDP%20Access%20Strategy, access 11 March 2011

⁵⁷ Frank Gottron. Project BioShield: Authorities, Appropriations, Acquisitions and Issues for Congress. July 7, 2010, at http://assets.opencrs.com/rpts/R41033_20100707.pdf, accessed 11 March 2011.

⁵⁸ US Department of Health and Human Services. Assistant Secretary for Preparedness and Response. The Public Health Emerging Medical Counter Measures Enterprise Review. Transforming the Enterprise to Meet Long-Range National Needs. August 2010.

This development is the opposite of what has happened in the past regarding vaccine development in the US, where the trend has been capitalistic. But in cases of national security it is now the government investing in doses of vaccine for national use. This is not limited to the US only; in the case of pandemic influenza the US government, through the Biomedical Advanced Research and Development Authority (BARDA) has invested in strengthening vaccine production and regulation in other parts of the world.⁵⁹

- Managing the vaccine marketplace. Besides stimulating R&D and commissioning production of certain vaccines, these new partnerships are undertaking to shape the vaccine market, which GAVI, for example, intends to do through its procurement and supply strategies.⁶⁰ This is the first time a public health partner organization has set out to signal manufacturers in how the vaccine market should look on behalf of the developing world.

And manufacturers have responded. Their product portfolios are now including vaccines of primary interest to the developing world, and special R&D institutions have been set up for this purpose.^{61, 62} WHO is now signaling manufacturers as to product characteristics to best meet developing market needs through the PSPQ activity.⁶³ Regulatory agencies, even in the industrialized world (EMA's Article 58, ⁶⁴ FDA initiative on neglected tropical diseases⁶⁵) are attempting to develop regulatory strategies for vaccines for neglected tropical diseases. Finally the fruit of this technological revolution in vaccine development is being made available to the developing world.

Conclusions and projections

- The size of the vaccine market and variety of products has greatly increased in recent years due to the application of new technologies to vaccine development. The

⁵⁹ BARDA grants help build global flu vaccine manufacturing capacity, 30 September 2010, at <http://www.hhs.gov/news/press/2010pres/09/20100930d.html>, accessed 12 March 2011

⁶⁰ GAVI strategic goal 4, 2011-2015, at <http://www.gavialliance.org/vision/strategy/phase3/goal4/index.php>, accessed 12 March 2011

⁶¹ The Novartis Vaccine Institute for Global Health in Siena, Italy, dedicated to developing affordable vaccines for neglected infectious diseases, at <http://www.novartisvaccines.com/about-vaccines/novartis-vaccines-history/index.shtml>, accessed 12 March 2011.

⁶² MSD Wellcome Trust Hilleman Laboratories, committed to developing affordable vaccines for people in developing countries in an innovative and sustainable manner, at <http://www.hillemanlaboratories.in/index.html>, accessed 12 March 2011.

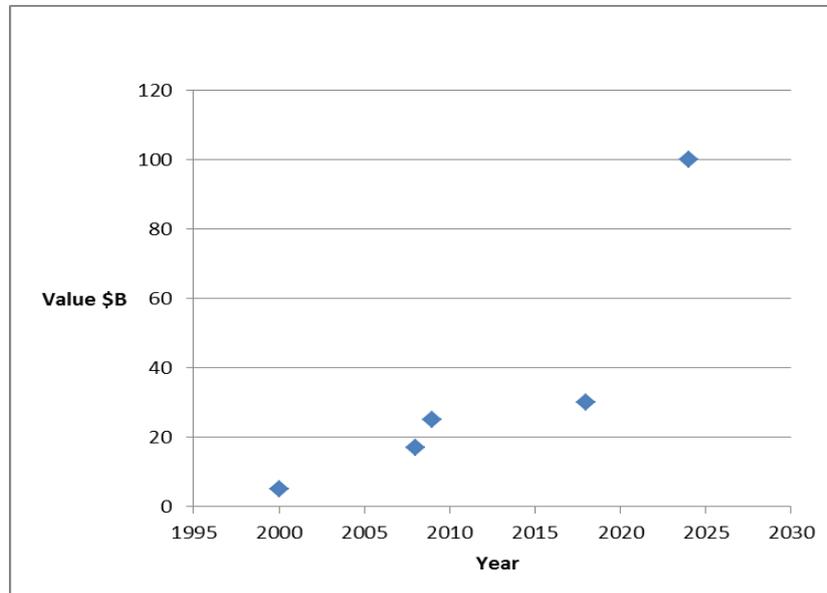
⁶³ Programmatic suitability for vaccine prequalification, see http://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/pspqwg1_draft4_27oct2010.pdf, accessed 12 March, 2011

⁶⁴ See WHO description of Article 58, at http://www.who.int/immunization_standards/vaccine_regulation/article_58/en/index.html, accessed 12 March 2011

⁶⁵ <http://www.fda.gov/NewsEvents/Testimony/ucm216991.htm>, accessed 12 March 2011

global vaccine market has tripled in value from \$5 B in 2000 to \$17 B in 2008 and is projected to rise from \$25 B in 2009 to \$30 B in 2018 and possibly to \$100B by 2024.⁶⁶

Figure 6. Increasing value of the vaccine market (see text for sources of figures)



- With this gain is also the increasing complexity both of the vaccines now available and of the market itself.
- This results in increasing regulatory complexity because of the technological nature of the products and also because of the differing epidemiology in target populations.
- Consumers are now more sophisticated about vaccines. They are willing to pay more but less willing to tolerate safety issues.
- Public health partners have proactively joined initiatives to promote affordable access to innovative vaccines against rare and neglected diseases. Properly managed, this situation can open a new era for both populations and the vaccine manufacturing world.

⁶⁶ Visiongain, The Global Vaccine Market, 2008-2023; Cliff Mintz, The New Vaccines Market, at http://www.lifescienceleader.com/index.php?option=com_jambozine&layout=article&view=page&aid=4034&Itemid=56, accessed 12 March 2011

VI. Resumos

DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS REACIONAIS DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA ERITROPOETINA VISANDO OTIMIZAÇÃO DO MAPEAMENTO PEPTÍDICO

Ana Paula de Araujo; Eduardo Ruback dos Santos; Hilton Jorge Nascimento; José Godinho da Silva Junior.

Laboratório de Macromoléculas (LAMAM), Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos), Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil.

A eritropoetina (EPO) é um hormônio produzido, principalmente, pelos rins, que regula a produção de células vermelhas do sangue. Trata-se de uma glicoproteína com 166 aminoácidos, três sítios de N-glicosilação e um de O-glicosilação. Apresenta massa molecular na faixa de 30-34 kDa, sendo aproximadamente 40% correspondente aos glicídeos. A EPO está disponível como agente terapêutico produzido através da tecnologia do DNA recombinante em cultura de células de mamíferos. A EPO humana recombinante (rHuEPO) é um biofármaco usado para o tratamento de anemia associada à insuficiência renal crônica.

Devido a relevância médica da rHuEPO, sua produção está sendo nacionalizada através do processo de transferência de tecnologia do *Centro de Inmunología Molecular* (CIM), de Cuba, para o Instituto de Tecnologia de Imunobiológicos (Bio-Manguinhos)/FIOCRUZ. O controle de qualidade sobre o processo produtivo da rHuEPO e seu produto final é bastante rigoroso. Neste contexto, o mapeamento peptídico é um dos mais importantes ensaios usados no controle em processo da produção de proteínas recombinantes, uma vez que assegura a integridade estrutural das proteínas ao final das etapas de suas purificações.

Este ensaio é baseado na hidrólise enzimática da proteína seguida por fracionamento dos peptídeos obtidos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi determinar os parâmetros da reação de hidrólise enzimática da rHuEPO visando otimizar a metodologia de mapeamento peptídico utilizada no controle em processo da produção deste biofármaco. Previamente, a preparação da rHuEPO fornecida pelo CIM foi avaliada quanto a sua homogeneidade e caracterizada por eletroforeses em gel de poliacrilamida (desnaturante e nativa), focalização isoeletrica, cromatografia de fase reversa e cromatofocalização. Para obter os peptídeos da rHuEPO, a hidrólise enzimática desta glicoproteína com a enzima tripsina foi avaliada em diferentes tempos de incubação e com relações enzima/substrato distintas.

O uso das endoproteinases Arg-C e Lys-C, como alternativa à tripsina, foi avaliado. Os peptídeos da rHuEPO foram fracionados por cromatografia de fase reversa utilizando uma coluna C18. As condições de hidrólise triptica capazes de hidrolisar mais de 99% da rHuEPO foram incubação de 1 hora a 37°C e relação E/S de 1/50 (p/p), usando-se a concentração de rHuEPO de 1 mg/mL. As endoproteinases Arg-C and Lys-C apresentaram baixo grau de hidrólise, em comparação à tripsina, empregando-se 1 hora de incubação e relação E/S de 1/50 (p/p). Para utilização dessas enzimas, seria necessário aumentar o tempo de incubação e/ou a quantidade de enzima adicionada, o que tornaria seu uso desfavorável, economicamente. A cromatografia de fase reversa

com a coluna Hi-Pore C18 apresentou um perfil peptídico do hidrolisado da rHuEPO com resolução satisfatória dos picos cromatográficos. Portanto, em comparação à metodologia usada no CIM, o tempo de incubação de hidrólise foi reduzido em 2 horas e a duração da corrida cromatográfica para obtenção do mapa peptídico diminuiu de 160 minutos para 58 minutos.

Palavras-chave: eritropoetina, mapeamento peptídico.

ESTUDO DA INFECÇÃO PELO TMEV EM CULTURAS DE CÉLULAS BHK-21 PARA AVALIAR A ATIVIDADE TERAPÊUTICA DO IFN- β HUMANO NA ESCLEROSE MÚLTIPLA.

Álvaro Jorge Velloso (Fiocruz/Bio-Manguinhos)

Marcia Terezinha Baroni de Moraes e Souza (Fiocruz/IOC)

Para testar a atividade biológica do interferon beta (INF- β) no tratamento da esclerose múltipla (EM), é importante que se tenha um modelo animal. Como a infecção pelo vírus da encefalomyelite murina de Theiler (do inglês TMEV Theilers Murine Encephalomyelitis Vírus) é capaz de evoluir para uma lesão desmielinizante similar a da EM em humanos, este estudo se propõe a estabelecer os parâmetros para avaliar a infecção do TMEV em culturas de células de rim de hamster neonato (do inglês BHK-21 Baby hamster kidney cells). Para tanto foi necessário adaptar a amostra viral TMEV BeAn à cultura BHK-21, estabelecer um ensaio de RT-PCR e padronizar um PCR em tempo real. Também foi construído um vetor plasmidial contendo o gen L* do TMEV para expressão transitória em células HEK-293-T e esta construção plasmidial foi utilizada para obtenção de um soro policlonal anti-L* utilizando a metodologia de imunização genética. Como resultados foram obtidos estoques virais de células BHK-21 infectadas pelo TMEV e parte destes estoques foram avaliados quanto à presença de moléculas genômica do TMEV, indicativa de replicação viral por ensaios de RT-PCR e quantificação por PCR em tempo real. As regiões do genoma do TMEV 3A3B e L* foram aquelas que forneceram melhores resultados nesta avaliação genômica quantitativa, que deverá ser aplicada para todos os estoques TMEV BHK-21 que foram obtidos. O vetor plasmidial de expressão células HEK-293-T pcDNA4His/Max contendo o gene L* expressou com sucesso transitoriamente esta proteína heteróloga, porém não foi capaz de induzir a formação de anticorpos policlonais anti-L* em coelhos, através da técnica de imunização genética.

Palavras chave: TMEV. Células. BHK-21.

METODOLOGIAS INICIAIS PARA IMPLEMENTAÇÃO DE UM ELISA PARA DETECÇÃO DO INTERFERON BETA HUMANO RECOMBINANTE.

Carina Cantelli Pacheco de Oliveira, Maria da Glória Martins Teixeira e Márcia Terezinha Baroni

Bio-Manguinhos/FIOCRUZ IOC/FIOCRUZ

O interferon beta (IFN-beta) é uma proteína globular consistindo de cinco cadeias a-helicais e como biofármaco é principalmente utilizado para o tratamento da esclerose múltipla (EM). A EM é uma doença até o momento sem cura e das terapias imunomodulatórias disponíveis para melhoria do quadro da EM, o IFN-beta é o biofármaco disponível mais bem caracterizado. Duas formas do IFN-beta humano recombinante são clinicamente utilizadas: IFN-beta-1a, produzida em células de ovários de hamster chinês (CHO), similar ao IFN-beta nativo; e a forma IFN-beta-1b, produzida em sistema de *Escherichia coli*, não possuindo moléculas de açúcar na cadeia polipeptídica expressa.

Testes para detecção e quantificação dos IFNs são principalmente do tipo ELISA sendo cruciais nos processos de desenvolvimento, monitoramento e no controle de qualidade, devido principalmente a relação sensibilidade/especificidade necessária. Os anticorpos monoclonais (MAbs) de alta afinidade, produzidos para estes testes são extremamente sensíveis e específicos e representam uma forma adequada de padronização de um ELISA para detecção e quantificação do IFN- β .

Neste estudo, quatorze MAbs anti-IFN-beta foram obtidos através da imunização genética, através da construção do vetor plasmidial pZeoSV2+ IFN-?, e parcialmente caracterizados. Todos reconheceram no ELISA o IFN-beta humano recombinante. Os MAbs anti-IFN-beta identificados como AE9, AG8, AE6, AH7, AA11, AB1 e AA4 foram os mais reativos. Todos os quatorze MAbs foram isotipados e apresentaram um perfil com simultânea expressão tanto de IgM quanto de IgG2a. Este perfil não usual foi confirmado pela reação em cadeia da polimerase precedida da transcrição reversa (RT-PCR) específica para IgG e IgM. Somente um MAb denominado AG8 reagiu em Western-blot com a isoforma monomérica de 18,0 KDa do IFN- β . Este estudo representou o primeiro passo em direção ao propósito de obtenção do ELISA descrito acima.

Palavras chaves: Interferon Beta humano recombinante; anticorpos monoclonais; imunização genética.

APLICAÇÃO DA CITOMETRIA DE FLUXO NA DETERMINAÇÃO DA POTÊNCIA DA ALFAEPOETINA HUMANA RECOMBINANTE.

Ana Rodrigues de Andrade*1, Damião Carlos Moraes dos Santos*2 e Denise Cristina de Souza Matos*3.

*1 Laboratório Físico-Químico - Bio-Manguinhos / Fiocruz

*2 Laboratório de Controle de Reativos para Diagnóstico - Bio-Manguinhos / Fiocruz

*3 Laboratório de Tecnologia Imunobiológica - Bio-Manguinhos / Fiocruz

INTRODUÇÃO

A eritropoetina é o hormônio responsável pela regulação da produção de células vermelhas e, por extensão, pela oxigenação tecidual.

A eritropoetina humana recombinante (rhEPO) produzida em laboratório e usada como medicamento é chamada de alfaepoetina e tem uso bastante disseminado, principalmente em pacientes com insuficiência renal crônica. O tratamento com rhEPO melhora bastante a vida de pacientes anêmicos e/ou em diálise, reduzindo a necessidade de transfusão de sangue.

Além da anemia por insuficiência renal crônica, a alfaepoetina humana recombinante tem sido recomendada principalmente para o tratamento de anemias associadas ao uso de zidovudina em pacientes com AIDS, ao uso de ribavirina durante o tratamento da hepatite C e também ao uso de quimioterápicos em pacientes com tumores malignos não-mielóides. Outras indicações para a rhEPO incluem tratamento de síndrome mielodisplástica, casos de doação de sangue autóloga, período perioperatório, artrite reumatóide e transplantes de medula óssea.

A grande demanda por este hormônio justifica o esforço de pesquisa não só para conhecimento de seus mecanismos de ação no organismo humano e desenvolvimento de processos de produção, como também para controle da qualidade do produto. É de grande importância o desenvolvimento de métodos de análise que diminuam a margem de erro e aumentem a precisão e a confiabilidade dos resultados, além de reduzir o tempo de liberação para o mercado.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é estudar o uso do método de citometria de fluxo na contagem de reticulócitos para o controle da atividade da alfaepoetina humana recombinante produzida por Bio-Manguinhos. Visando a implantação do método no Departamento de Controle de Qualidade (DEQUA), o desenvolvimento deste trabalho ocupou-se também em comparar a sua eficácia em relação ao processo atualmente utilizado, e a realizar os testes necessários à sua validação.

Os experimentos foram realizados segundo as Instruções de Trabalho estabelecidas em Bio-Manguinhos e o documento de instruções do marcador fluorescente utilizado (Retic-COUNT - BD Biosciences). Todos os procedimentos envolvendo animais foram autorizados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Fiocruz.

Para a comparação entre os métodos, foram utilizados os mesmos lotes de alfaepoetina humana recombinante produzidos por Bio-Manguinhos, de concentração 2000 UI ou 4000 UI. Para a determinação da repetitividade e da precisão intermediária, foi utilizado um único lote de alfaepoetina humana recombinante 4000 UI.

Para avaliar a concordância entre os métodos de citometria de fluxo e microscopia, foi utilizado o teste estatístico de Bland-Altman, com comparação de vinte resultados obtidos com os mesmo lotes, analisados a partir das mesmas amostras de sangue.

RESULTADOS

Os resultados mostraram que os métodos são equivalentes no que diz respeito à determinação da potencia da rhEPO produzida por Bio-Manguinhos. No entanto, o método de contagem de reticulócitos por microscopia, apesar de estar bem implantado no conjunto dos processos de controle dos lotes de alfaepoetina, é demorado e desgastante para o analista e apresenta alta probabilidade de erros. Assim, a introdução do método de citometria de fluxo mostra-se uma alternativa bastante promissora para suprir a demanda de testes com precisão, reprodutibilidade e maior velocidade de liberação de lotes.

Palavras chave: citometria, potência, alfaepoetina.

TRIAGEM DE ANTICORPO MONOCLONAL ANTI-CD20 POR CITOMETRIA DE FLUXO.

Maria da Glória Martins Teixeira, Eneida Santos de Almeida, Natalia Plínio de Souza, Aline de Almeida.

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos - Bio-Manguinhos

O uso de anticorpos monoclonais terapêuticos contra o câncer tem crescido nos últimos anos. Entre eles destaca-se o anti-CD20 para tratar pacientes com linfoma não Hodgkin (LNH). O CD20 é um antígeno de superfície transmembrana expresso em precursores de linfócitos B e em LB maduros. No entanto, os anticorpos anti-CD20 terapêuticos disponíveis atualmente têm custo elevado causando impacto no Sistema Único de Saúde (SUS). Por isso está sendo desenvolvido em Bio-Manguinhos um anticorpo terapêutico anti-CD20 humanizado para tratar pacientes com LNH.

O anticorpo humanizado é construído a partir da identificação da sequência nucleotídica das regiões determinantes de complementariedade (CDRs) do anticorpo murino e da inserção destas em uma sequência correspondente a um anticorpo humano. Esta abordagem minimiza respostas do paciente contra o anticorpo terapêutico. (Inicialmente, foram obtidos anticorpos monoclonais murinos, utilizando-se técnicas tradicionais com pequenas modificações (Kohler & Milstein, 1975); Kohler, Howe & Milstein, 1976).

A fusão foi realizada com células de mieloma SP2/0 e esplenócitos de camundongos BALB/c imunizados intraperitonealmente com suspensão de células BJA-B. Os hibridomas produtores de anticorpos anti-BJA-B foram selecionados por ELISA e clonados por diluição limitante. Visando encontrar clones produtores de anticorpos anti-CD20, 64 sobrenadantes de clones foram avaliados por citometria de fluxo utilizando uma linhagem celular mielóide humana, que não expressa o antígeno CD20 e que serviu como controle negativo do teste.

Esta mesma célula foi modificada geneticamente para passar a expressar o marcador CD20 e dessa forma, a única diferença de expressão de proteínas de superfície entre estas duas linhagens foi ter ou não o CD20 em sua superfície. A triagem mostrou que entre os 64 clones avaliados, 16 deles apresentavam mais de 60% de positividade na linhagem celular CD20+ e menos de 10% na linhagem CD20-, ou seja, estes clones conseguiam claramente distinguir estas duas linhagens. Estes resultados sugerem que eles têm grande possibilidade de serem produtores de anticorpos anti-CD20.

Concluimos que os usos destas linhagens celulares representam uma boa ferramenta para selecionar clones que produzam anticorpo contra este antígeno.

IDENTIFICAÇÃO, ANÁLISE E AVALIAÇÃO DOS RISCOS DO PROCESSO DE REVISÃO DO BIOFÁRMACO ALFAEPOETINA.

Carolina Campos Mendes, Alain Cognac Carelli, Heitor Mansur Caulliraux e Marília Stella Vaz Costa

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos - Bio-Manguinhos.

O Biofármaco Alfaepoetina fabricado em Bio-Manguinhos faz parte de um processo de Transferência de Tecnologia de suma importância para o Ministério da Saúde no que diz respeito aos programas de abastecimento de medicamentos aos postos de saúde e, conseqüente atendimento à população enferma. Com a oferta de novas classes de medicamentos no mercado expande-se a possibilidade de prevenção, tratamento e cura das doenças. Entretanto, convive-se em maior escala com o perigo eminente de se acarretar graves problemas à saúde pública se não houver agregado aos processos de fabricação dos produtos farmacêuticos, um gerenciamento efetivo da qualidade.

Como ferramenta da qualidade hoje, dentro do universo das indústrias farmacêuticas, a Análise de Riscos passou a ser peça fundamental no que diz respeito à diminuição das chances de um dado processo/produto falhar, buscando assim, o aumento da sua confiabilidade. E esta dimensão da qualidade, a confiabilidade, tem se tornado cada vez mais importante para o consumidor.

Com o objetivo de proporcionar ao Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos subsídios para a identificação, análise e avaliação de riscos dos processos produtivos, foi desenvolvida uma metodologia de aplicação da ferramenta de risco FMEA - Failure Mode and Effect Analysis, com base em um procedimento operacional padrão. O processo de revisão de Alfaepoetina, cujos riscos são mapeados neste trabalho, é responsável pela separação das amostras de medicamento consideradas reprovadas por aspecto e volume, daquelas aprovadas, que serão posteriormente embaladas e destinadas ao cliente, sendo considerada uma etapa crítica de produção e, portanto, de essencial controle. Além do acompanhamento in loco do processo estudado, foram utilizados dados dos Relatórios de Melhorias e Não-Conformidades e aplicada a técnica FTA - Fault Tree Analysis para análise das falhas. Como resultado final, foi gerada uma lista de prioridade de falhas, que demonstrou a ordem de necessidade de criação de controles para prevenção das mesmas. Foi abordada de forma conclusiva a utilização de tabelas com escalas pré-definidas para índices de severidade, ocorrência e detecção, a aplicabilidade dos índices sobre os modos de falhas, efeitos e causas propriamente ditas e a necessidade da criação de um plano de ação efetivo.

Palavras-chaves: Biofármaco, risco, FMEA.

DESENVOLVIMENTO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS ANTI-PBP2A DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTES À METICILINA

José Procópio M. Senna, Maria da Glória Teixeira, João Luiz Sampaio Queiroz e Nádia Batoréu

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos - BioManguinhos – FIOCRUZ

INTRODUÇÃO

As infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a metililina (MRSA) são uma grande preocupação em hospitais do mundo inteiro, em razão da sua dificuldade de tratamento e alta mortalidade, especialmente em Unidades de Tratamento Intensivo (UTIs).

MÉTODOS

Em nosso trabalho, empregando a tecnologia de hibridomas, procedemos a imunização de camundongos balb/C com uma proteína recombinante correspondendo a uma região interna da PBP2a, seguida de fusão dos esplenócitos com células de mieloma para a geração de hibridomas, onde obtivemos a seleção de dois clones secretores de anticorpos específicos contra a PBP2a de MRSA. A capacidade de reconhecimento foi avaliada por imunoensaio enzimático (ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay) e Western blotting empregando a proteína recombinante (fragmento interno da PBP2a).

RESULTADOS

Ensaio de avididade indicaram a presença de um clone com maior afinidade pelo alvo. Foram realizados ensaios de proteção *in vitro*, com diferentes cepas de MRSA, onde o anticorpo demonstrou ser capaz de bloquear o crescimento bacteriano. Doses de 500 microgramas de anticorpo foram suficientes para neutralizar aproximadamente 100.000 bactérias. Estes resultados iniciais representam a possibilidade de desenvolvimento de anticorpos monoclonais específicos para o tratamento de infecções causadas por cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*.

PALAVRAS CHAVE: Anticorpo monoclonal, MRSA, PBP2a

INTERFERON-ALPHA 2B AND RIBAVIRIN FOR GENOTYPE 2/3 CHRONIC HEPATITIS C - HOW OFTTEN DOES THE PATIENT SUSPEND TREATMENT?

Eliane Matos dos Santos; Cristiane Alves Villela Nogueira; Zulane da Silva Tavares Veiga; Paulo Roberto Gomes dos Santos

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos - Bio-Manguinhos / Fiocruz

BACKGROUND

Interferon alpha-2b and Ribavirin are indicated for the treatment of genotype 2/3 chronic hepatitis C patients in Brazil. Their related side effects may be treatment limiting and require dose reduction or drug discontinuation. The aim of this study was to evaluate the frequency of premature withdrawal from therapy and its related causes for this outcome in patients submitted to treatment with interferon alpha-2b from Bio-Manguinhos and Ribavirin and compare with literature data.

METHODS

A prospective study was performed from May 2009 to November 2010 in two centers in Rio de Janeiro city, Brazil. Naive genotype 2/3 chronic Hepatitis C patients were included since no contraindication for treatment was registered. Patients were submitted to treatment with subcutaneous interferon-alpha 2b 3 M UI three times a week and weight-based oral Ribavirin (750 to 1500 mg) daily, for 24 weeks. Sustained Virological Response (SVR) was defined at 24 weeks after the end of treatment. The frequency of withdrawal from treatment and its related causes for treatment interruption were registered.

RESULTS

Ninety three patients were included in the study. Among these patients, 85 had received at least one dose of Interferon alfa-2b plus Ribavirin and had their data analyzed: 48 (57 %) were men; the mean age was 54 ± 9 years. Seventy seven (91%) were genotype 3 and 8 (9%) genotype 2. Cirrhosis was defined in 20 (24 %). Sixty eight patients (80%) had finished treatment and 7(8%) had it interrupted. Five (6 %) had the treatment interrupted due to side effects and 2 (2%) owing to personal issues.

CONCLUSION

The interruption of treatment with Interferon alfa-2b from Bio-Manguinhos plus ribavirin was 6% and the occurrence of side effects is the main cause of treatment interruption. This rate of interruption is lower than that observed in registration trials.

Keywords: Hepatitis C, Interferon-Alpha 2B, Adverse Events.

COMPARAÇÃO ENTRE AS LINHAGENS DE CAMUNDONGOS B6D2F1 CENPALAB/CUBA E CECAL/BRASIL PARA UTILIZAÇÃO NO ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE POTÊNCIA BIOLÓGICA DE ALFAEPOETINA PELO MÉTODO DE CAMUNDONGOS NORMOCITÊMICOS.

Igor Barbosa da Silva, Ricardo Gonçalves Silva, Maria Conceição de M. Fernandes, Érika F. S. E. Gavião
Bio-Manguinhos

O biofármaco Alfaepoetina Humana Recombinante (rhEPO) apresenta características complexas que requerem um rigoroso controle de qualidade para garantir sua segurança e eficácia. Dentre os diversos testes aplicados nos ensaios de rotina no controle de qualidade da rhEPO, podemos destacar o bioensaio de potência em camundongos normocitêmicos que tem como objetivo avaliar a atividade biológica deste medicamento.

A Farmacopéia Européia preconiza para o teste de potência da rhEPO a utilização de camundongo fêmeas da linhagem B6D2F1 e o objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo comparativo dos ensaios de potência de rhEPO entre as colônias de camundongos B6D2F1 produzidas no Centro Nacional para a Produção de Animais de Laboratório CENPALAB/Cuba e no Centro de Criação de Animais de Laboratório - CECAL/Fiocruz/Brasil. O teste de potência para rhEPO consiste na contagem de reticulócitos pelo método de microscopia ótica em amostras de sangue de camundongos normocitêmicos.

O estudo foi dividido em duas etapas: Na primeira etapa foi avaliado o parâmetro de robustez mantendo as variações do dia de realização do experimento, alimentação, operadores e área de experimentação. Foram realizados 24 ensaios de potência para rhEPO com camundongos B6D2F1 produzidos no CECAL/Brasil comparando com lotes previamente aprovados com camundongos produzidos no CENPALAB/Cuba.

Na segunda etapa do estudo foram realizados 8 ensaios independentes com lotes de rhEPO mantendo as condições similares para ambas as colônias. A comparação dos valores da potência foi feita avaliando as diferenças entre as estimativas usando os camundongos do CENPALAB/CUBA e as do CECAL/Brasil. A média das diferenças foi de 3,79 com intervalo de 95% de confiança (0,09;7,49). Para a comparação dos intervalos dos 24 ensaios, foram obtidas 23 concordâncias.

Para a avaliação dos dados da segunda parte do estudo, foram utilizados os mesmos critérios aplicados na primeira etapa. A comparação dos valores da potência foi feita avaliando as diferenças entre as estimativas usando os camundongos do CENPALAB/CUBA e as do CECAL/FIOCRUZ. A média destas diferenças foi de com intervalo de 95% de confiança (-13,15;10,1), não sendo esta diferença estatisticamente significativa. Na comparação dos intervalos fiduciais foi observada

concordância de 100% entre os camundongos de ambos os centros de criação. O estudo de comparação entre as colônias de B6D2F1 do CENPALAB/Cuba e CECAL/Brasil obteve alta proporção de concordâncias; e na segunda etapa, onde as variações anteriores foram controladas e a concordância foi de 100%.

Concluimos que o desempenho dos camundongos da colônia CECAL/Brasil foi extremamente satisfatório em comparação aos camundongos B6D2F1 produzidos no CENPALAB/Cuba. O resultado desse estudo permitiu algumas vantagens com a utilização de uma colônia nacional de B6D2F1 como: liberação de lotes no prazo estabelecido; diminuição de estresse dos animais; maior agilidade no recebimento dos animais, devido à ausência de necessidade de licença de importação e liberação alfandegária e redução drástica de custo de importação dos animais. Ressaltamos que todos os ensaios foram validados para os parâmetros de regressão linear, paralelismo e termos quadráticos, e satisfatórios para as especificações da potência (80 a 125%) e limites fiduciais (64 e 156 %), preconizados pela Farmacopeia Europeia.

Palavras chaves: Alfaepoetina, Potência biológica e Normocitêmicos

CONSTRUÇÃO DE VETOR LENTIVIRAL PARA MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO DO DD3PCA3 EM CÉLULAS DE CÂNCER DE PRÓSTATA.

Ana Emília Goulart¹, Nadia Maria Batoreu², Martin Bonamino³, Etel Gimba,⁴
Bio-Manguinhos

O Câncer de Próstata (CaP) é a malignidade mais comumente diagnosticada entre homens brasileiros, excetuando os casos de câncer de pele não melanoma. O DD3PCA3 corresponde a um RNA não codificante (RNAnc), cuja expressão é específica de tecidos prostáticos, sendo altamente expresso em tumores de próstata em relação a tecidos não-neoplásicos. Esta especificidade o torna um potencial alvo terapêutico para o CaP. O DD3PCA3 vem sendo empregado como um marcador altamente específico no diagnóstico do CaP através da análise de sua expressão na urina. Dados preliminares gerados por nosso grupo indicam que a diminuição da expressão do DD3 induz diminuição na proliferação celular e aumenta a proporção de células em apoptose. Estes dados sugerem que este RNAnc está envolvido na sobrevivência de células de CaP. Neste contexto, é possível utilizar o mecanismo de ação de moléculas de RNA de interferência na forma de "short hairpin RNA" (shRNA) para silenciar a expressão do DD3PCA3.

O estudo proposto tem como objetivo construir vetores lentivirais que modulem a expressão do RNAnc DD3PCA3 em células de CaP visando testá-lo como potencial alvo terapêutico. A abordagem consiste em inserir um cassete de expressão de shRNA complementar ao DD3 PCA3 em um vetor lentiviral com expressão induzida por doxociclina. Para construir este vetor, são necessárias clonagens sequenciais em dois plasmídeos. No primeiro vetor (pLVTHM) é clonado o shRNA com expressão regulada pelo promotor H1. Na etapa seguinte, este fragmento será subclonado no vetor pLVET-tTRKRAB, indutível por doxociclina. Células LNCaP (linhagem celular que expressa o DD3PCA3 em altos níveis) serão transduzidas com os vetores lentivirais contendo os shRNA para o DD3PCA3, sequências controle inespecíficas (scramble) ou o vetor vazio. Após a transdução destas células, estudos funcionais *in vitro* e, posteriormente, *in vivo* serão realizados para avaliar o silenciamento do DD3PCA3 pelo shRNA.

As clonagens dos shRNAs de duas sequências shRNA complementares ao DD3 PCA3 e duas sequências Scramble foram realizadas no vetor pLVTHM. A transdução de células LNCaP com os lentivírus gerados mostrou-se eficiente, com elevado percentual de células GFP⁺ observadas ao microscópio de imunofluorescência. Com estes vetores construídos, os próximos passos deste projeto serão a realização dos experimentos funcionais *in vitro* para confirmar se a interferência do DD3PCA3 altera a viabilidade das células LNCaP. Em seguida, a sequência shRNA que apresentar melhor efeito de interferência será empregada na construção dos vetores lentivirais com expressão induzida por doxiciclina para posteriores experimentos *in vivo*.

Palavras chaves: Câncer de Próstata, RNA não codificante, DD3PCA3.

VALIDAÇÃO DO TESTE DE LAL PELO MÉTODO CINÉTICO-CROMOGÊNICO PARA DETERMINAÇÃO DE ENDOTOXINA NO BIOFÁRMACO ALFAPEGINTERFERONA 2b HUMANA RECOMBINANTE.

Mariana Nogueira da Silva Teixeira, Carina Cantelli Pacheco de Oliveira, Marisa de Oliveira, Maria Betânia Silva de Oliveira Marchetti, Ester Ribeiro de Figueiredo, Fábio Henrique Gonzalez, Lilia Ribeiro Serodio
Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

INTRODUÇÃO

Os interferons são um grupo de proteínas naturalmente produzidas no organismo e têm função imunoreguladora, ou seja, aumentam a capacidade do organismo de destruir células tumorais, vírus e bactérias. São classificados como alfa, beta e gama. O interferon alfa possui 14 subtipos com especificidades ligeiramente distintas, é anti-proliferativos e capaz de impedir a replicação viral. Têm um efeito imunomodulatório e é utilizado nos tratamentos contra hepatites virais B e C crônicas, infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), leucemia mielóide crônica, tricoleucemia, tumores sólidos (Sarcoma de Kaposi, melanoma maligno, carcinoma renal) e infecção pelo vírus da AIDS.

Através de uma parceria com o Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB - Cuba), Bio-Manguinhos iniciou em 2009, o processo de Transferência de Tecnologia para a produção do biofármaco alfapeginterferona 2b humana recombinante. Uma das etapas de controle de qualidade deste produto é a determinação de endotoxina, através do método cinético cromogênico. A determinação de endotoxinas bacterianas requer especial atenção, uma vez que estas podem gerar processos febris, choque séptico e até mesmo a morte.

O LAL é um extrato aquoso das células sanguíneas do caranguejo ferradura *Limulus polyphemus*. Na presença de endotoxinas, certos fatores no LAL são ativados em uma cascata de reações que resultam no desenvolvimento de uma coloração amarelada. A concentração de endotoxinas será sempre inversamente proporcional ao tempo de reação, ou seja, quanto maior a concentração de endotoxinas, menor o tempo de reação.

OBJETIVO

Validar e padronizar o teste de LAL pelo método cinético cromogênico para determinação de endotoxina no biofármaco alfapeginterferona 2b humana recombinante em Bio-Manguinhos.

METODOLOGIA

As etapas de validação foram realizadas de acordo com a RE nº899 regulamentada pela ANVISA. A linearidade foi verificada através da curva-padrão do ensaio com cinco pontos obtidos pela diluição seriada de endotoxina padrão na base 10. A especificidade

do método foi determinada utilizando o diluente do LAL como controle negativo. Para a exatidão, o biofármaco foi testado em quatro diluições diferentes (1:40, 1:80, 1:100 e 1:200) a fim de determinar a melhor diluição a ser trabalhada baseando-se na consistência dos resultados, na quantificação de endotoxina e na recuperação obtida. A partir da diluição eleita foram avaliadas a repetitividade do método e do sistema. Por último, foi realizado o teste de precisão intermediária onde o método é avaliado em duas etapas: primeiramente variando o dia com o mesmo analista e, em seguida, variando os analistas no mesmo dia.

RESULTADOS

- Linearidade: $r = 0,9962$; $a = -0,1836$; $b = 3,0087$; $CV = 0,0291\%$; $ICb = 2,9868$ a $3,0305$
- Especificidade: não houve interferência
- Exatidão: 112,5%
- Repetitividade do método: 0,405%
- Repetitividade do sistema: 0,914%
- Precisão intermediária (variando o dia): 0,460%
- Precisão intermediária (variando o analista): 0,872%

CONCLUSÃO

A determinação de endotoxinas no biofármaco alfapeginterferona 2b humana recombinante foi padronizada e validada, atendendo a todos os critérios de aceitação para o método exposto.

Palavras chave: alfainterferona, validação, LAL.

VALIDAÇÃO DA ANÁLISE DO INGREDIENTE FARMACÊUTICO ATIVO DE INTERFERON PEGUILADO POR SDS-PAGE.

João de Mello Rezende Neto, Marisa de Oliveira Ribeiro, Lília Ribeiro Seródio, Daniel da Silva Guede

Seção de Testes Biomoleculares e Imunocitoquímica (SETBI); Laboratório de Controle Microbiológico

No processo de fabricação de medicamentos a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) exige ações no sentido de garantir a qualidade de produtos quanto sua segurança e eficácia. Neste sentido, é necessária a implantação de normas de boas práticas de fabricação (BPF) e controle de qualidade de produtos. Os Biofármacos são substâncias terapêuticas que possuem maior complexidade molecular em comparação aos medicamentos químicos convencionais.

O sistema interferon é a primeira linha de defesa contra infecções virais em mamíferos. Este sistema é designado a bloquear a disseminação da infecção viral no corpo, algumas vezes acelerando a morte das células infectadas. O tratamento com interferon alfa (IFN- α) é caracterizado por metabolização rápida e pelos diversos efeitos colaterais decorrentes dos picos de concentração deste fármaco no paciente. Como alternativa, foram conjugadas ao interferon moléculas de polietilenoglicol (PEG), denominado interferon peguilado, (PEG IFN), com farmacocinética aperfeiçoada, eficácia superior e administração semanal.

Os métodos empregados nas análises do controle de qualidade de medicamentos devem seguir as orientações contidas na Resolução da ANVISA RE nº 899. A eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) é uma técnica utilizada na separação de proteínas de acordo com tamanho molecular. Neste trabalho foram validados dois métodos para análise do Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA) de Interferon Peguilado produzido em Bio-Manguinhos.

As duas validações utilizaram a SDS-PAGE como técnica de separação das proteínas contidas no produto, porém distinguem-se quanto à revelação dos resultados. Na detecção de PEG não conjugado ao interferon, é empregado iodeto como reagente e foi validado como categoria II ensaio limite. A especificidade, o limite de detecção e a robustez foram avaliados ao longo de três géis, com três lotes de IFA de IFN PEG. As amostras foram analisadas a partir de 5 μ g de PEG total em cada poço do gel e o limite de detecção obtido foi de 0,250 μ g de PEG livre. Na revelação de interferon não conjugado ao PEG é utilizado o azul brilhante de coomassie e foi validado como categoria II ensaio quantitativo. As amostras foram analisadas, a partir de três lotes de IFA de IFN PEG com 5 μ g de proteína total, em cada poço do gel, ao longo destes experimentos. A especificidade foi comprovada, a partir de um teste de identidade, previamente validado no setor, empregando anticorpo específico para IFN PEG. A

linearidade para três curvas de amostra revelou R^2 médio de 0,9996. O intervalo demonstrou coeficiente de variação entre 0,67% e 1,73% nos três pontos analisados. A precisão demonstrou coeficiente de variação entre 0,44% e 4,04% nos pontos avaliados. O limite de quantificação obtido foi de 0,250 μ g de proteína para IFN. A exatidão demonstrou recuperação média de 122,53% nas amostras de IFN PEG contaminadas com 0,250 μ g de IFN. A robustez foi avaliada ao longo dos oito géis preparados, o material de referência de Interferon Peguilado apresentou percentual de pureza superior a 95% conforme esperado. O protocolo de validação foi descrito por equipe multidisciplinar formada pelo LAMEV (Laboratório de Metrologia e Validação) e pelo SETBI. Os dados obtidos serão descritos nos relatórios de validação.

Palavras Chave: Interferon Peguilado; Validação, SDS-PAGE.

APLICAÇÃO DE PROTOCOLO DE ERRADICAÇÃO DE MICOPLASMAS EM DIFERENTES LINHAGENS CELULARES.

Parmera D¹, Ferreira RL², Medeiros MA², Hokama DA¹

1- Departamento de Controle de Qualidade, Vice-diretoria de Qualidade 2- Laboratório de Tecnologia Recombinante

INTRODUÇÃO

No Instituto de Tecnologia de Imunobiológicos, ressalta-se a aplicação de diferentes linhagens celulares no desenvolvimento, controle de qualidade e produção de vacinas, biofármacos e kits de diagnóstico. Neste contexto, dados bibliográficos apontam a contaminação de culturas celulares por micoplasma como um dos principais desafios a serem enfrentados. Micoplasma é o termo comum utilizado para representar o grupo de bactérias da classe Mollicutes, caracterizados principalmente pela ausência de parede celular e por serem considerados os menores organismos de vida livre. Como efeito do crescimento de micoplasmas nos cultivos celulares podemos destacar: alterações no metabolismo celular, alteração do perfil de propagação viral, diminuição das taxas de crescimento, interferência em ensaios biológicos e bioquímicos e morte celular. Desta forma, o recomendado para essas ocorrências é o descarte imediato do cultivo e descontaminação do local de trabalho. A alternativa para células de difícil substituição, aquisição ou custo elevado, é submetê-las a tratamentos físicos (filtração em microfiltros), imunológicos (cultivo com soro anti-micoplasma) ou químicos (cultivo com antibióticos) para eliminação do micoplasma. O tratamento com antibacterianos é a escolha padrão para células contaminadas, dentre os quais se destacam: BM-cyclin® (I - Macrolídeo e II - Tetraciclina), e as Quinolonas Mycoplasma removal agent - MRA®, Ciprofloxacino e Enrofloxacino. As quinolonas são uma classe de antibióticos de amplo espectro, derivadas do ácido nalidixico, com efeito bactericida, com ação inibitória das enzimas bacterianas topoisomerase II (DNA girase) e topoisomerase IV.

OBJETIVO

O presente trabalho possui o objetivo de confirmar os dados obtidos na literatura e validar o protocolo na Unidade para aplicação pelo Controle de Qualidade.

METODOLOGIA / RESULTADOS

Para avaliação do protocolo de erradicação de micoplasmas, o antibiótico selecionado foi o Enrofloxacino (Baytril®) e foram utilizadas as linhagens celulares Vero, RK-13, Hep-2 (aderentes) e THP-1 (suspensão) confirmadamente contaminadas com micoplasma (pelo ensaio de reação em cadeia da polimerase - PCR), com trocas diárias de meio de cultivo com Baytril por 7 dias e cultivadas inicialmente por 1-2 semanas após o tratamento visando confirmar o sucesso da aplicação do protocolo. As células foram mantidas por sucessivas passagens, para determinar o tempo máximo de cultivo com a manutenção de suas características e principalmente, a eliminação permanente de Mollicutes. Para a confirmação da contaminação e erradicação de micoplasmas, foi

utilizado o ensaio de PCR desenvolvido e validado em Bio-Manguinhos para avaliação da vacina contra febre amarela e em processo de validação para avaliação de amostras celulares. Dentre os micoplasmicidas usados em culturas celulares o enrofloxacino foi usado pela acentuada ação bactericida, geração superior aos demais anteriormente listados (Fluorquinolona de 3ª geração), rendimento de erradicação acima de 80% e pelo tempo de tratamento (7 dias). Avaliações iniciais apontam que o antibiótico não teve ação citotóxica e as linhagens após o tratamento tiveram um aumento nas taxas de crescimento e viabilidade, confirmando dados literários.

CONCLUSÃO

Com base na avaliação resultados dos ensaios em andamento, estima-se que o tratamento de células contaminadas com Mollicutes a partir de micoplasmicidas seja vantajoso e eficiente, apesar do período empregado para aplicação e avaliação do protocolo.

Palavras-chave: Linhagens celulares, Micoplasma, Micoplasmicida.

VALIDAÇÃO DE SISTEMAS COMPUTADORIZADOS EM BIO-MANGUINHOS: UMA PROPOSTA DE MODELO DE INVENTÁRIO E PRIORIZAÇÃO DOS SISTEMAS COMPUTADORIZADOS.

Debora Michele Morone D´Aiuto, Priscila Ferraz Soares e Marília Stella Vaz Costa Belart
Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos - Bio-Manguinhos e Escola Politécnica / UFRJ

Por atuar no setor farmacêutico, Bio-Manguinhos é fortemente regulado e inspecionado por órgãos nacionais e internacionais. Neste contexto, a Unidade possui a necessidade de adequar-se às exigências regulatórias de forma a não comprometer a realização das suas atividades fins. A RDC nº 17/2010, que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPF) foi publicada em 17 de abril de 2010, passando a incorporar a validação de sistemas computadorizados como requisito obrigatório. Neste contexto, os sistemas computadorizados de apoio a todo ciclo de vida do produto, desde a fase de desenvolvimento, estudos pré-clínicos, clínicos, produção, controle de qualidade, armazenamento e distribuição, precisam estar validados em um horizonte de três anos desde a publicação da Resolução. A validação de sistemas visa verificar se o sistema foi adequadamente desenvolvido, que se encontra sob controle e que, portanto, não acrescenta riscos aos processos suportados por estes sistemas.

Face ao exposto, este trabalho apresenta uma análise do referencial teórico relacionado à validação de sistemas computadorizados utilizando o quadro conceitual relacionado ao assunto, os documentos regulatórios vigentes, nacionais e internacionais, e as melhores práticas existentes, considerando o GAMP 5, para propor uma metodologia para levantamento do inventário de sistemas computadorizados, incluindo a classificação e a análise da criticidade dos sistemas na proposição de um modelo para priorização da validação dos sistemas que ofereçam maior risco ao produto. Foi realizada a análise de aderência do modelo proposto frente aos requisitos regulatórios e a verificação da proposição junto a especialistas no assunto e colaboradores diretamente envolvidos com a Unidade analisada. O trabalho contribui, portanto, no sentido de prescrever como atender aos requisitos estabelecidos na resolução da ANVISA, com base numa metodologia de análise de riscos, oferecendo uma orientação prática para a realização de ações pelas organizações farmacêuticas.

Palavras-chave: Validação, Sistemas Computadorizados e ANVISA.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF RECOMBINANT PROTEIN PsaA OF *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

Ana Paula Dinis Ano Bom¹, Izabella Sodré Buty da Silva¹, Angela Marina de Sousa Silva³, Ana Paula Correa Argondizzo², Ariane Leites Larentis², Marco Alberto Medeiros², Jerson Lima Silva³, José Godinho da Silva Junior¹.

1 Laboratório de Macromoléculas LAMAM, Bio-Manguinhos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil. 2 Laboratório de Tecnologia Recombinante LATER, Bio-Manguinhos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil. 3 Laboratório de Termodinâmica de Proteínas e Estruturas Virais Gregorio Weber LTPV, Instituto de Bioquímica Médica, CCS, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

The pathogen *Streptococcus pneumoniae* is responsible for a number of serious diseases in humans, including pneumonia, meningitis and bacteraemia. Pneumococcal surface adhesin A (PsaA) is a surface-exposed common 37-kilodalton multi-functional lipoprotein detected on all known serotypes of *Streptococcus pneumoniae* plays an essential role in its virulence. This protein is considered to be both a potential drug target and a candidate vaccine component. In this work PsaA was expressed as an *E. coli* recombinant protein and solubilized by sonication. The protein purification was performed by ion-exchange perfusion chromatography (IEX) in Sepharose Hitrap (DEAE FF/GE Healthcare) column and the isolated PsaA protein fraction was analyzed by SDS-PAGE-12%. Different protein concentrations were applied in denaturing gel electrophoresis (0.2 to 4.0 micrograms) aiming to observe protein contaminations. No significant protein impurities were detected. Protein concentration was measured by BCA method. PsaA structural complementary studies were realized using circular dichroism. The protein stability was observed by submitting PsaA to denaturing chemical agents such as urea and guanidinium hydrochloride and to physical denaturants, such as temperature. The collected data show that PsaA present a higher stability when subjected to high temperatures (25°C to 85°C). Partial loss of secondary structure was initiated after temperatures above 45°C, however some of this structural feature was conserved even at 85°C.

The chemical denaturation treatment shows the decrease of secondary structure at 0.5 M or 1 M of urea or guanidinium hydrochloride respectively. Overall, these data provide important information for the future understanding of the PsaA folding and stabilization molecular basis, helping studies for the development of novel drugs that could prevent of *Streptococcus pneumoniae* diseases.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, PsaA, characterization

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE ENTRADA DE DADOS EM PESQUISA CLÍNICA: A EXPERIÊNCIA DA ASSESSORIA CLÍNICA DE BIOMANGUINHOS (ASCLIN).

Luiz Augusto Pinto Lima; Deborah Araújo da Conceição; Mauricio Ferreira Pimenta; Claudemir Francisco.

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos/Fiocruz

INTRODUÇÃO

O formulário de relato de caso, do inglês Case Report Form (CRF), é um instrumento de coleta de dados utilizados em ensaios clínicos para apoiar investigadores a capturar informações requeridas por um protocolo. Originalmente a Assessoria Clínica de Bio-Manguinhos (Asclin) operava com o modelo de CRF impresso, com entrada de dados escritos a mão, via digitação. Entretanto essa forma de CRF era sujeita a falhas, tais como incoerência de dados por digitação e interpretação incorretas. Visando melhorar o registro de dados, passou-se a utilizar na maioria dos estudos o software TeleForm®, um sistema de reconhecimento de caracteres.

A Asclin, buscando inovações tecnológicas, visa implementar a curto prazo mais uma forma de entrada de dados, o CRF eletrônico (e-CRF), ferramenta de grande importância para o cumprimento da crescente demanda de Estudos Clínicos.

OBJETIVO

Comparar as duas formas atualmente utilizadas para entrada de dados, dupla digitação e TeleForm®, identificando suas vantagens e desvantagens.

METODOLOGIA

Com base na prática do Núcleo de Estatística e nos manuais operacionais referentes às tecnologias de entrada e formação de bancos de dados, organizou-se uma tabela comparativa para os métodos de entrada de dados composta das seguintes variáveis: custo, tempo para registro dos dados, complexidade e confiabilidade. A partir disto, identificaram-se vantagens e desvantagens dos dois métodos utilizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise comparativa das variáveis incluídas no estudo observou-se que o método de digitação manual, apesar de apresentar um baixo custo inicial, demandou maior mão de obra, uma vez que há a necessidade da construção de uma máscara de entrada para os dados e, para garantir a confiabilidade destes, a realização de uma dupla digitação, por pessoas diferentes. É também um método mais lento, pela própria digitação e identificação de caracteres ilegíveis, necessitando muitas vezes de revisão. Além disso, para a comparação entre as bases de dados, é necessário o uso de outro software. O método via TeleForm® demanda um maior custo inicial e necessita de um scanner, preferencialmente com detector para múltiplas folhas, porém demanda menos

mão de obra e menor tempo no registro dos dados. Ainda, necessita que as variáveis sejam formatadas antes que se possam iniciar as análises dos dados. No entanto, como não há digitação no processo, a confiabilidade dos dados é otimizada, uma vez que os dados dos documentos fontes tenham sido revistos e validados pela equipe de monitoria, necessária nos dois métodos. O TeleForm® possibilita a construção de CRF padronizados e como o software reconhece os caracteres presentes nos formulários, após digitalização, não há a necessidade de construção de máscaras para entradas de dados e nem de qualquer digitação. Além disso, possibilita ao usuário verificar os dados reconhecidos pelo TeleForm®.

CONCLUSÃO

A partir da análise comparativa entre os dois métodos utilizados na Asclin, concluímos que o TeleForm® é superior ao método de dupla digitação. Porém, espera-se que com a implementação do e-CRF, este possibilite maior agilidade nas pesquisas, pois é uma ferramenta que permite o acompanhamento da inserção de dados em múltiplos centros de forma mais otimizada.

Palavras-chave: Dados, TeleForm® e Pesquisa.

DEVELOPMENT OF AN INDIRECT ELISA TO DETECT OVINE ANTIBODIES SPECIFIC FOR CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS.

Miriam Flores Rebouças, Ricardo Wagner Dias Portela, Lilia Ferreira de Moura Costa, Vasco Azevedo.

Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Minas Gerais.

AIMS

This work had the objective to develop an indirect ELISA to identify specific immunoglobulins against *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep serum.

METHODS AND RESULTS

Secreted antigens from T1 strain bacteria grown in brain heart infusion (BHI) broth were tested in the indirect ELISA, and the electrophoretic profile of the BHI antigen was analyzed, as well as the recognition pattern by *C. pseudotuberculosis* infected sheep sera. The ELISA results were compared to multiplex PCR assay and IFN-gamma production. The ELISA was able to discriminate between negative and positive animals, with a sensitivity of 89% and a specificity of 99% using microbiological isolation as gold standard, and a large difference between positive and negative optical density values. When this assay was compared with multiplex PCR and specific IFN-gamma quantification, only two discrepant results were found among thirty-two samples.

CONCLUSION

It was concluded that the indirect ELISA using secreted antigens from *C. pseudotuberculosis* T1 strain grown in BHI broth can be used for the serodiagnosis of caseous lymphadenitis in sheep.

Significance and Impact of the Study: This study provides a simple and reliable indirect ELISA system to detect ovine specific antibodies for *C. pseudotuberculosis*.

Keywords: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, ELISA e Secreted Antigens.

APLICAÇÕES E IMPORTÂNCIA DA DIVISÃO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE E PÓS-MARKETING DE BIO-MANGUINHOS: O CANAL DE RELACIONAMENTO COM O CLIENTE.

Linda Kalili Boukai, Alessandra Bogio, Monique Amorim Pimenta, Flávia Fontenelle Muylaert, Beatriz Coutinho Brum, Simone Teixeira Bonecker, Vanessa Martins da Silva, Caroline Ferezin Pinto, Adriana dos Santos Duarte.

A produção e o desenvolvimento de imunobiológicos, em Bio-Manguinhos, inserem-se na indústria farmacêutica em três segmentos de mercado: Vacinas, Reativos e Biofármacos.

Conforme a missão do Instituto, Bio-Manguinhos atende, prioritariamente, o mercado público brasileiro representado pelos órgãos do Ministério da Saúde (MS) responsáveis pela aquisição de imunobiológico. Assim, em 2001, o Serviço de Atendimento ao Cliente (SAC) foi criado visando atender esta demanda e estreitar o relacionamento de Bio-Manguinhos com seus clientes.

Em 2008, após a reestruturação das Unidades Organizacionais (UO) de Bio-Manguinhos o SAC foi enquadrado na Divisão de Atendimento ao Cliente e Pós-Marketing (DIACM). Atendendo às suas premissas a Divisão trabalha preocupada em prover um alto grau de satisfação aos clientes, conferindo respostas satisfatórias aos diversos tipos de ocorrências registradas. A DIACM analisa e direciona / acompanha o encaminhamento dos registros com as UO de interface.

Além do contato direto com os clientes em reuniões, visitas técnicas e participação em seminários e eventos, a DIACM está próxima ao cliente por meio de telefone gratuito 08000 e e-mails específicos, divulgados nas embalagens, bulas dos produtos e nos materiais promocionais. O portal Fale Conosco?, Disponibilizado no sítio da Internet, funciona como mais um elo de comunicação. Utilizando todos estes canais, os clientes, em horário comercial, podem solicitar informações, notificar queixas ou realizar sugestões, conforme sua demanda. O atendimento é prestado por meio de uma equipe especializada, formada por profissionais de saúde com mestrado e doutorado, capazes de fornecer um serviço diferenciado ao cliente.

A DIACM está, constantemente, enfrentando desafios: o aumento da procura pelo SAC aliado à crescente evolução da carteira de produtos gera a necessidade de modernização. Neste sentido, a DIACM atualiza, frequentemente, seus procedimentos operacionais, buscando aprimorar suas práticas. Incorporou a atividade de avaliação dos seus serviços por meio de indicadores de desempenho que mensuram a satisfação do cliente quanto ao serviço prestado, resposta fornecida e outros indicadores de interesse institucional.

Em 2010, foi implantado o Sistema de Informação CRM (Customer Relationship Management), garantindo a padronização, rastreabilidade e integração das UO envolvidas no atendimento. Esta ferramenta tem se mostrado extremamente importante em especial à Plataforma NAT HIV / HCV multiplex, contribuindo para o registro e análise das informações de forma sistemática.

Desde o ano da sua criação (2001) até o ano de 2010, a DIACM registrou 9.445 ocorrências, sendo 4.429 para a linha de Vacinas, 3.347 para Reativos e 1.598 para Biofármacos. Deste total, 71 ocorrências foram categorizadas como atendimentos que não pertencem à DIACM. Desde o início dos registros das ocorrências para a Plataforma NAT HIV / HCV até dezembro de 2010, foram contabilizadas 193 ocorrências.

A DIACM entende que encurtou o relacionamento com o cliente, aumentando, assim, o conhecimento das necessidades dos usuários dos nossos produtos. Sob o ponto de vista do Instituto, a DIACM permitiu o acesso às informações úteis sobre as demandas da população, cumprindo o objetivo de levar aos clientes um atendimento dinâmico, personalizado, eficiente e diferenciado.

Palavras-chave: Imunobiológicos, Atendimento e Registros.

PRIMEIRA COLEÇÃO DE ESPÉCIMES ISOLADOS DE ÁREA CONTROLADA: A BACTERIOTECA DE BIO-MANGUINHOS E SUA APLICAÇÃO NA QUALIDADE.

Luciane Martins Medeiros¹; Adriana Marques Frazão¹; Josiane Machado Vieira Mattoso¹; Fernanda Ventura Cruz²; Luciane Gomes do Nascimento¹; Leila Cristina da Costa Bastos¹; Lygia Maria Paulo da Silva Braga³; Paulo Sérgio Gomes dos Santos¹; Nilson César Peçly Ribeiro¹; Aline Ribeiro Travassos¹; William Rodrigues da Conceição Silva³; Cíntia Cardoso da Costa⁴; Lilia Ribeiro Seródio⁵; Darcy Akemi Hokama⁵; Verônica Viana Vieira⁶

¹SEPIN/Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

²Bolsista FIOTEC

³Estagiário SEPIN/ Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

⁴EPO/Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

⁵DEQUA/Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

⁶INCQS/FIOCRUZ

Dentre os riscos associados ao processo de produção de medicamentos e imunobiológicos, a contaminação microbiana se apresenta como um perigo em potencial, principalmente nos casos em que o micro-organismo contaminante altera a qualidade do produto e/ou afeta a segurança do paciente. Os contaminantes microbianos podem ser originários de matérias-primas, equipamentos, ambientes, água, operadores e recipientes de embalagem. O conhecimento da microbiota circulante na área industrial é uma importante ferramenta para a elaboração de medidas preventivas e corretivas. Mundialmente, os dados referentes à microbiota isolada de salas limpas são escassos, dificultando o aprofundamento nesta questão. Com relação à identificação de micro-organismos provenientes de insumos farmacêuticos, produtos intermediários e finais, assim como de áreas limpas, as metodologias convencionais podem ser ineficazes para na identificação de várias espécies bacterianas que podem estar presentes como contaminantes, uma vez que não existem para estas o perfil metabólico no banco de dados desses sistemas e/ou conjunto de substratos capazes de discriminar as espécies em questão.

Desta forma, a identificação bacteriana correta é essencial para a determinação da relação das cepas e o estabelecimento de um paralelo entre os contaminantes bacterianos provenientes dos produtos fabricados e aqueles encontrados na área de produção ou nas matérias-primas utilizadas, de modo a fornecer evidência de que estes são da mesma fonte. De uma maneira geral, a investigação das origens de contaminação de produtos, processos e insumos é realizada de maneira “cartorial”, ou seja, somente através do exame de registros dos laudos de identificação de micro-organismos. Ademais, os mesmos gêneros podem estar envolvidos em diversas ocorrências, não representando, no entanto, a mesma origem de contaminação. A necessidade de um rastreamento mais fidedigno, através da comparação genotípica dos isolados envolvidos em circunstâncias específicas, levou ao desenvolvimento de uma bacterioteca criopreservada, com espécimes isolados de cada atividade realizada em Bio-Manguinhos. Esta bacterioteca foi iniciada em fevereiro de 2008 e já contém mais de 2.000 cepas, com registro das áreas de isolamento, data do processo, lote envolvido, entre outras informações. As cepas da Bacterioteca apresentam outras aplicações, além da elucidação de fontes de contaminação: são utilizadas para a criação de lotes-semente

de cepas autóctones para os testes de promoção de crescimento dos meios de cultura a serem utilizados nas simulações de processo (*media fill*) e nas validações dos procedimentos de sanitização/desinfecção utilizados em várias etapas do processo de produção em áreas limpas. Portanto, a Bacterioteca de Bio-Manguinhos, além de pioneira no mundo, representa uma inovação plural na área de Qualidade Microbiológica e satisfaz às exigências, cada vez mais rigorosas, das normas nacionais e internacionais direcionadas às Boas Práticas de Fabricação (BPF).

Palavras-chave: Coleções de cultura; Áreas classificadas; Biodiversidade; Monitoramento ambiental.

PERFORMANCE DAS CEPAS BACTERIANAS AUTÓCTONES NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM MEIOS DE CULTURA UTILIZADOS EM BIO-MANGUINHOS: CONFORMIDADE COM FARMACOPÉIAS E ANVISA.

Luciane Martins Medeiros¹; Adriana Marques Frazão¹; Josiane Machado Vieira Mattoso¹; Fernanda Ventura Cruz²; Luciane Gomes do Nascimento¹; Leila Cristina da Costa Bastos¹; Lygia Maria Paulo da Silva Braga³; Paulo Sérgio Gomes dos Santos¹; Nilson César Pecly Ribeiro¹; Aline Ribeiro Travassos¹; William Rodrigues da Conceição Silva³; Cíntia Cardoso da Costa⁴; Lilia Ribeiro Seródio⁵; Darcy Akemi Hokama⁵.

¹SEPIN/Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

²Bolsista FIOTEC

³Estagiário SEPIN/ Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

⁴EPO/Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

⁵DEQUA/Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

A utilização de padrões secundários (micro-organismos autóctones, denominados *in house*) no controle de qualidade dos meios de cultura utilizados nas validações dos processos de fabricação de injetáveis, assim como nos testes de controle de qualidade, é uma tendência mundial. Estas cepas provenientes das áreas limpas de produção tendem a refletir a microbiota característica de cada unidade industrial.

Em acordo com as normas nacionais e internacionais de Boas Práticas de Fabricação (BPF), foram utilizados os micro-organismos com maior incidência no monitoramento ambiental de Bio-Manguinhos para a produção de lotes-trabalho de cepas autóctones. Estes micro-organismos foram extraídos da Bacterioteca de Bio-Manguinhos, desenvolvida pela SEPIN/DEQUA, de acordo com a incidência nas diversas áreas de produção. Foram selecionados nove micro-organismos, sendo quatro cocos Gram positivos, três bastonetes Gram negativos, um coco Gram negativo e um bastonete Gram positivo. Os isolados bacterianos foram caracterizados fenotipicamente através de observação morfotintorial (Gram), teste de KOH, catalase, oxidase e indol, e posteriormente, identificados através do kit comercial BBL Crystal (Becton, Dickinson and Co). Todos os nove micro-organismos isolados foram submetidos à identificação genética, utilizando-se o kit Fast MicroSeq 500 16S rDNA Bacterial Identification (Applied Biosystems) e o sequenciamento do gene referente ao rDNA 16S. Foram realizados lotes-trabalho para todos os micro-organismos.

Destes, três cepas autóctones, assim como as cepas de referência tradicionalmente preconizadas pelas farmacopeias harmonizadas, foram inseridas no teste de promoção de crescimento em meios de cultura líquidos utilizados em simulações de envase (*media*

fill) e nos testes de esterilidade bacteriana, a partir de julho de 2010. Esse procedimento atendeu à exigência da Auditoria Externa realizada pela ANVISA/INCQS/VISA-RIO, garantindo nossa conformidade com as normas vigentes. Esses três micro-organismos foram utilizados na avaliação de 117 lotes de meio de cultura e, em novembro de 2010, houve a substituição das cepas utilizadas, para avaliação do desempenho de outros micro-organismos. Com o novo conjunto (outras três cepas autóctones), foram avaliados mais 120 lotes. Nos seis micro-organismos testados foi possível a detecção de crescimento microbiano, sendo que em duas espécies foi observada uma turvação mais discreta dos meios de cultura desafiados. Entretanto, a turvação foi suficiente para a leitura do teste e o número de células viáveis se apresentou na faixa indicada para desafio (10-100 UFC).

Deste modo, o preparo de lotes-trabalho a partir de cepas autóctones pertencentes à Bacterioteca de Bio-Manguinhos se mostrou viável e satisfatório, assim como o emprego dos mesmos para determinar a eficácia dos meios de cultivo utilizados no controle de qualidade de vacinas e biofármacos produzidos em Bio-Manguinhos.

Palavras-chave: cepas autóctones; promoção de crescimento; *media fill*.

ESTRATÉGIA PARA ACREDITAÇÃO DE UM PROVEDOR DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA NA ÁREA DE SOROLOGIA NA NORMA ISO/IEC 17043 - CONFORMITY ASSESSMENT – GENERAL REQUIREMENTS FOR PROFICIENCY TESTING.

Autores: Vinicius Alves Pessanha, José Antônio Pinto de Sá Ferreira e Akira Homma.
Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

A demonstração de competência na condução da avaliação do desempenho dos participantes de um Programa de Ensaio de Proficiência pode ser alcançada pela acreditação dos laboratórios provedores desses ensaios sendo um instrumento legal de reconhecimento por uma entidade do atendimento a requisitos previamente definidos.

Com esse propósito, foi publicada em 2010 a ISO/IEC 17043 – Conformity Assessment – General Requirements for Proficiency Testing. Com o objetivo de implementar um modelo de Gestão da Qualidade em um laboratório de Bio-Manguinhos, provedor de um Programa na área de sorologia e propor a sua futura acreditação foi realizada a interpretação da norma ISO/IEC 17043 e uma análise diagnóstica com base documental, observação e acompanhamento de processos, além de entrevistas com os responsáveis técnicos.

Na avaliação qualitativa da aderência ao Programa de Ensaio de Proficiência os requisitos foram caracterizados como implementados, implementados parcialmente ou não implementados, de acordo com as evidências de cumprimento observadas. Em seguida, os dados consolidados foram quantificados com relação ao percentual de aderência de cada requisito e foi proposto um Plano de Ação visando à implementação de todos os requisitos. Apesar da norma ISO/IEC 17043 ser uma referência recente e ainda não implementada pelo Inmetro no Brasil, o Programa em questão demonstrou um bom índice de aderência (75%) à maioria dos seus requisitos, considerando-se o total de itens implementados (48%) e parcialmente implementados (27%).

A acreditação do laboratório provedor possibilitará aos participantes evidências do planejamento e condução do Programa conforme procedimentos legais estabelecidos e atendimento a padrões de qualidade previamente definidos para o uso de testes com material biológico humano. Os próximos passos para a acreditação do laboratório provedor consistirão no cumprimento do Plano de Ação, seguido de uma pré-auditoria por especialistas da área visando a detecção e correção de possíveis não conformidades, antes da realização da auditoria final pelo Inmetro.

Palavras chave: Acreditação, Ensaio de Proficiência e Sorologia.

ANÁLISE DOS LAUDOS DE REPROVAÇÃO DE CARTUCHOS E RÓTULOS EMITIDOS PELA SEÇÃO DE MATÉRIAS-PRIMAS DO DEPARTAMENTO DE CONTROLE DE QUALIDADE DE BIO-MANGUINHOS.

Autor/ apresentador: Ricardo Creton Altino

Instituição: Bio-Manguinhos/UFRJ

Trabalho desenvolvido como requisito para a conclusão do Curso de Especialização em Gestão Industrial de Imunobiológicos - Bio-Manguinhos/ UFRJ.

INTRODUÇÃO

A Seção de Matérias-primas (SEMPR) do Departamento de Controle de Qualidade (DEQUA) é responsável pela análise e emissão dos laudos de aprovação ou reprovação dos materiais comprados e recebidos por Bio-Manguinhos e que interagem diretamente com o processo produtivo, incluindo os materiais de embalagem primária, secundária e terciária.

Por consequência da elevação do índice de reprovação de determinados materiais de embalagem, tornou-se necessário o estudo das causas inerentes a estas ocorrências, assim como propor melhorias para reduzi-las ou eliminá-las.

Tendo como base os grupos de embalagens de cartuchos e rótulos, os quais apresentaram maior índice de reprovação durante o período delimitado para o trabalho (anos 2008, 2009 e 2010), foi aplicado o Método de Identificação, Análise e Solução de Problemas - MIASP que possibilitou através do estudo de determinados indicadores, elucidar pontos críticos e apresentar possibilidades de melhorias para o processo produtivo, recebimento e análise destes materiais.

OBJETIVO

Através da aplicação de um Método de Identificação, Análise e Solução de Problemas - MIASP, esclarecer as possíveis causas do aumento do número de laudos de reprovação emitidos nos anos de 2008, 2009 e 2010 pela Seção de Matérias-Primas- SEMPR do Departamento de Controle de Qualidade -DEQUA, para os materiais de embalagem (grupos de cartuchos e rótulos), comprados e recebidos por Bio-Manguinhos, assim como propor melhorias com o objetivo de sanar ou reduzir suas ocorrências e consequentemente o impacto econômico e logístico inerentes a estas reprovações.

CONCLUSÃO

O Método de Identificação, Análise e Solução de Problemas - MIASP proposto para o trabalho foi aplicado ao objeto em questão de forma eficaz possibilitando a geração de melhorias plausíveis e com aplicação imediata em determinadas causas identificadas como possíveis geradoras do problema.

Através deste trabalho foi possibilitado esclarecer, estudar e gerar soluções de melhorias para a redução ou erradicação dos laudos de reprovação de cartuchos e rótulos emitidos pela Seção de Matérias-Primas - SEMPR do Departamento de Controle de Qualidade - DEQUA, resultando na diminuição dos impactos negativos atribuídos à reprovação destes materiais, nas áreas de Qualidade, Produção, Custos e Logística.

EXPRESSION AND PURIFICATION OF M PROTEIN DENGUE VIRUS SEROTYPE 2...

Ana Paula Dinis Ano Bom 1; Izabella Sodré Buty da Silva 1; Monica dos Santos Freitas 2; Jerson Lima.

1 Laboratório de Macromoléculas, Bio-Manguinhos, FIOCRUZ, 2 Laboratório de Termodinâmica de Proteína.

BACKGROUND/INTRODUCTION

Infection caused by Dengue virus (DENV), serotypes 1,2,3 and 4, are responsible for up to 100 million of dengue fever cases annually. Capsid protein (C), envelope protein (E) and membrane protein (M) are products of viral RNA translation and targets for immunodiagnostic assays and vaccine.

METHODS

The M protein, the least studied of the three proteins has been the object of our study aiming its employing as antigen for a future serological test. In this context recombinant M protein of DENV-2 was over-expressed in *E. coli* after grown conditions optimization. The recovering of the M protein from inclusion body was performed by sonication in presence of 8 M urea and 1% SDS. The first purification step used to purify the M protein was Superdex 200 column. SDS-PAGE analysis of the chromatographic fractions indicates the presence of M protein in the last peak of the gel fractioning range. Due to the isolated M protein fraction to present protein impurities, the reverse phase chromatography in a C-4 column has been used to improve the recovery of the target protein. Further studies will evaluate the protein immunogenic properties aiming its use as antigen in an immunodiagnostic assay.

Word Keys: M protein, Dengue, Diagnostic.

Supported by: Biomanguinhos, FAPERJ.

AVALIAÇÃO DE ANTÍGENO RECOMBINANTE DE *LEISHMANIA CHAGASI* POR ENSAIO IMUNODIAGNÓSTICO PARA A LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA.

Prof. Dr. José Godinho, Renata Chagas Bastos, Cristiane Marques de Souza, Edimilson Domingos da Silva, Ana Paula Dinis Ano Bom e Hilton Jorge Nascimento.

VDTEC - Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz, RJ.

A leishmaniose visceral (LV) causada pelo parasito *Leishmania chagasi* é uma doença severa que ocorre em seres humanos sendo prevalente em vários países, inclusive no Brasil. Trata-se da forma com maior potencial de letalidade. Os cães são importantes reservatórios do parasito, portanto o diagnóstico canino é essencial para os programas de vigilância da LV. Na área de reativos para diagnóstico do Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos de Bio-Manguinhos vem-se trabalhando com afinco para gerar em curto prazo, novos produtos para imunodiagnósticos.

Esta é uma atividade extremamente relevante, principalmente, por se enquadrar na política do Ministério da Saúde, na área de controle e diagnóstico de doenças infecto-contagiosas, melhorando desta forma, as ações do Sistema Único de Saúde, dedicados à população. Neste âmbito, o presente trabalho refere-se à expressão, ao isolamento e a purificação de um antígeno recombinante proteico de *Leishmania chagasi*, Lc9 (rLci 2B) produzido em *Escherichia coli* visando um imunoensaio para o diagnóstico desta enfermidade. A referida proteína por conter um marcador de seis histidinas em uma de suas extremidades terminais, foi purificada por cromatografia de metal imobilizado (Ni) seguido por cromatografia de exclusão e peneiração molecular em coluna de Superdex 200. Para o desenvolvimento de um imunoensaio enzimático, relacionado ao diagnóstico da Leishmaniose visceral canina, o antígeno em questão foi desafiado perante painel de soros caninos positivos e negativos para Leishmaniose, como também perante painel de soros positivos para outras enfermidades caninas passíveis de gerar reações cruzadas, quando testadas com os antígenos tradicionais. Segundo esta metodologia, o antígeno Lc9 apresentou ótimos resultados (sensibilidade 100% e especificidade 95%), além de se mostrar específico a *L. chagasi*, como observado nos resultados referentes aos testes de reações cruzadas. Os resultados obtidos, então, sugerem o uso da proteína recombinante Lc9 para o melhoramento do diagnóstico da leishmaniose visceral.

Palavras chaves: 1- *Leishmania chagasi*, 2- Imunodiagnóstico, 3- Proteína recombinante.

PADRONIZAÇÃO DE COMPONENTES DE UM IMUNOENSAIO DO TIPO MULTITESTE BASEADO NA TECNOLOGIA DE MICROARRANJOS LÍQUIDOS

Christiane de Fátima Silva Marques, Bruna de Paula Fonseca e Fonseca, Marcelle Brall de Mello, Leila Botelho Rodrigues da Silva, Nara Mazarakis Rubim, Leonardo Foti, Edimilson Domingos da Silva, Antonio Gomes Pinto Ferreira, Marco Aurélio Krieger.

Bio-Manguinhos/FIOCRUZ, Instituto de Biologia Molecular do Paraná (IBMP) e Instituto Carlos Chagas

INTRODUÇÃO

A tendência tecnológica de adoção de ensaios do tipo multiplex para avaliação de novos fármacos, definição de perfil imunológico e detecção de patógenos vem se confirmando por meio de inúmeros estudos descrevendo o desenvolvimento, avaliação comparativa e validação destes multitestes em relação aos ensaios moleculares e imunoenaios tradicionais. A plataforma de Microarranjos Líquidos, baseada em uma tecnologia desenvolvida pela Luminex Inc. (Austin, TX), foi adotada por Bio-Manguinhos/FIOCRUZ em parceria com o Instituto de Biologia Molecular do Paraná (IBMP) e o Instituto Carlos Chagas (ICC/FIOCRUZ) para o desenvolvimento de um multiteste a ser usado para detecção da resposta imunológica a doenças infecciosas.

Objetivo: Definir e avaliar o desempenho de componentes do multiteste, especificamente os controles do ensaio e o anticorpo secundário usado como repórter da reação.

MÉTODOS

Para os controles do ensaio, foi validado o processo de inativação de amostras biológicas por aquecimento a 56°C durante 30 minutos, seguido de adição de glicerol (1:1). Uma mistura de amostras positivas para cada doença-alvo (controle positivo), de reatividade previamente definida por meio de kits comerciais, foi inativada e seus resultados foram comparados aos da mistura sem qualquer tratamento prévio com as mesmas amostras em um multiteste.

O mesmo procedimento foi adotado para avaliação do controle negativo do multiteste, composto por uma amostra negativa para todas as doenças-alvo. Para o anticorpo secundário conjugado uma molécula fluorescente (usado como repórter da reação) foi feita uma avaliação comparativa entre o componente produzido internamente (Setor de Insumos e Conjugados, do Departamento de Reativos para Diagnóstico e Laboratório de Tecnologia Diagnóstica - Bio-Manguinhos/FIOCRUZ) e anticorpos comercialmente disponíveis.

CONCLUSÕES

O processo de inativação dos controles (positivo e negativo) não interfere em seus papéis no multitestes em desenvolvimento. Adicionalmente, o desempenho geral do anticorpo secundário produzido internamente é comparável ao de similares comerciais, sem que haja variação de sua performance quando diferentes lotes produzidos in house são avaliados. O desenvolvimento interno de componentes essenciais do multitestes pode contribuir para a nacionalização de insumos, potencialmente reduzindo o custo de produção. De forma complementar, a obtenção de componentes com a mesma temperatura de armazenamento e transporte (4° a 8° C) facilita o processamento final do produto, bem como reduz os custos de logística relacionados à manutenção de cadeia fria durante seu transporte e distribuição.

Palavras-chave: multitestes, doenças infecciosas, controles.

AVALIAÇÃO DE IMUNOENSAIO DO TIPO MULTITESTE PARA DETECÇÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA A AGENTES INFECCIOSOS.

Bruna de Paula Fonseca e Fonseca, Christiane de Fátima Silva Marques, Bernardo Oliveira Loureiro.

Bio-Manguinhos/FIOCRUZ, Instituto de Biologia Molecular do Paraná (IBMP) e Instituto Carlos Chagas.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem se observado uma forte tendência à incorporação de ensaios do tipo multiplex, que permitem a detecção de diversos marcadores simultaneamente em uma amostra biológica, agregando os conceitos de miniaturização e paralelismo aos imunoenaios clássicos. A tecnologia xMAP (Luminex, Austin) é uma das mais promissoras opções para desenvolvimento de ensaios do tipo multiplex, com o potencial de reduzir custos, volume de amostra necessário e tempo de dedicação do operador à realização do teste, uma vez que possibilita automação do ensaio. Esta tecnologia vem sendo aplicada no desenvolvimento de um multiteste para detecção da resposta imunológica a agentes infecciosos em um dos projetos do Programa de Reativos para Diagnóstico (PRED, Bio-Manguinhos/FIOCRUZ) em parceria com o Instituto de Biologia Molecular do Paraná (IBMP) e o Instituto Carlos Chagas (ICC/FIOCRUZ).

OBJETIVO

O presente estudo avaliou comparativamente o desempenho de um multiteste para captura de anticorpos contra três agentes infecciosos baseados na tecnologia xMAP com ensaios imunoenzimáticos comerciais (EIA) amplamente utilizados no Brasil. Métodos: Foram analisadas 238 amostras de referência provenientes do painel de Avaliação Externa da Qualidade (Divisão de Produção de Painéis Sorológicos, Departamento de Reativos para Diagnóstico, Bio-Manguinhos/FIOCRUZ), cujo status sorológico foi previamente definido com kits comercialmente disponíveis, sendo 28 reagentes para a doença A, 27 para a doença B, 30 para a doença C e 153 negativas. A capacidade multiplex do ensaio desenvolvido foi comprovada por meio do uso de uma mistura de microesferas acopladas a diferentes antígenos. Usando o EIA como padrão-ouro, foram definidos os valores de sensibilidade (SEN), especificidade (ESP), valores preditivos positivos (VPP) e negativos (VPN) para o multiteste, além do índice geral de associação entre as metodologias.

RESULTADOS

O multiteste apresentou concordância geral de 99,4% para a doença A, 98,9% para a doença B e 99,5% para a doença C com os kits comerciais. Quanto ao desempenho geral do multiteste, foram estabelecidos os valores de 96,43% (SEN), 100% (ESP), 100% (VPP) e 99,2% (VPN) para a doença A; 96,3% (SEN), 99,34% (ESP), 96,3% (VPP) e 99,34% (VPN) para a doença B; e 100% (SEN), 99,35% (ESP), 96,77% (VPP) e 100% (VPN) para a doença C. Conclusões: Os resultados indicam boa associação do

multiteste desenvolvido com a metodologia de EIA. As vantagens previamente citadas da tecnologia xMAP, em conjunto com a potencial redução de custos e ganhos operacionais advindos do uso de um ensaio multiteste, configuram-se como reais benefícios do uso de ensaios multiplex para essa e outras aplicações.

Palavras-chave: multiteste, doenças infecciosas, EIA.

PERFIL ANALÍTICO DA PRODUÇÃO DO CONJUGADO PROTEÍNA A/OURO COLOIDAL UTILIZADO NO TESTE RÁPIDO HIV 1/2

Rafael de Oliveira Resende; Edinéa Pastro Mendes; Felipe Rodrigues Costa Vicente; Simone de Amorim Chermont; Cláudia Moraes Molinaro; Marco Antonio Lemos; Raouf Emile Sykora.

Seção de Insumos, Conjugados e Apoio (SEICA), Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED), Bio-Manguinhos, Fiocruz, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

INTRODUÇÃO

Nanopartículas conjugadas com proteínas ligantes de imunoglobulinas têm sido utilizadas como uma importante ferramenta na identificação de anticorpos específicos a antígenos nativos ou sintéticos que representam os mais diversos agentes patogênicos. Dentre os métodos imunológicos de diagnósticos, alguns protocolos de Imunocromatografia de Fluxo Lateral utilizam proteína A conjugada com ouro coloidal, formando um complexo de detecção, o que constitui um relevante mecanismo de avaliação da imunidade humoral em indivíduos com reatividade ao HIV. O processo de produção desse conjugado deve ser monitorado à óptica de parâmetros que representam a sua capacidade de efetivo rendimento, aliada à manutenção da atividade biológica.

OBJETIVOS

Avaliar o perfil analítico da produção do conjugado Proteína A/Ouro Coloidal (PtnA/OC) utilizado no kit de Teste Rápido HIV 1/2 (Fiocruz/Bio-Manguinhos) no período compreendido entre janeiro de 2010 e abril de 2011.

MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 26 lotes de PtnA/OC foram analisados quanto ao volume e rendimento percentual durante o processo de produção para impregnação na membrana do conjugado que compõe o dispositivo de diagnóstico cromatográfico contido no kit Teste Rápido HIV 1/2. Os dados referentes ao rendimento percentual foram obtidos por meio da relação entre volume e densidade óptica do ouro coloidal conjugado ou não à proteína A. Foram também analisados os volumes produzidos durante o processo de estabilização do conjugado por meio de duas frações produtivas: amostragem para validação (Teste de aceitação) e total (Lote inteiro).

RESULTADOS

Houve correlação positiva alta ($p < 0,001$; $r = 0,9414$) entre os valores de volume e rendimento percentual. A similaridade entre os coeficientes de variação de volume (7,95%) e rendimento (8,81%) bem como a dinâmica de resultados observados também representou forte associação entre estes parâmetros. Não houve diferença entre a razão volume/rendimento, quando os lotes produzidos em 2010 e 2011 (mediana=1,4 para ambos) foram comparados. Além disso, no processo de estabilização do conjugado, não houve diferença entre o volume, por lote, do Lote inteiro, no período analisado (mediana 80 vs. 72; $p = 0,1029$). Entretanto, observou-se uma pequena redução do volume produzido, por lote, para o Teste de aceitação, em 2011, comparado ao ano anterior (mediana 6,1 vs. 5,5; $p = 0,0103$). Os parâmetros analisados não influenciaram o processo de impregnação do conjugado PtnA/OC na membrana.

CONCLUSÕES

Volume e rendimento percentual são fatores diretamente relacionados e constituem importantes aspectos quantitativos na avaliação do perfil analítico de produção de conjugados PtnA/OC. A similaridade entre o volume médio do Lote inteiro de conjugado produzido nos anos de 2010 e 2011 representa uma eficaz padronização deste parâmetro.

Palavras-chave: ouro coloidal; nanopartículas; conjugados.

NAT HIV/HCV BIO-MANGUINHOS – AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO ESTUDO MULTICÊNTRICO NA HEMORREDE BRASILEIRA.

Patrícia A. Brindeiro¹; Andrea Petry²; Maria Esther D. Lopes³; Ana Cristina S. Bezerra⁴; Nanci A. Salles⁵; Antonio G. P. Ferreira¹; Elisabete F. Andrade¹; Daniele R. Rocha¹; Fabiane P. Monteiro¹; Jane T. Martins⁶; Marcos A. Krieger⁷; Rodrigo M. Brindeiro⁸; Guilherme Genovez⁶.

- 1- Bio-Manguinhos / Fiocruz
- 2- HEMOSC / Hemocentro de Santa Catarina
- 3- HEMORIO / Hemocentro do Rio de Janeiro
- 4- HEMOPE / Hemocentro de Pernambuco
- 5- FPS / Fundação Pró-Sangue São Paulo
- 6- CGSH/MS Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados Ministério da Saúde
- 7- IBMP / Instituto de Biologia Molecular do Paraná
- 8- UFRJ / Universidade Federal do rio de Janeiro

OBJETIVO

O NAT (Teste de Amplificação de Ácidos Nucléicos) é o resultado de um projeto estratégico pioneiro de inovação tecnológica em saúde pública no Brasil. Trata-se do desenvolvimento de um teste para triagem de HIV e HCV, em multiplex, baseado na plataforma de PCR em tempo real. O NAT permitirá diminuir a janela de detecção destes vírus em doadores de sangue, diminuindo o risco residual transfusional e aumentando a segurança transfusional. Visando a validação do Kit NAT HIV/HCV foi realizado estudo multicêntrico em quatro Serviços de Hemoterapia (HEMORIO, HEMOSC, HEMOPE e FPS/SP) entre julho e dezembro de 2010.

METODOLOGIA

O Kit NAT HIV/HCV tem capacidade para processar até 552 amostras em mini pool de 6 num ensaio triplex real, discriminatório, em 8h de trabalho. Possui um Calibrador Interno bioseguro (Patente da Fiocruz), capaz de monitorar todas as etapas do processo. A plataforma NAT é composta por três equipamentos: Janus (PE), MDx (QIAGEN) e ABI 7500 (ABI).

RESULTADO

Foram processadas 120.998 amostras, destas: 27.825 do HEMORIO, 39.943 do HEMOSC, 36.623 do HEMOPE e 16.607 da FPS. Das amostras processadas 73 e 53 foram NAT e sorologia positiva para HIV e HCV, respectivamente. Painéis internacionais de soroc conversão, interferentes, genótipos e título misto também foram processados durante o estudo, apresentando resultados satisfatórios. Conclusões: Este estudo possibilitou validar o uso deste kit na rotina de Serviços de Hemoterapia brasileira e viabilizará sua implementação em âmbito nacional. Os dados preliminares do estudo demonstram que 0,06% e 0,04% de amostras foram HIV e HCV sorologia e NAT positivos. Através dos resultados com os painéis internacionais comprovou-se o princípio do produto para detecção de amostras em fase de janela imunológica. O NAT é complementar a sorologia e não possui a capacidade de substituí-la, devendo ser implementado gradativamente na hemorrede brasileira ao longo de 2012 com apoio do MS.

Palavras chave: Teste triagem HIV HCV, diagnóstico molecular, PCR em Tempo Real multiplex.

CLONAGEM, EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS DE STREPOCOCCUS PNEUMONIAE SOROTIPO 5.

Ana Paula Corrêa Argondizzo¹, Camila Borges Rodrigues¹, Fabio Faria da Mota², Antônio Basílio de Miranda², Ricardo Galler¹, Marco Alberto Medeiros¹.

1- Laboratório de Tecnologia Recombinante (LATER) / Bio-Manguinhos / FIOCRUZ / Rio de Janeiro

2- Laboratório de Biologia Computacional e Sistema / IOC / FIOCRUZ / Rio de Janeiro

INTRODUÇÃO

O agente etiológico *S. pneumoniae* é um dos principais causadores de infecções do trato respiratório como otite, meningite e pneumonia, sendo responsável por milhões de mortes anuais. As vacinas em uso atualmente incluem ou uma formulação polissacarídica, que é pouca imunogênica em crianças menores de dois anos de idade, ou uma conjugação de polissacarídeos e proteínas, sendo estas de custo elevado e coberturas limitadas. A partir de 2010 o Programa Nacional de Imunização do Brasil começou a oferecer gratuitamente a vacina 10-valente, no entanto a não abrangência de todos os sorotipos bacterianos continua sendo um desafio. Para contornar este problema, vários grupos vêm investigando proteínas associadas à virulência como potenciais antígenos candidatos a vacinas.

OBJETIVOS

Selecionar, amplificar, clonar, expressar e purificar proteínas de superfície de *S. pneumoniae* em *Escherichia coli* BL21 (DE3) Star (Invitrogen). Métodos: Para análise do genoma do sorotipo 5 de *S. pneumoniae* e seleção dos candidatos utilizamos o sistema operacional Linux e a linguagem de programação Perl. Os genes selecionados foram amplificados por PCR, a partir do ADN de *S. pneumoniae* sorotipo 5 cepa 617/00, e clonados no vetor de expressão pET100-D/TOPO (Invitrogen) o qual permite expressão da proteína recombinante fusionada à cauda de histidina. Os clones recombinantes obtidos em *E. coli* Top 10 (Invitrogen) foram digeridos com enzimas de restrição e sequenciados a fim de comprovar a integridade das construções. Os plasmídeos recombinantes foram inseridos em *E. coli* BL21 (DE3) Star, sendo a expressão e solubilidade das proteínas testadas em cultivos induzidos a diferentes temperaturas. As proteínas solúveis foram purificadas em coluna HistrapHP (GE Healthcare). Após a purificação as proteínas foram dialisadas e estocadas a -70°C, a seguir descongeladas e quantificadas pelo método de BCA (Pierce).

RESULTADOS

A análise *in silico* gerou um banco de dados contendo proteínas de 60 genomas de *Streptococcus sp.*, dos quais 26 são de *S. pneumoniae*. Inicialmente identificamos 159 proteínas com mais de 70% de identidade e 60% de *overlap* exclusivas de pneumococo. Em análises subsequentes identificamos 78 candidatos com predição para localização na

superfície celular (score para localização de membrana citoplasmática, parede celular ou extracelular) utilizando os programas PSORTb, SOSUI e Phobius. Na primeira fase selecionamos 18 genes para clonagem e expressão dos quais 13 já foram clonados e expressos em E.coli BL21 (DE3) Star. As proteínas expressas foram avaliadas quanto a sua solubilidade e nível expressão, sendo que das 13 proteínas avaliadas, 8 foram expressas na forma solúvel. No momento as proteínas recombinantes estão sendo purificadas e inoculadas em animais para produção de soros policlonais os quais serão utilizados em ensaios de inibição de adesão celular, de citometria de fluxo e de imunogenicidade. O trabalho desenvolvido permitirá a seleção de candidatos para avaliação em ensaios de proteção em modelo murino visando o desenvolvimento de uma vacina protéica de amplo espectro para *S. pneumoniae*.

Palavras-chave: *S. pneumoniae*, vacina, proteínas recombinantes.

SUBUNIT LEPTOSPIRAL IMMUNOGLOBULIN-LIKE (LIG) PROTEIN VACCINE PROTECTS AGAINST LETHAL CHALLENGE IN THE HAMSTER MODEL OF LEPTOSPIROSIS.

Gabriela dos Santos Esteves¹, Paula Carvalhal L. Von B. Ristow², Elsio Augusto Wunder Junior², Marina da Silva Rosa¹, Cláudio P. Figueira², Mitermayer Galvão Reis², Albert Icksang Ko^{2, 3}, Marco Alberto Medeiros¹.

¹Bio-Manguinhos, Oswaldo Cruz Foundation, Ministry of Health, Brazil; ²Gonçalo Moniz Research Center, Oswaldo Cruz Foundation, Ministry of Health, Brazil; ³Yale School of Public Health, New Haven, EUA.

INTRODUCTION

Subunit vaccines are a potential intervention strategy to prevent leptospirosis, an important neglected disease in developing countries. Lig proteins are a putative virulence factor which has bacterial Ig-like repeat domains and is expressed on the surface of *Leptospira*. We previously reported that immunization of recombinant Lig protein fragments in Freund's adjuvant conferred protection against lethal challenge in the hamster model of leptospirosis.

OBJECTIVE

This work aimed the evaluation of Lig immunoprotection using aluminum hydroxide as an adjuvant, which is acceptable for human use. Methods: The *ligA* gene of *Leptospira interrogans* Copenhageni strain Fiocruz L1-130 corresponding to nucleotides 1873-3675 was cloned, expressed and purified in soluble way by affinity chromatography, and after that adsorbed to aluminum hydroxide. Golden Syrian hamsters (n = 8 or 10) were immunized with two doses (20-80 µg) of purified LigANI in aluminum hydroxide adjuvant, by either subcutaneous or intramuscular routes, and challenged two weeks afterwards with a lethal dose (2.5× LD₅₀) of *L. interrogans* strain Fiocruz L1-130. New Zealand White rabbits were immunized with rLigANI for production of hyperimmune sera. Results: Immunization with LigANI conferred 100% protection against mortality (five experiments, P<0.0005) by either route used. Immunofluorescence studies of pre-challenge sera found that immunized hamsters produced surface-binding antibodies. Passive transfer of rabbit hyperimmune sera conferred protection against lethality of 50 to 85% in hamsters (two experiments, P<0.02). Albeit LigANI-based vaccine protected hamsters against lethal infection and serum anti-LigANI partially protected hamsters against mortality, no sterilizing immunity was observed.

CONCLUSIONS

Together these findings indicate that immunization with recombinant Lig proteins in aluminum hydroxide confers robust immunoprotection in the standard animal model of leptospirosis and that the mechanism of immunity is antibody-dependent. Lig proteins

may therefore serve as a sub-unit vaccine candidate for human and animal leptospirosis. Improvement efforts should focus on sterilizing immunity and heterologous protection.

Key words: vaccine, Leptospirosis, recombinant proteina.

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA HUMORAL INDUZIDA EM ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO PELA COMBINAÇÃO DA VACINA DTP-HIB COM AS VACINAS MENINGOCÓCICAS B E C CONJUGADA.

¹Fernanda Otaviano Martins; ¹Ana Paula dos Santos; ¹Solange Aparecida Fernandes; ¹Maria de Lourdes Leal ²Karen Friedrich; ²Andrea Pereira Larangeira; ¹Ellen Jessouroun.

¹FIOCRUZ – BIO-MANGUINHOS / ²FIOCRUZ-INCQS

A combinação de vacinas é uma estratégia de grande relevância para o Programa Nacional de Imunizações. Através dela, é possível aumentar a proteção a múltiplas doenças em uma única vacina, bem como diminuir as constantes visitas ao posto de saúde. Contudo, uma das desvantagens em relação a esse tipo de estratégia é a possibilidade de ocorrer interferência antigênica entre os seus componentes, o que pode resultar na diminuição da resposta imunológica. Devido a este fato, foi realizada uma combinação com vacinas já presentes no calendário brasileiro de imunizações (DTP-Hib) a vacinas experimentais em desenvolvimento em Bio-Manguinhos (meningocócica B e meningocócica C conjugada), com a finalidade de apresentar uma nova perspectiva de produto a esta unidade bem como avaliar a interferência entre os componentes vacinais utilizados na combinação e a pirogenicidade.

A resposta imunológica aos componentes vacinais foi avaliada em camundongos suíços e NIH pelo ELISA (VME, polissacarídeo C, PRRP, Bordetella pertussis, toxóide tetânico e diftérico).

Todos os componentes vacinais avaliados pelo ELISA induziram soroconversão nos animais 30 dias após a última imunização. Quando comparadas à vacina combinada completa, somente a resposta imunológica ao polissacarídeo C sofreu interferência de algum componente vacinal. Após novas combinações da vacina meningocócica C conjugada às outras vacinas, pode-se concluir que a vacinas DTP e Hib interagem positivamente na resposta daquela vacina. Na quantificação de IgG total em camundongos suíços imunizados com as duas combinações (DTP-Hib e DTP-Hib/B/C), não ocorreu diferença significativa entre os dois grupos. O teste de pirogenicidade realizado em coelhos comprovou que, quando combinadas entre si, às vacinas são capazes de aumentar a temperatura destes animais, provavelmente, devido à presença de Bordetella pertussis e VME de Neisseria meningitidis grupo B.

O ELISA mostrou-se muito satisfatório na pesquisa da resposta imunológica em camundongos para todos os componentes vacinais. Embora preliminares, os resultados são muito importantes, pois introduzem novas perspectivas para a realização de outras combinações que atendam as demandas requisitadas pelo Programa Nacional de Imunizações.

Palavras-chave: vacinas combinadas, resposta imunológica, animais de experimentação.

ANÁLISE RESIDUAL DA PROTAMINA E DETERMINAÇÃO DA AÇÃO DESTA PROTEÍNA SOBRE A PREPARAÇÃO PRÉ-VACINAL CONTRA A FEBRE AMARELA

Débora Elias de Oliveira Rocha¹; Renata Chagas Bastos²; Dr. Hilton Jorge Nascimento²; Dr. José Godinho da Silva Junior².

1-Departamento de Vacinas Bacterianas - DEBAC, Bio-Manguinhos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil.

2-Laboratório de Macromoléculas - LAMAM, Bio-Manguinhos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil.

Desde 1937, Bio-Manguinhos produz a vacina atenuada contra a febre amarela utilizando embrião livre de patógenos específicos. Nos últimos anos, melhorias no processo de produção desta vacina têm sido avaliadas em paralelo ao desenvolvimento da vacina inativada. Uma proposta apresentada, pelo Programa de Vacinas Virais (Bio-Manguinhos), para o aprimoramento da vacina atenuada, consiste na inclusão de uma etapa de clarificação da suspensão viral, por adição de sulfato de protamina (SP). Tal proteína básica promove a precipitação de material genético, que conseqüentemente causa diminuição da viscosidade do meio, tornando possível a filtração esterilizante da preparação pré-vacinal. Com a introdução desta etapa tornou-se necessário desenvolver uma metodologia analítica para a quantificação da referida proteína, visando determinar a quantidade residual da mesma na suspensão viral. Neste contexto, com base nas características da protamina, três metodologias foram avaliadas: Cromatografia de troca catiônica, cromatografia de afinidade em heparina e cromatografia de alto desempenho em fase reversa. Para o estudo comparativo entre as metodologias de troca catiônica e de afinidade, foi realizada uma curva de calibração com diferentes concentrações da solução aquosa de SP para cada metodologia. A suspensão viral foi tratada com Sulfato de protamina a fim de obter uma concentração final de 0,5% de SP. O sulfato de protamina residual foi analisado previamente por cromatografia de troca catiônica utilizando a coluna Hitrap[®] CM FF, no qual obtiveram-se resultados promissores, atingido o limite de detecção de 25 µg/mL. A cromatografia de afinidade, utilizando a coluna Hitrap[®] Heparin também mostrou resultados satisfatórios, com limite de detecção de 12,5 µg /mL. Desafortunadamente, esta coluna apresentou problemas de pressão após o seu uso prolongado, provavelmente devido à alta complexidade da suspensão viral. Os resultados obtidos durante a cromatografia de fase reversa não foram satisfatórios em função da natureza da matriz em confronto com as peculiaridades estruturais da amostra (SP). Diante dos resultados obtidos, a metodologia escolhida foi a cromatografia de troca catiônica utilizando a coluna Hitrap CM, pois apresentou uma maior robustez quando comparada com a coluna de afinidade. Além da identificação e quantificação do sulfato de protamina residual na suspensão viral, estudou-se a ação desta proteína básica sobre os ácidos nucléicos e a provável ação sobre a ovalbumina. A concentração de ácidos nucléicos foi avaliada através do método fluorimétrico quantitativo obtendo resultados condizentes com os dados da literatura. O tratamento da suspensão viral com sulfato de protamina acarretou uma diminuição de 98% no teor de ácido nucléico presente na amostra original. Através do ELISA direto, observou-se que o sulfato de protamina não tem atuação como agente de precipitação sobre a ovalbumina presente na suspensão viral quando comparado quantitativamente antes e após tratamento com o sulfato de protamina.

Palavras-chave: Protamina; febre amarela; ovalbumina.

ANÁLISE COMPARATIVA DAS FERRAMENTAS DE ANÁLISE DE RISCO FMEA E HAZOP.

Cíntia Cardoso da Costa¹; André Favre Galvão¹; Miguel Angel de La O Herreral¹; Marília Stella Vaz Costa Bellart.

1 Vice-Diretoria de Produção (VPROD) / Bio-Manguinhos / Fiocruz; 2 Vice-Diretoria de Qualidade (VQUAL).

INTRODUÇÃO

Como a produção e o uso de um produto farmacêutico apresentam inerentemente determinado grau de risco, o que torna esse tema alvo das agências regulatórias, as empresas enfrentam o desafio de prever falhas potenciais nos processos de manufatura. Deste modo, ferramentas que auxiliam as organizações no âmbito do gerenciamento de riscos são introduzidas com frequência cada vez maior. Tais ferramentas colaboram para a tomada de decisão de modo mais assertivo caso desvios sejam identificados.

A globalização do mercado farmacêutico forçou a necessidade de uma racionalização à harmonização da regulamentação, para introdução de novos medicamentos no mercado, reduzindo custos e aumentando a acessibilidade dos produtos.

Neste âmbito foi criada em 1990 a International Conference on Harmonisation - ICH, com um plano de harmonização internacional da interpretação e aplicação de guias internacionais para registro de produtos farmacêuticos.

As orientações do ICH estão divididas em quatro categorias: segurança, eficácia, multidisciplinaridade e qualidade. Nesta última, incluem-se as orientações que se destinam a garantir a qualidade química e farmacêutica que preconizam a modernização da regulamentação de produção e de qualidade dos produtos numa abordagem de enfoque ao risco para a qualidade farmacêutica.

Neste contexto, o ICH Q9 - Quality Risk Management - voltado à análise e gerenciamento de riscos descreve os princípios, metodologia, definições, além de abordar as principais ferramentas e as potenciais aplicações na indústria farmacêutica, ações que vão de encontro à iniciativa anunciada pelo FDA em 2002 de Boas Práticas de Fabricação no século XXI.

OBJETIVO

O trabalho propõe a comparação entre duas ferramentas de análise de riscos - FMEA, do inglês, Análise dos Modos de Falha e Efeitos e HAZOP, Estudo do Perigo e Operabilidade - para elencar riscos potenciais na qualificação de uma máquina envasadora de vacinas (Cotuplas).

METODOLOGIA

A abordagem teórica foi desenvolvida por extensa revisão bibliográfica com finalidade de conhecer as ferramentas de análise de riscos FMEA e HAZOP.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Ambas as ferramentas geraram uma análise interdisciplinar com intercâmbio de ideias e conhecimento quanto ao funcionamento da unidade envasadora e intensiva utilização de documentação, além de serem métodos reconhecidos internacionalmente.

Verifica-se maior qualidade de desempenho quanto à aplicação da ferramenta HAZOP na análise de risco no desenvolvimento do projeto com intuito de proporcionar maior conhecimento da equipe quanto ao equipamento/sistema/processo sendo o método mais simples, intuitivo e qualitativo, compatíveis com a fase.

A ferramenta FMEA é aplicada de modo mais assertivo na análise de risco dos componentes de equipamentos/sistema/processo já introduzidos com objetivo de complementar à técnica HAZOP aplicada anteriormente. O método necessita maior precisão das informações, como histórico de falhas, gerando uma análise mais detalhada e precisa através do cálculo quantitativo do risco.

Palavras-chave: Análise de Risco; FMEA; HAZOP.

O USO DE LINHAGENS CELULARES ANIMAIS PARA O CONTROLE DA QUALIDADE DE PRODUTOS SUJEITOS A VIGILÂNCIA SANITÁRIA.

Anna Christina Rosa Guimarães, Simone Ferreira Teixeira Bastos, Patrícia dos Santos Alves, Deuse de Fátima Dionísio de Sena.

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde/FIOCRUZ

INTRODUÇÃO

O Setor de Cultura de Células (SCC) vem trabalhando no sentido de garantir o fornecimento de linhagens celulares de qualidade, tanto para a avaliação de vacinas virais (Febre Amarela, Poliomielite, Raiva, Tríplice Viral e Rotavírus) utilizadas nas campanhas de imunização do Programa Nacional de Imunizações (PNI) e insumos para saúde sujeitos à vigilância sanitária. Atua também, contribuindo para o desenvolvimento e validação de metodologias alternativas aos modelos animais. Visando a melhoria contínua da qualidade dos serviços prestados, o SCC vem estabelecendo uma avaliação por indicadores de qualidade e produtividade.

OBJETIVOS

Avaliar a evolução dos indicadores de qualidade e produtividade e sua tendência, ao comparar os resultados ao longo dos anos de 2004 e 2009; visando otimizar as atividades específicas de rotina do SCC dentro de um plano de melhoria contínua dos serviços prestados.

MÉTODOS

O estudo foi realizado baseado nos dados das requisições de fornecimentos celulares bem como nas observações registradas no Sistema Informatizado INFOGER, procurando traçar um comparativo de 2004 a 2009.

RESULTADOS

O índice de atendimento à demanda ao longo do período analisado permaneceu em torno de 96 %. O número de fornecimentos das diversas linhagens celulares aumentou em 21% ao longo do período analisado. A maior parcela dos fornecimentos realizados no ano de 2009 (40%) destinou-se aos ensaios de soros e vacinas virais, com o emprego da linhagem celular VERO (rim de macaco verde africano).

CONCLUSÕES

As ações de gestão de dados, implantadas ao longo dos anos no SCC permitiram determinar os indicadores de desempenho, fornecendo respostas reais e adequadas. Foi possível caracterizar a maior demanda de fornecimentos do Setor, para a ampliação do controle de qualidade de produtos e responder as novas demandas científicas. A atuação do SCC está em sintonia com o nível de resposta desejado pelos clientes uma vez que o índice de atendimento da demanda estabilizou-se, apesar do aumento do número de requisições e clientes cadastrados. Como resultado da utilização de linhagens celulares

em ensaios de qualidade, espera-se reduzir o emprego de animais e, por conseguinte, reduzir os custos de análise com resultados mais reprodutíveis.

Palavras chave: Controle da Qualidade, Cultivo Celular.

ESTRATÉGIAS DE IDENTIFICAÇÃO, RECRUTAMENTO E RETENÇÃO DE VOLUNTÁRIOS PARA O PROJETO VACINA MENINGOCÓCICA C CONJUGADA BRASILEIRA.

Carla da S. Sepulveda, Ana Maria Basílio da S. Apolinário, Adelayde da S. Bastos, Shirley da S. de Moraes, Lucy Santos, Marcelo Luiz F. Pimenta, Solange Abraão, Miriam Mariano, Miriam Lopes, Miriã Alves, Eliane Cardoso, Ana Márcia Mesquita, Claudemir Francisco e Maria de Lourdes de Souza Maia.

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde.

INTRODUÇÃO

A Assessoria Clínica de Bio-Manguinhos / Fiocruz (ASCLIN) vem desenvolvendo estudos clínicos seguindo as Boas Práticas Clínicas (BPC) ¹ de acordo com a Internacional Conference on Harmonisation (ICH) e Documentos das Américas, com o objetivo de atender ao Programa Nacional de Imunizações e propiciar que novos produtos sejam disponibilizados ao Ministério da Saúde, aumentando o acesso da população brasileira a novos imunobiológicos.

Especificamente, para a área de vacinas, os nossos voluntários, na sua maioria crianças, devem ser indivíduos saudáveis, sem patologias crônicas, que retratem a clientela das milhares de salas de vacina do nosso país, cobertas pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI). Dessa forma, seguindo sempre os preceitos das BPC, a ASCLIN tem adotado estratégias de identificação, recrutamento e retenção de voluntários, inclusive, em áreas onde já se tem instalado o Programa de Saúde da Família (PSF), obtendo proporções de perda de acompanhamento de voluntário em torno de 1 a 2 %. Creditamos este êxito à identificação do perfil da unidade de saúde participante e da sua comunidade, em parceria com os gestores municipais de saúde e atores comunitários, estabelecendo estratégias para identificação e acompanhamento de voluntários, com monitoria contínua da atuação dos centros de pesquisa, visando perdas mínimas de seguimento. O estudo clínico de fase II com a vacina meningocócica C conjugada desenvolvida por Bio-Manguinhos foi conduzido na área do território Integrado de Atenção à Saúde (TEIAS) de Manguinhos, tendo sido a experiência mais recente da ASCLIN na condução de pesquisa clínica comunitária, integrada ao modelo e assistência em saúde que tem sido considerado como modelo dominante e futuramente difundido a todo município do Rio de Janeiro.

OBJETIVOS

Descrever e analisar estratégias de identificação, captação e retenção de voluntários no Projeto Vacina Meningocócica C Conjugada Brasileira.

METODOLOGIA

Este estudo com início em dezembro de 2010 e previsão de término na primeira semana de maio de 2011, está sendo realizado no Centro de Saúde Escola Germano Sinval Faria. Composto por uma equipe multidisciplinar em parceria com os agentes de saúde do próprio centro, que compreenderam a importância deste estudo para a saúde pública e desempenharam estratégias eficazes para realização das etapas de identificação, captação e retenção dos voluntários.

As etapas de identificação e captação iniciaram-se com um processo de capacitação dos agentes de saúde do Programa de Saúde da Família, com o objetivo de sensibilizá-los e comprometê-los com o trabalho a ser desenvolvido. Segundo o protocolo do estudo, a meta era incluir cerca de 6 voluntários por dia (crianças entre 1 ano e < 10 anos), num total de 360. Como estratégia para as possíveis não elegibilidade do voluntário, foram recrutados em média 100% a mais de voluntários diariamente. Além do recrutamento dos voluntários pelos agentes de saúde, foi realizado um mapeamento de creches em torno do centro de saúde para a captação de crianças na faixa etária de 1 a 4 anos de idade, pois a partir de outubro de 2010, foi introduzido no Calendário Nacional de Imunizações, a vacina meningocócica C para crianças entre 3 meses de idade a < 2 anos, dificultando-nos a captação nesta faixa etária. Esse processo de captação dos voluntários era monitorado pela equipe do estudo e acompanhado pelos próprios agentes de saúde, com sessões de discussão sobre os obstáculos e formas de superação, para atingirmos a meta proposta.

Para etapa de retenção, foram elaboradas duas planilhas em Excel para acompanhamento e controle dos voluntários. Esses contatos eram realizados pela equipe do estudo e pelos agentes de saúde da comunidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com todas essas estratégias adotadas, incluímos a última criança no estudo no prazo dentro do cronograma pré-estabelecido. Até a última semana de abril 359 crianças haviam concluído o estudo, restando apenas 01 criança que viajou de férias para Salvador (BA).

Outro índice importante para qualidade da pesquisa é a retenção do paciente na participação do estudo clínico até o seu encerramento, demonstrando sua adesão. No intuito de minimizar as perdas, reuniões frequentes e atualizações do andamento da pesquisa com os agentes de saúde são essenciais.

O presente estudo clínico contou-se com uma equipe multiprofissional treinada e capacitada para o seu desenvolvimento, onde se enfatizou a necessidade imperiosa do cuidado solidário na pesquisa clínica; unindo competência técnico-científica e humanidade.

CONCLUSÃO

Conclui-se que uma boa parceria ente a equipe profissional do estudo clínico e os agentes comunitários de saúde foi fundamental para a realização desta pesquisa. Os agentes são os elos entre as necessidades de saúde da população e o que pode ser feito para melhorar suas condições de vida. Eles são a ponte entre a população e os profissionais e serviços de saúde ². Sendo assim, futuros estudos devem ser realizados com a integração dos agentes comunitários, mensageiros de saúde de sua comunidade.

BIBLIOGRAFIA

¹ Boas Práticas Clínicas – Documentos da Américas

² Trajano Sardenberg, 2001. O agente comunitário de saúde e suas atribuições: os desafios para os processos de formação de recursos humanos em saúde; Interface – Comunic, Saúde, Educ, v6, n10, p.75-94, fev. 2002.

Palavras-chave: Captação, meningocócica e estratégias.

PROGRAMA INOVACINA: UM CASO DE POLÍTICA BASEADA EM EVIDÊNCIAS.

José da Rocha Carvalheiro e Carmen Phang Romero Casas

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Inovação em Doenças Negligenciadas (INCT-IDN)

Em 2002, a Presidência da Fiocruz, então sob a égide do Dr. Paulo M. Buss criou o Projeto Inovação em Saúde, no intuito de discutir a dinâmica dos setores industriais do complexo da saúde e seu potencial de desenvolvimento no Brasil, visando fornecer subsídios para a formulação de uma política multissetorial que reduza a dependência externa e encoraje o desenvolvimento científico e tecnológico do país. Isto, considerando como meta principal a inclusão social, a partir da oferta dos insumos essenciais em saúde, a baixo custo, pelo SUS.

O Projeto Inovação foi desenvolvido em dois eixos horizontais, relacionados com as necessidades de saúde da população e a propriedade intelectual, e três eixos verticais: vacinas, medicamentos e reagentes para diagnóstico. Desde o início, o Projeto trabalhou em parcerias institucionais com distintas secretarias e agências do Ministério da Saúde e com outros ministérios (Ciência e Tecnologia; Educação; Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior; Integração Nacional), além da indústria privada nacional, dos produtores públicos de bens e serviços em saúde, da comunidade científica e tecnológica em saúde e de organismos internacionais.

A metodologia utilizada para cada eixo, incluindo neste caso o de vacinas, foi dividida em pelo menos três momentos:

- (1) Diagnóstico inicial do setor industrial, identificação de lacunas e necessidades de informação e evidências que orientem a tomada de decisão. A técnica utilizada para esta fase foi o brain storm, com um grupo de especialistas reconhecidos na área.
- (2) Encomenda de pesquisas originais, position papers, revisões históricas e uma visão da inovação e da pesquisa e desenvolvimento (P&D) na perspectiva dos setores industrial e governamental e dos órgãos de fomento. Os estudos feitos abordaram as tendências internacionais de desenvolvimento tecnológico em vacinas; a prospecção nacional em P&D; a avaliação da capacidade tecnológica de produção e uma análise dos modelos gerenciais utilizados pelos produtores públicos de vacinas.
- (3) Oficinas para discussão em torno da pesquisa ou position paper encomendado a especialistas. Deste, participaram sempre membros do governo, da indústria e do setor acadêmico, compondo a triple helix considerada entre os modelos de formulação de políticas públicas. Esta fase de análise técnico-político teve como desdobramento a

elaboração de um conjunto de proposições de política encaminhadas às instâncias executivas de governo.

No setor de vacinas, foi elaborada uma proposta concreta de desenvolvimento deste segmento no país, que foi incorporada pelo esforço governamental de construção de uma nova perspectiva da indústria biotecnológica, o Programa INOVACINA.

A portaria ministerial n. 972, de 3 de maio de 2006, instituiu o Programa Nacional de Competitividade em Vacinas (INOVACINA), gerado no âmbito do Projeto Inovação em Saúde da Fiocruz. Adicionalmente, a portaria ministerial n. 973, da mesma data, instituiu a Câmara Técnica de Imunobiológicos.

Esta iniciativa precursora, de caráter intersetorial, voltada para a saúde incorpora-se em nível mais geral à criação dos fóruns de competitividade pelo Ministério de Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC). Um desses fóruns, o Fórum de Biotecnologia, incorporou o Programa INOVACINA como modelo de construção de uma política integrada, baseada em evidências, para os outros setores.

Palavras-chave: Política de ciência, tecnologia e inovação, vacinas.

AVALIAÇÃO DE ESTUDOS DE ESTABILIDADE DA VACINA FEBRE AMARELA (ATENUADA) ARMAZENADA EM TEMPERATURAS SUPERIORES A SUA CONDIÇÃO IDEAL.

Francis Carazzai Reisdorfer, Paulo César Dick, Izabel Cristina Crespo, Wagner Nascimento Costa, Eliane Coutinho Britto, Darcy Akemi Hokama. Departamento de Controle de Qualidade, Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos), Fiocruz.

INTRODUÇÃO

A vacina febre amarela do portfolio de Bio-Manguinhos é uma vacina de vírus vivo atenuado cuja cepa é a 17DD produzida em ovos embrionados de galinhas livres de agentes patogênicos, de acordo com as normas da Organização Mundial da Saúde. É utilizada para imunização de adultos e crianças a partir dos 09 meses de idade, principalmente aqueles que transitam em regiões endêmicas. Esta vacina é liofilizada e deve ser reconstituída somente com seu diluente estéril. Sua condição ideal de armazenamento é na temperatura de 2 a 8°C ou a -20°C por um período de 24 meses. Entretanto, para fins regulatórios, conforme RE nº 1 de 29/07/2005 (ANVISA), e para dar subsídio às condições adversas que podem ocorrer num país tropical como o Brasil, foram realizados estudos de estabilidade em amostras de vacinas armazenadas em temperaturas superiores a sua condição ideal por um período determinado.

OBJETIVO

Avaliar a estabilidade da vacina febre amarela (atenuada) - 05 doses e 10 doses armazenadas em condições de temperaturas superiores a sua condição ideal.

METODOLOGIA

Para a condução deste trabalho, foram realizados três estudos de estabilidade: estudo acelerado com amostras da vacina 05 doses, armazenadas por 06 meses a 25°C e estudo de estabilidade acelerado e estressado com amostras da vacina 10 doses armazenadas por 06 meses a 25°C e a 37°C, respectivamente.

O teste de potência é o indicador de qualidade mais crítico para esse produto e tem por objetivo constatar se o vírus contido está em concentração capaz de ativar os mecanismos imunitários do indivíduo vacinado, de modo que anticorpos específicos possam protegê-lo de infecção pelo vírus selvagem. Assim, nas amostras da vacina 05 doses foram realizadas, a cada dois meses, o teste de potência e, no final dos 06 meses, também os demais testes para garantir a qualidade do produto. Nas amostras da vacina 10 doses foram realizadas, a cada três meses, o teste de potência e também os demais testes. Para análise estatística dos dados de potência foram utilizadas a regressão linear e a análise de covariância (ANCOVA).

RESULTADOS

Os resultados de potência observados nos estudos acelerados (25°C) mantiveram-se acima do limite especificado e as perdas de títulos entre T0 e T6 bem abaixo de 1,0 log, conforme preconizado. Já os resultados do estudo estressado (37°C) tiveram um declínio de mais de 1,0 log em dois lotes quando comparados os resultados de T0 a T6. Entretanto, apesar da queda mais acentuada que na temperatura de 25°C os títulos mantiveram-se acima da especificação de 3,73 log 10 PFU/dose. Os demais parâmetros avaliados permaneceram praticamente constantes, todos dentro das especificações.

CONCLUSÃO

Nas vacinas febre amarela 05 e 10 doses, apesar de serem produtos termolábeis, seus parâmetros de qualidade mantiveram-se estáveis, de acordo com as especificações, nas temperaturas de 25°C e 37°C, ao longo dos 06 meses de armazenamento.

Palavras-chave: Febre amarela; estabilidade; potência.

SEPARAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE POLISSACARÍDEO LIVRE NA VACINA CONJUGADA BRASILEIRA CONTRA *Neisseria meningitidis* DO GRUPO C POR ELETROFORESE CAPILAR.

Iralice Medeiros de Souza¹, Milton Neto da Silva¹, Elza Cristina Scott Figueira¹, Ellen Jessouroun¹, Shirley de Mello Pereira Abrantes², Ivna Alana Freitas Brasileiro da Silveira¹

1 Laboratório de Tecnologia Bacteriana, Bio-Manguinhos, Fiocruz.

2 Laboratório de Alimentos e Contaminantes, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fiocruz.

Neisseria meningitidis do grupo C é uma bactéria encapsulada causadora de diversas doenças e está associada a altas taxas de mortalidade, sendo de grande importância para a saúde pública. Atualmente, no Brasil, o grupo C é responsável por 71% dos casos de doença meningocócica, na maioria das regiões do país. A cápsula polissacarídica é o principal fator de virulência desta bactéria e é formada por polímeros de ácido siálico ligados $\alpha(2-9)$. Entretanto, a resposta imunológica contra polissacarídeos é muito limitada. Bio-Manguinhos está desenvolvendo uma vacina conjugada formada pela ligação covalente deste polissacarídeo capsular à anatoxina tetânica, que atualmente está sendo avaliada em estudos clínicos de Fase II em crianças de 1 a 9 anos. A quantificação do açúcar livre faz parte do controle de processo da vacina e tem o objetivo de evitar uma possível redução da imunogenicidade do componente vacinal.

A Organização Mundial de Saúde ainda não estabelece um limite máximo para o teor de polissacarídeo livre na vacina conjugada contra meningococo do grupo C, mas baseado na vacina conjugada contra *Haemophilus influenzae* do tipo b, utiliza-se como valor de referência 20%. Desta forma, o objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um método de controle de qualidade adequado para separar e quantificar o polissacarídeo livre presente na vacina conjugada contra *N. meningitidis* do grupo C, utilizando a técnica de eletroforese capilar. A separação completa do açúcar livre presente no conjugado foi obtida empregando o modo de eletroforese capilar de zona livre utilizando tampão tetraborato de sódio 50 mM, 40°C, 30 kV e pH 10. Com as condições escolhidas é possível determinar o conteúdo de polissacarídeo livre nos lotes de conjugado e validar o método proposto, que se mostrou linear na faixa de 0,047 a 0,164 mg/mL, apresentou efeito matriz, 0,0154 mg/mL de limite de detecção e 0,0454 mg/mL de limite de quantificação. A metodologia desenvolvida e validada será introduzida no controle de qualidade do lote de conjugado que será submetido aos estudos clínicos de Fase III e na rotina da vacina conjugada estudada. Além disto, o conhecimento adquirido poderá ser empregado no controle de qualidade de outras vacinas conjugadas contra bactérias encapsuladas de interesse epidemiológico no país.

Palavras chave: Vacinas conjugadas, Polissacarídeo meningocócico, Eletroforese Capilar.

AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA PUREZA E IDENTIFICAÇÃO DO POLISSACARÍDEO MENINGOCÓCICO GRUPO A POR RMN ¹H.

Maria Denise Neves Borges¹, Milton Neto da Silva², Ivna Alana Freitas Brasileiro da Silveira², Joana Mara Teixeira Santos³, Erika Martins de Carvalho⁴.

¹Laboratório Físico-Químico, Vice-diretora de Qualidade, Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

²Laboratório de Tecnologia Bacteriana, Vice-diretora de Desenvolvimento Tecnológico, Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

³Departamento de Química Inorgânica, Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

⁴Instituto de Tecnologia em Fármacos, Far-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

Na África, abaixo do deserto do Sahara, conhecida como cinturão da meningite, a incidência da doença meningocócica tem caráter epidêmico e é causada pelo grupo A. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que ocorram, anualmente, 100-500/100.000 de casos nesta região, onde a doença ocorre em ondas epidêmicas com taxa de mortalidade de aproximadamente 10%. A Fiocruz produz a vacina bivalente A e C. Para o processo de produção utilizam-se os polissacarídeos grupos A (PSA) e grupo C (PSC). A OMS estabelece as seguintes análises físico-químicas para o controle de qualidade do PSA: concentração de Fósforo, conteúdo proteico, de ácido nucléico, concentração de O-acetil e percentual da distribuição de tamanho molecular. Conforme a WHO (1976), o Teste de identidade ainda deve ser realizado através de prova sorológica. No entanto, a Farmacopeia Europeia indica a RMN de ¹H para estes testes no PSC. Inclusive a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) tem exigido o espectro de RMN de ¹H no dossiê das vacinas. Em função destas diretrizes, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da RMN de ¹H para a identificação e confirmação estrutural, quantificação da pureza, teor de umidade, de solvente residual e do teor de O-acetil no PSA.

Os espectros foram adquiridos em um espectrômetro BRUKER 500 (500 MHz). As amostras (5-20 mg) foram solubilizadas em óxido de deutério – D₂O – (0,5-0,7 mL) com 99,96% de deutério. Os padrões internos utilizados na solução de D₂O foram: Dimetil-2 silapentano-5-sulfonato – DSS (0,01 mg/mL) e Trimetilsilil propionato de sódio –TSP-*d*4 (0,23 mg/mL). Para aquisição dos espectros de RMN de ¹H quantitativos do PSA foi necessário um estudo dos parâmetros de aquisição como, por exemplo: o tempo de relaxação (0-20 s), número de scans (32, 64, 128, 256 ou 512), temperatura de aquisição (298-343K) e a avaliação da razão sinal/ruído (S/N) para cada espectro adquirido. Foram utilizados cinco lotes do PSA produzido por Bio-Manguinhos.

Inicialmente os espectros foram adquiridos para confirmação do perfil espectroscópico, em seguida foram selecionados os sinais dos hidrogênios a serem utilizados na quantificação. Para o cálculo de solvente residual foi selecionado o sinal do hidrogênio da etila a 3,6 PPM. O percentual de O-acetilação foi calculado através da razão entre os sinais de hidrogênios ligados ao carbono O-acetilado (C3 ou C4) a 2,12 e 2,20 RPM e o sinal do hidrogênio ligado ao carbono anomérico (C1) a 5,5 PPM. Os resultados obtidos por RMN foram comparados com outros métodos espectroscópicos como HPLC e UV-Vis. Através de estudos por RMN foi possível quantificar o teor de umidade e o etanol

residual que permanecem junto com o polissacarídeo, mesmo após aquecimento até peso constante em balança termogravimétrica em temperaturas superiores a 60°C. A vantagem em se utilizar a técnica de RMN é a possibilidade de avaliar, através de uma única metodologia, a identidade e a pureza do PSA. Os resultados mostram a possibilidade de utilização desta técnica no controle de qualidade de outras vacinas polissacarídicas e conjugadas de interesse epidemiológico no país.

Palavras chaves: RMN, Controle de qualidade, Vacinas Polissacarídicas.

DESENVOLVIMENTO DE UM TESTE IMUNOENZIMÁTICO (ELISA) PARA A DETECÇÃO DO ANTÍGENO DO VÍRUS DA FEBRE AMARELA (17DD) INATIVADO.

Mauro França da Silva; Luciane Pinto Gaspar; Marcos da Silva Freire.
Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos - Bio-Manguinhos – Fiocruz

O vírus atenuado da febre amarela, subcepa 17DD, é utilizado por Bio-Manguinhos para a produção da vacina contra a febre amarela. Esta vacina tem sido utilizada para a imunização humana com um excelente histórico de eficácia e segurança. Entretanto, nos últimos anos, devido à ocorrência de alguns casos de eventos adversos associados ao vírus vacinal cepa 17D e subcepa 17DD, apontou-se a necessidade de desenvolvimento de uma vacina inativada. Para a implementação desta nova vacina torna-se necessário o desenvolvimento de métodos de quantificação de antígenos virais. Diferentes metodologias de quantificação podem ser utilizadas na produção de vacinas inativadas, sendo as mais comuns o teste imunoenzimático (ELISA) e o teste de dose-resposta.

O presente estudo teve como objetivo o estabelecimento de um teste imunoenzimático (ELISA) para o vírus da febre amarela aplicável na detecção do vírus 17DD inativado, que possa ser utilizado na quantificação antigênica de uma vacina. Para este propósito, foram obtidos estoques de partículas virais da subcepa 17DD, a partir de culturas de células Vero, os quais foram purificados e quantificados por métodos bioquímicos e virológicos clássicos, respectivamente. Para o desenvolvimento do teste utilizamos diferentes anticorpos como captura na fase sólida. Os resultados obtidos para os testes utilizando o anticorpo monoclonal 2D12 (purificado) como captura, mostraram que este anticorpo foi mais sensível e específico do que o anticorpo policlonal M7.

As diluições ideais encontradas nos insumos (anticorpo de captura 2D12 e conjugado 2D12/peroxidase) permitiram compor um ELISA com sensibilidade capaz de detectar proteínas virais na faixa de 1,55 µg/0,1mL e com um limite de detecção do antígeno, que foi de 2,21 log₁₀ PFU/0,1mL. A partir deste valor, foi estabelecido um controle positivo contendo o vírus 17DD atenuado com título de 3,06 log₁₀ PFU/mL e (29µg/0,1mL). Os resultados mostraram, também, que a metodologia desenvolvida (ELISA) mostrou-se eficaz na detecção do vírus 17DD inativado por formaldeído até a diluição 1:16 (52,9 µg/0,1mL). Este trabalho mostrou que o teste de ELISA para detecção e quantificação do antígeno 17DD representa um importante avanço tecnológico no controle da produção de uma vacina inativada contra a febre amarela. A partir de 2010, o referido ensaio foi redesenhado pelo LATIM com a adição de novos parâmetros e com aumento de sensibilidade e especificidade. Atualmente, encontra-se em processo de validação pelo DEGAQ/SEVAN.

Palavras Chave: Febre Amarela; Vírus da febre Amarela; Vacina de vírus inativado.

IMMUNOGENICITY AND SAFETY OF 17DD YELLOW FEVER VACCINE IN DOSE-RESPONSE STUDY.

Reinaldo de Menezes Martins¹, Maria de Lourdes Sousa Maia¹, Roberto Henrique Guedes Farias¹, Vera Maria Michel Benjamin¹, Luis Antonio Bastos Camacho², Marcos da Silva Freire¹, Ricardo Galler¹, Anna Maya Yoshida¹, Luiz Fernando Carvalho Almeida¹, Sheila Maria Barbosa de Lima¹, Rita Maria Ribeiro Nogueira³, Gloria Regina da Silva e Sá^{1, 2}, Darcy Akemi Hokama¹, Raulino Sabino da Silva¹, Ricardo Aguiar Villanova Freire⁴, Edson Pereira Filho⁴, Akira Homma¹.

¹ Bio-Manguinhos, Fiocruz ² National School of Public Health, Fiocruz, ³ Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, ⁴ Brazilian Army Biology Institute

BACKGROUND/INTRODUCTION

Yellow fever vaccines (YFV) with doses lower than currently manufactured products could increase production capacity and match increasing demand, and possibly reduce YFV reactogenicity.

METHODS

Randomized, double-blinded study, with 6 groups receiving 0.5 mL of YFV from 17DD substrain (1 IU = 1.91 PFU): 27,476 IU (reference vaccine, group 1); 10,447 IU, group 2; 3013 IU, group 3; 587 IU, group 4; 158 IU, group 5; 31 IU, group 6, each with 150 adult male young healthy volunteers. Outcomes of each experimental vaccine (group 2, 3, 4, 5 and 6) were compared to group 1. Seroconversion (SC) was 4-fold increase in antibody titers in seronegative individuals ($\leq 2.7 \log_{10}$ mIU/mL) or shift from seronegative to seropositive (neutralization test). Criteria for non-inferiority: (1) lower limit of 95% CI for GMT ratio of experimental to reference vaccine >0.5 , and (2) for SC, lower limit of 95% CI for difference between experimental and reference vaccine -5% , at most. Elisa IgG serology for dengue done before and 10 months after vaccination. Clinical examination and biochemical tests: before vaccination, 3-7 days and 30 days later. Viremia in blood samples taken 3-7 days after vaccination, evaluated in subjects susceptible to YF. The frequency of adverse events, viremia, and dengue serology in each group were compared (chi-squared and Fisher's tests) to group 1.

RESULTS

749 volunteers were susceptible to YF before vaccination and adhered to the protocol for immunogenicity. Ratios of GMTs to the reference vaccine (mIU/mL) were 0.90; 0.86; 0.90; 0.51; 0.15 for groups 2, 3, 4, 5 and 6, respectively. 95% CI lower limits were above 0.6 for groups 2, 3 and 4, and for groups 5 and 6 they were 0.35 and 0.09, respectively. Differences in SC to the reference vaccine were 1.4%, 0%, -0.8%, -9.2% and -30.8%, respectively, and 95% CI lower limits for differences were: -2.5%, -4.4%, -5.5% for groups 2, 3 and 4; for groups 5 and 6, -16.2% and -40.5%. Seropositivity rates were maintained after 10 months of vaccination, except for the 31 IU group. Dengue seropositivity decreased antibody levels to YF 30 days after vaccination only in

group 6. All vaccines were well tolerated; adverse events were mild and rarely of moderate severity. Only pain was more frequent on group 1 ($p < 0.05$). Abnormalities in biochemical tests were irrelevant, not related to dose. Vaccine virus was isolated in 1%, 6.9%, 4.9%, 5.7%, 2.9% and 4.9% of groups 1, 2, 3, 4, 5 and 6, respectively ($p = 0.29$); Viremia was found in 18.5% of prevaccination yellow fever negative and dengue-negative individuals, and in 2.1% of yellow fever negative and dengue-positive individuals ($p < 0.001$). Viremia did not correlate with clinical events and biochemical test abnormalities.

CONCLUSIONS

Immunogenicity data support the reduction in virus surplus in YFV, provided that loss of potency during storage and handling is accounted for. In the dose range assessed, reactogenicity and viremia were not affected. Biological and public health implications of higher viremia in dengue-negative subjects are unclear at the moment.

Keywords: Yellow fever vaccine, dose-response study.

OTIMIZAÇÃO DO TESTE DE DETECÇÃO DE MYCOPLASMAS POR PCR NA VACINA DE FEBRE AMARELA DE BIO-MANGUINHOS.

Raíssa Allan Santos Domingues, Joyce Brito de Carvalho, Marisa de Oliveira Ribeiro, Lília Ribeiro.

Departamento de Controle de Qualidade, Bio-Manguinhos, Fiocruz.

Micoplasmas são considerados os menores organismos capazes de se autorreplicar e não apresentam parede celular. Algumas espécies de micoplasmas têm sido responsáveis por altas taxas de contaminação biológica em matérias-primas utilizadas em processos de fabricação e em laboratórios de pesquisa.

Para minimizar o risco de contaminação de pacientes que utilizam produtos biológicos e médicos, ensaios para verificar prováveis contaminações por micoplasma em matérias-primas, processos intermediários e produtos finais são preconizados por normas nacionais e internacionais de boas práticas de fabricação (BPF).

A Seção de Testes Biomoleculares e Imunocitoquímicos (SETBI) do Departamento de Controle de Qualidade (DEQUA) de Bio-Manguinhos utiliza a técnica de PCR para a rotina de detecção de *Mycoplasma sp* a partir de DNA extraído de produtos intermediários utilizados na fabricação de Vacina de Febre Amarela (VFA) atenuada, devido à sua rapidez, especificidade e sensibilidade. Todas as técnicas utilizadas na rotina do controle de qualidade devem ser submetidas à validação, assegurando credibilidade ao teste com evidências documentadas de que o mesmo é capaz de realizar a que se propõem.

O objetivo da otimização do teste foi revalidar a técnica utilizada pelo SETBI, comprovando a robustez e a especificidade do método e estabelecendo um novo limite de detecção, através da inclusão de algumas espécies preconizadas pela farmacopeia Europeia 6.0. Foram utilizadas as seguintes espécies: *Mycoplasma gallisepticum* (ATCC 15302), *Mycoplasma orale* (ATCC 23714), *Mycoplasma synoviae* (ATCC 25204), *Mycoplasma pneumoniae* (ATCC 15492) e *Acholeplasma laidlawii* (ATCC 14089).

Para determinação do limite de detecção foram utilizadas cinco concentrações das cepas de micoplasmas e acholeplasma: 1000, 100, 10, 5 e 1 UFC/mL (3 diluições de fator 10, seriadas e independentes). Para cada concentração utilizada, foram testadas três repetições em dias diferentes de oito replicatas, que correspondem a 24 resultados. Desta forma, cada espécie foi submetida a 120 análises, totalizando 600 análises. O teste de especificidade foi realizado contaminando amostras de um lote de suspensão viral da VFA e soro fetal bovino com 100 UFC das cepas de micoplasmas e acholeplasma e também com *Clostridium sporogenes* (ATCC 11437), *Streptococcus pyogenes* (NCTC12696), *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356), que foram inseridos por serem

espécies diferentes, porém, com relação filogenética próxima aos micoplasmas. A robustez foi testada utilizando diferentes métodos de extração de DNA e diferentes lotes de suspensão viral de VFA e soro fetal bovino. Todos os parâmetros foram delineados seguindo rigorosamente as instruções de validação de técnicas de amplificação de ácidos nucleicos para detecção de micoplasmas descritas na Farmacopeia Europeia 6.1 Capítulo 2.6.7.

Testes para determinação do limite de detecção das espécies de micoplasma e acholeplasma ainda estão em andamento, porém, resultados preliminares indicam que a faixa escolhida será 5 UFC. A ausência de banda no gel de agarose nas amostras que foram contaminadas com *Clostridium sporogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Lactobacillus acidophilus*, indica não haver interferência destes microrganismos não pertencentes à classe Mollicutes na reação de PCR, comprovando a especificidade do método. O método provou sua robustez apresentando resultados semelhantes, quando foram variados os métodos de extração e diferentes técnicas de coloração.

Palavras-chave: Mycoplasma sp., PCR vacina de febre amarela.

ESTUDOS ESPECTROSCÓPICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DO POLISSACARÍDEO MENINGOCÓCICO GRUPO A OXIDADO, USADO NA PREPARAÇÃO DA VACINA CONJUGADA COM ANATOXINA TETÂNICA ATIVADA COM HIDRAZINA.

Milton Neto da Silva¹, Ivna Alana Freitas Brasileiro da Silveira¹, Elza Scott Figueira¹, Ana Paula dos Santos¹, Erika Martins de Carvalho², Ellen Jessouroun¹.

¹ Laboratório de Tecnologia Bacteriana, Vice-Diretoria de Desenvolvimento Tecnológico, Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz; ² Instituto de Tecnologia em Fármacos, Far-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz.

Neisseria meningitidis é um dos patógenos mais importantes que causa meningite e diferentes manifestações clínicas. Na África, abaixo do deserto do Saara, região conhecida como cinturão da meningite, a incidência da doença meningocócica tem caráter epidêmico e é causada pelo grupo A (PSA).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que ocorram, anualmente, 100-500/100.000 de casos nesta região, onde a doença ocorre em ondas epidêmicas com taxa de mortalidade de aproximadamente 10%. Vários artigos têm apresentado técnicas de derivatização dos polissacarídeos com a finalidade de introdução de grupos funcionais para obtenção de vacinas conjugadas.

O uso da RMN tem sido uma das ferramentas cruciais para verificação do processo de derivatização. Um dos processos mais utilizados é a oxidação por periodato de sódio que consiste na clivagem oxidativa das duas hidroxilas vicinais (C₃ e C₄) gerando aldeído. O aldeído gerado pode ser caracterizado por RMN de hidrogênio. Entretanto, a maioria dos trabalhos publicados na literatura, utilizando esta abordagem, não comprova a formação do grupo gerado. Em meio aquoso ácido ou básico o aldeído encontra-se em equilíbrio com sua forma hidratada.

Neste trabalho foi avaliada a influência do pH do meio no equilíbrio tautomérico entre as formas hidratadas e aldeídicas no PSA ativado. Também foi mostrado pela primeira vez espectroscopicamente o sinal referente ao hidrogênio aldeídico. Os espectros foram adquiridos em um espectrômetro BRUKER 500 (500 MHz). As amostras (5-20mg) foram solubilizadas em óxido de deutério D₂O (0,5-0,7mL) com 99,96 % de deutério. Os padrões internos utilizados na solução de D₂O foram: Dimetil-2 silapentano-5-sulfonato DSS (0,01mg/mL) e Trimetilsilil propionato de sódio TSP-d₄ (0,23mg/mL). Foram obtidos espectros uni e bidimensional de ¹H e ¹³C. Os resultados mostraram que a integridade do PSA oxidado não foi mantida no pH 12. Entretanto, no pH 3 e 5, o equilíbrio foi deslocado para a forma hidratada. O PSA ativado foi submetido ao processo de conjugação com a anatoxina tetânica, através do método modificado de aminação redutiva.

Nesta metodologia o tempo de reação foi reduzido, o que permite facilmente o escalonamento de produção. O lote de conjugado MenPSA-TT mostrou a razão açúcar: proteína de 0,24 (w/w). O conteúdo de polissacarídeo livre foi cerca de 12%, medido por HPAEC-PAD após precipitação com DOC. A vacina foi imunogênica de forma dose-dependente, gerando um aumento de 6-64 vezes na resposta de IgG em camundongos.

Os resultados mostram a possibilidade de utilização desta técnica no controle de qualidade da ativação dos polissacarídeos para preparação de vacinas conjugadas de interesse epidemiológico no país.

Palavras chaves: RMN, Clivagem oxidativa, Vacinas conjugadas.

VII. Programa

Horário	4 de maio, quarta-feira
8h – 9h30	Inscrição e entrega de pasta e crachá de identificação e café de boas-vindas
9h30 – 10h30	Mesa de Abertura
Sessão da manhã	Foco: Vacinas, vacinações e outros imunobiológicos: marcos históricos e perspectivas Coordenação: Paulo Ernani Gadelha Vieira, Presidente da Fiocruz Relatoria: Reinaldo de Menezes Martins, Consultor Científico Senior, Bio-Manguinhos
10h30 – 11h10	Evolução histórica e impactos de vacinas e vacinações no mundo Ciro de Quadros, Diretor Executivo, Instituto Albert Sabin
11h10 – 11h40	Os 35 anos de Bio-Manguinhos e os novos tempos Akira Homma, Presidente, Conselho Político e Estratégico de Bio-Manguinhos
11h40 – 12h	Discussão
12h – 13h50	Almoço e pôsteres
Sessão da tarde	Foco: Biofármacos Coordenação: Claude Pirmez, Vice-Presidente de Pesquisa e Laboratórios de Referência da Fiocruz Relatoria: Marcos da Silva Freire, Vice-Diretor de Desenvolvimento Tecnológico de Bio-Manguinhos
14h – 14h30	A ética da geração e equidade de acesso aos novos produtos e à saúde global Agustín Lage Dávila, Diretor do Centro de Imunologia Molecular, Cuba
14h30 – 14h40	Discussão
14h40 – 15h10	Tendências mercadológicas em Biofármacos Peter Charlish, Editor Científico de Informa Business Information
15h10 – 15h20	Discussão
15h20 – 15h40	Pausa para café
15h40 – 16h10	Plataformas tecnológicas de produção de Biofármacos David Aviezer, Presidente da Protalix
16h10 – 16h20	Discussão
16h20 – 16h50	Programa de inovação tecnológica e produção de biofármacos em Bio-Manguinhos Ana Carolina M. Andrade, Gerente de Projeto, Programa de Biofármacos de Bio-Manguinhos Elezer Monte Blanco Lemes, Gerente, Projetos de Transferência de Tecnologia IFN
16h50 – 17h	Discussão
17h – 19h	Coquetel e apresentação de pôsteres

Horário	5 de maio, quinta-feira
Sessão da manhã	Foco: Vacinas e Imunizações Coordenação: Carla Domingues, Coordenadora Geral do Programa Nacional de Imunizações /MS Relatoria: Elena Cristina Caride Siqueira Campos, Gerente, Programa de Vacinas Virais de Bio-Manguinhos

9h – 9h30	Evolução histórica e impactos de vacinas e vacinações no Brasil João Baptista Risi Jr, Consultor Independente
9h30 – 9h40	Discussão
9h40 – 10h10	Desenho de Vacinas para países em desenvolvimento Debra Kristensen, PATH
10h10 – 10h20	Discussão
10h20 – 10h40	Pausa para café
10h40 – 11h10	Plataformas tecnológicas de produção de vacinas Vidadi Yusibov, Diretor Executivo, Fraunhofer Center for Molecular Biotechnology
11h10 – 11h20	Discussão
11h20 – 11h50	Programa de inovação tecnológica e produção de vacinas de Bio-Manguinhos Ellen Jessouroun, Gerente, Programa de Desenvolvimento Tecnológico de Vacinas Bacterianas Wilson Bucker Aguiar Junior, Gerente, Divisão de Fermentação Bacteriana e Sub-Coordenador do Projeto CIPBR
11h50 – 12h	Discussão
12h – 13h50	Almoço e pôsteres

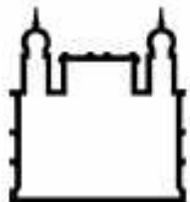
Sessão da tarde	Foco: Reativos para diagnóstico Coordenação: Tânia de Araújo Jorge, Diretora do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) Relatoria: José Antonio Pinto de Sá Ferreira, Assessoria Clínica de Bio-Manguinhos
14h – 14h30	As novas tecnologias de diagnósticos e vitórias contra doenças Carlos Medicis Morel, Diretor do Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde (CDTS/Fiocruz)
14h30 – 14h40	Discussão
14h40 – 15h10	Tendências mercadológicas em reativos para diagnóstico laboratorial de doenças importantes para a Saúde Pública Brendan O' Farrell, Presidente do Diagnostic Consulting Network, Inc.
15h10 – 15h20	Discussão
15h20 – 15h40	Pausa para café
15h40 – 16h10	Plataformas tecnológicas de reativos para diagnóstico laboratorial Marco Aurélio Krieger, Diretor Técnico, Instituto de Biologia Molecular do Paraná, vice-diretor, Instituto Carlos Chagas/Fiocruz
16h10 – 16h20	Discussão
16h20 – 16h50	Programa de inovação tecnológica e produção de reativos para diagnóstico laboratorial em Bio-Manguinhos Antonio Gomes Pinto Ferreira, Gerente do Programa de Desenvolvimento de Reativos para diagnóstico de Bio-Manguinhos Raouf Emile Sykora, Gerente do Departamento de Produção de Reativos para Diagnóstico de Bio-Manguinhos
16h50 – 17h	Discussão
17h – 19h	Sessão de pôsteres

Horário	6 de maio de 2011 – sexta-feira
Sessão da manhã	Foco: Inovação tecnológica e Regulação Coordenação: Ricardo Galler, Pesquisador Sênior da Vice-Diretoria de Desenvolvimento Tecnológico de Bio-Manguinhos Relatoria: Beatriz de Castro Fialho, Assessora da Vice-Diretoria de Desenvolvimento Tecnológico de Bio-Manguinhos
9h – 9h30	Criando ambiente propício à inovação tecnológica de imunobiológicos Carlos Augusto Grabois Gadelha, Secretário da Ciência e Tecnologia e Insumos Estratégicos do Ministério da Saúde
9h30 – 9h40	Discussão
9h40 – 10h10	O papel regulador da ANVISA na perspectiva do desenvolvimento tecnológico Dr. Marcelo Mario Matos Moreira, Coordenação de Biológicos – CPBIH/GGMED, Agência Nacional de Vigilância Sanitária
10h10 – 10h20	Discussão
10h20 – 10h40	Pausa para café
10h40 – 11h10	Avanços e desafios em imunização na América Latina Brendan Flannery, Consultor em Programa de Imunizações, Organização Panamericana de Saúde / OPAS
11h10 – 11h20	Discussão
11h20 – 11h50	Tendências Tecnológicas do desenvolvimento de vacinas Julie Milstien, Consultora Internacional, EUA
11h50 – 12h	Discussão
12h – 12h30	Homenagens e encerramento Artur Roberto Couto, Diretor de Bio-Manguinhos/Fiocruz

-
- ⁱ TÂNIA MARIA FERNANDES. **Vacina antivariólica: ciência, técnica e o poder dos homens, 1808-1920.** Editora Fiocruz. Rio de Janeiro, 1999.
- ⁱⁱ NICOLAU SEVCENKO. **A Revolta da Vacina: mentes insanas em corpos rebeldes.** CASAC NAIFY. São Paulo, 2010.
- ⁱⁱⁱ LUIZ ANTONIO TEIXEIRA E MARTHA DE ALMEIDA. **Os primórdios da vacina antivariólica em São Paulo: uma história pouco conhecida.** História, Ciências, Saúde Manguinhos. Vol. 10 (suplemento): 475-98. Rio de Janeiro, 2003.
- ^{iv} LIRA NETO. **O poder e a peste: a vida de Rodolfo Teófilo.** Edições Fundação Demócrito Rocha. Fortaleza, 2001.
- ^v JAIME BENCHIMOL. **A instituição da microbiologia e a história da saúde pública no Brasil.** Ciência e Saúde Coletiva, abril-junho, vol. 5, número 2. Associação Brasileira de Pós-Graduação em Saúde Coletiva. Rio de Janeiro, 2000.
- ^{vi} MARTA DE ALMEIDA. **Combates sanitários e embates científicos: Emílio Ribas e a febre amarela em São Paulo.** História, Ciências, Saúde - Manguinhos, vol. VI(3): 577-607, nov.1999 - fev. 2000.
- ^{vii} JAIME BENCHIMOL (coord.). **Febre amarela: a doença e a vacina, uma história inacabada.** Bio-Manguinhos/Editora Fiocruz. Rio de Janeiro, 2001, 469p.
- ^{viii} JAIME BENCHIMOL E LUIZ A. TEIXEIRA. **Cobras, lagartos e outros bichos: uma história comparada dos institutos Oswaldo Cruz e Butantan.** Editora UFRJ. Rio de Janeiro, 1993.
- ^{ix} FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. CASA DE OSWALDO CRUZ. **A ciência a caminho da roça: imagens das expedições científicas do Instituto Oswaldo Cruz no interior do Brasil entre 1911 e 1913.** Rio de Janeiro, 1991.
- ^x GILBERTO HOCHMAN. **Logo ali, no final da avenida: Os sertões redefinidos pelo movimento sanitário da Primeira República.** História, Ciências, Saúde - Manguinhos, vol.5 suppl.0. Rio de Janeiro, 1998.
- ^{xi} GILBERTO HOCHMAN. **Reformas, instituições e políticas de saúde no Brasil (1930-1945).** Educar, Curitiba, n. 25, p. 127-141, 2005. Editora UFPR
- ^{xii} BICHAT DE ALMEIDA RODRIGUES, AMARO LUIZ ALVES. **Evolução institucional da saúde pública brasileira.** In: Fundamentos da Administração Sanitária. Ministério da Saúde. Brasília, 1977.
- ^{xiii} MIGUEL AIUB HIJJAR, GERMANO GERHARDT et al. **Retrospecto do controle da tuberculose no Brasil.** Revista de Saúde Pública 2007; 41(Supl. 1):50-58.
- ^{xiv} HELBIO FERNANDES MORAES. **SUCAM: sua origem, sua história.** Primeiro volume, segunda edição. Brasília, 1990.
- ^{xv} ILANA LÖWY. **Representação e intervenção em saúde pública: vírus, mosquitos e especialistas da Fundação Rockefeller no Brasil.** História, Ciências, Saúde - Manguinhos. vol.5 no.3. Rio de Janeiro Nov. 1998/Feb. 1999.
- ^{xvi} LINA RODRIGUES DE FARIA. **O Instituto de Higiene: contribuição à história da ciência e da administração à saúde em São Paulo.** PHYSIS: Revista de Saúde Coletiva, 9(1): 175-208. Rio de Janeiro, 1999.
- ^{xvii} ANDRÉ LUIZ VIEIRA DE CAMPOS. **Políticas internacionais na Era Vargas: o Serviço Especial de Saúde Pública, 1942-1960.** Editora FIOCRUZ. Rio de Janeiro, 2006.
- ^{xviii} N.C DE BRITO BASTOS. **SESP/FSESP: Evolução histórica, 1942-1991.** 2ª edição, 1995. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde.
- ^{xix} NÍSIA TRINDADE LIMA. **O Brasil e a Organização Pan-Americana da Saúde: uma história em três dimensões.** In: Caminhos da saúde pública no Brasil. Editora Fiocruz. Rio de Janeiro, 2002.
- ^{xx} MARIA ALICE ROSA RIBEIRO. **Lições Para A História das Ciências no Brasil: Instituto Pasteur de São Paulo.** História, Ciências, Saúde - Manguinhos, III (3):467-484, Nov. 1996-Feb. 1997.
- ^{xxi} MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento Nacional da Criança. **Normas de vacinação.** Rio de Janeiro, 1967.
- ^{xxii} MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento Nacional da Criança. **Normas para vacinação.** 3ª Edição. Rio de Janeiro, 1969.
- ^{xxiii} EMERSON FERREIRA. **Vacinação em massa contra a poliomielite, com vacina trivalente de vírus vivos atenuados.** Jornal de Pediatria, Vol. 27 Fascículo 3, 1962.
- ^{xxiv} FENNER F, HENDERSON DA, ARITA I et al. **The programme in Brazil. In: Smallpox and its eradication, Chapter 12 South America.** World Health Organization; Geneva, 1988, p. 600-625.

-
- ^{xxv} HENDERSON DA. **The Brazilian program – a regrettable saga. In: Smallpox – the death of a disease: the inside story of eradicating a worldwide killer.** Prometheus Books; New York, 2009, p.110-118.
- ^{xxvi} MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Plano Nacional de Controle da Poliomielite.** Mimeo, 12 páginas. Rio de Janeiro, 1971.
- ^{xxvii} BRITO BASTOS, NC et al. **Programa antipoliomielítico en el Brasil: estudio de niveles de inmunidad.** Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. Vol LXXV (Julio-Diciembre), 1973. Washington DC.
- ^{xxviii} MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política Nacional de Saúde.** Rio de Janeiro, 1973.
- ^{xxix} MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Programa Nacional de Imunizações.** Rio de Janeiro, 1973.
- ^{xxx} BRASIL. **Lei nº 6.259**, de 30/10/1975
- ^{xxxi} FUNDAÇÃO SESP. **Vigilância da poliomielite no Brasil: nota preliminar.** Boletim Epidemiológico, Vol (Ano) VIII Nº 23, 1976. Rio de Janeiro.
- ^{xxxii} FUNDAÇÃO SESP. **Poliomielite no Brasil em 1975 e 1976.** Boletim Epidemiológico, Vol (Ano) IX Nº 41 e 42, 1977. Rio de Janeiro.
- ^{xxxiii} FUNDAÇÃO SESP. **Vigilância epidemiológica da poliomielite no Brasil, 1975-1980.** Boletim Epidemiológico Vol (Ano) XIV Nº 13, 1982. Rio de Janeiro.
- ^{xxxiv} ALBERT SABIN. **Oral poliomyelitis vaccine: achievements and problems in worldwide use.** Bulletin of the International Pediatric Association. Vol 2, Nº 2, April 1977. Pg. 6-17.
- ^{xxxv} MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Ação de controle da poliomielite.** Folheto de 25 páginas. Brasília, 1981.
- ^{xxxvi} MINISTÉRIO DA SAÚDE. SNABS. **Bases técnicas para programa de controle da poliomielite.** Brasília, 1982.
- ^{xxxvii} FUNDAÇÃO SESP. **Os laboratórios de diagnóstico da poliomielite.** Boletim Epidemiológico Vol (Ano) XIII Nº 20 e 21, 1981. Rio de Janeiro.
- ^{xxxviii} MOZART DE ABREU E LIMA. **A saúde entre o Estado e a Sociedade.** Entrevista concedida a História, Ciências e Saúde. Volume 10, Suplemento 2. Fiocruz, 2003.
- ^{xxxix} JOÃO B. RISI JR. **Controle da poliomielite no Brasil.** A Saúde no Brasil 1 (1) jan-mar 1983. Pg 6-17. Ministério da Saúde. Brasília.
- ^{xl} JOÃO B. RISI JR. **The control of poliomyelitis in Brazil.** Reviews of Infectious Diseases, Vol 6, supplement 2, May-June 1984. Pg S400-S403.
- ^{xli} PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **The impact of the Expanded Programme on Immunization and the Polio Eradication Initiative on health systems in the Americas. Final report of the Taylor Commission.** Washington (DC), 1995.
- ^{xlii} PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Polio eradication field guide.** Second Edition. Technical Paper nº 40. Washington D.C. 1994.
- ^{xliiii} MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA NACIONAL DE AÇÕES BÁSICAS DE SAÚDE. **Poliomielite: plano de erradicação da transmissão no Brasil.** Brasília, 1986.
- ^{xliv} PATRIARCA P., LAENDER F. et al. **Randomised trial of alternative formulations of oral poliovaccine in Brazil.** Lancet; 1(8583): 429-33, 1988 Feb 27.
- ^{xlv} CRISTINA ROCHA. **Comunicação social e vacinação.** História, Ciências, Saúde – Manguinhos. Vol. 10 (Suplemento 2). 795-806, 2003.
- ^{xlvi} SCHATZMAYR, HERMAN. **Erradicação da poliomielite no Brasil: a contribuição da Fundação Oswaldo Cruz.** História, Ciências, Saúde – Manguinhos vol9(1), pp11-24.
- ^{xlvii} ORGANIZACIÓN PAN-AMERICANA DE LA SALUD. **Plan de acción para la certificación de la erradicación del poliovirus salvaje en las Américas.** Washington DC, julio 1993.
- ^{xlviii} CAMPOS, A.L, NASCIMENTO, D.R, MARANHÃO, M. **A história da poliomielite no Brasil e seu controle por imunização.** História, Ciências, Saúde – Manguinhos vol 10 (suplemento 2), 573-600, 2003.
- ^{xliv} TEMPORÃO, J.G. **O Programa Nacional de Imunizações (PNI): origens e desenvolvimento.** História, Ciências, Saúde – Manguinhos. Vol. 10 (Suplemento 2). 601-17, 2003.
- ⁱ HAMPTON, L. **Albert Sabin and the Coalition to Eliminate Polio from the Americas.** American Journal of Public Health. January 2009, Vol 99, No. 1.
- ⁱⁱ MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº 163/GM de 15 de julho de 1981.**
- ⁱⁱⁱ BERMUDEZ, J.A. **Apoio ao desenvolvimento tecnológico para capacitação nacional na produção de imunobiológicos.** Relatório de 14 páginas, acrescidas de quatro anexos. 1984.
- ⁱⁱⁱⁱ MINISTÉRIO DA SAÚDE. SNABS. **Programa de Auto-Suficiência Nacional em Imunobiológicos.** 15 páginas. Brasília, fevereiro de 1986.

-
- ^{liv} MINISTÉRIO DA SAÚDE. SNABS. **Ação do Ministério da Saúde no controle dos acidentes por animais peçonhentos**. 21 páginas. Brasília, setembro de 1988.
- ^{lv} PUFFER R., SERRANO C. **Características de la mortalidad en la niñez**. Organización Panamericana de la Salud. Publicación científica 262, 1973.
- ^{lvi} RISI JR, JB. Risi JB. **Control of measles in Brazil**. Reviews of Infectious Diseases 1983; 5:583–7.
- ^{lvii} MINISTÉRIO DA SAÚDE. SNABS. **Sarampo no Brasil em 1988**. Boletim Nacional de epidemiologia, Ano I nº6. Brasília, junho de 1988.
- ^{lviii} D. REBECCA PREVOTS et al. **Interruption of measles transmission in Brazil, 2000–2001**. The Journal of Infectious Diseases 2003; 187(Suppl 1):S111–20.
- ^{lix} MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Relatório da verificação dos critérios de eliminação da transmissão dos vírus endêmicos do sarampo e rubéola e da rubéola congênita (SRC) no Brasil**. Brasília, setembro de 2010.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



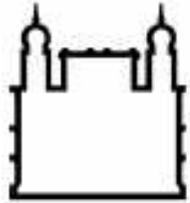
Instituto de Tecnologia
em Imunobiológicos

Bio-Manguinhos



II SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM IMUNOBIOLOGICOS

4 a 6 de maio de 2011
Hotel Windsor Barra da Tijuca
Rio de Janeiro, RJ



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



Instituto de Tecnologia
em Imunobiológicos

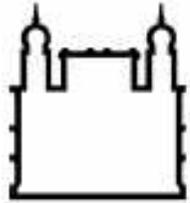
Bio-Manguinhos



As novas tecnologias de diagnósticos e vitórias contra doenças

Carlos Medicis Morel

Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde
CDTS/Fiocruz



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



Instituto de Tecnologia
em Imunobiológicos

Bio-Manguinhos



New diagnostic technologies and disease control

Carlos Medicis Morel

Center for Technological Development in Health
CDTS/Fiocruz

Outline of this presentation

- The importance of diagnostics in biotechnology
- The impact of new technology on diagnostics
 - The “omics” revolution
 - Next generation sequencing, bioinformatics et al
 - Pharmacogenomics: Diagnostics and personalized medicine
- Diagnostics and public health
 - The role of networks
 - Rapid diagnostic test in public health
 - On-demand, near-patient technology diagnostics
 - Faster, better, cheaper? (remember NASA)

The importance of diagnostics

Top ten biotechnologies for improving health in developing countries

Abdallah S. Daar¹⁻⁴, Halla Thorsteinsdóttir^{1,2}, Douglas K. Martin^{2,5,6}, Alyna C. Smith^{1,2},
Shauna Nast^{1,2} & Peter A. Singer^{2,4,7}

Most research into genomics and other related biotechnologies is concerned with the priorities of industrialized nations, and yet a limited number of projects have shown that these technologies could help improve health in developing countries. To encourage the successful application of biotechnology to global health, we carried out a study in which we asked an international group of eminent scientists with expertise in global health issues to identify the top ten biotechnologies for improving health in developing countries. The results offer concrete guidance to those in a position to influence the direction of research and development, and challenge common assumptions about the relevance and affordability of biotechnology for developing countries.

Nature Genetics, 32:229-232, October 2002

The importance of diagnostics

Table 1 • The top ten biotechnologies with scores based on rankings of the expert panel

Final ranking	Biotechnology	Final score
1	Modified molecular technologies for affordable, simple diagnosis of infectious diseases	288
2	Recombinant technologies to develop vaccines against infectious diseases	262
3	Technologies for more efficient drug and vaccine delivery systems	245
4	Technologies for environmental improvement (sanitation, clean water, bioremediation)	193
5	Sequencing pathogen genomes to understand their biology and to identify new antimicrobials	180
6	Female-controlled protection against sexually transmitted diseases, both with and without contraceptive effect	171
7	Bioinformatics to identify drug targets and to examine pathogen–host interactions	168
8	Genetically modified crops with increased nutrients to counter specific deficiencies	159
9	Recombinant technology to make therapeutic products (for example, insulin, interferons) more affordable	155
10	Combinatorial chemistry for drug discovery	129

Nature Genetics, 32:229-232, October 2002

The impact of new technologies

New molecular diagnostics methods
The “omics” revolution and next generation sequencing
Pharmacogenomics and personalized medicine

Nucleic acid amplification and mass spectrometry

EXPERT
REVIEWS

New technology for rapid molecular diagnosis of bloodstream infections

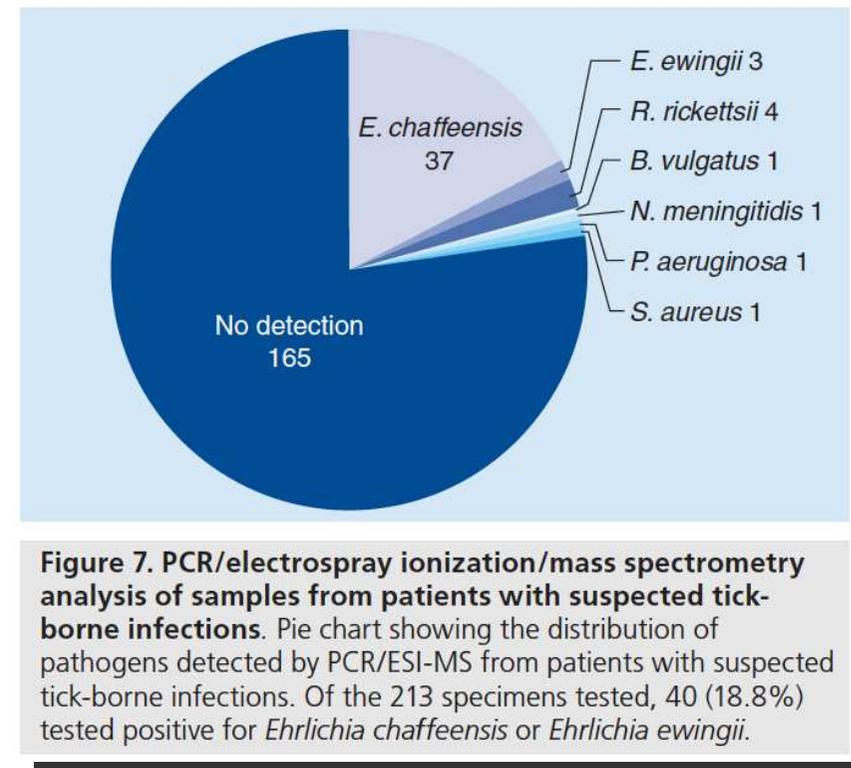
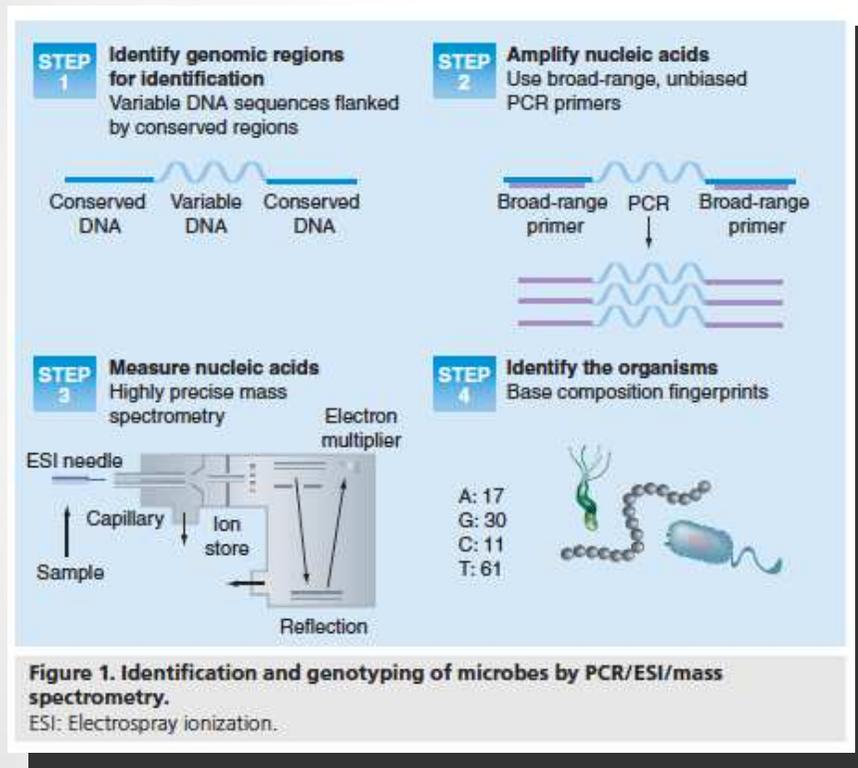
Expert Rev. Mol. Diagn. 10(4), 399–415 (2010)

David J Ecker¹,
Rangarajan Sampath¹,
Haijing Li², Christian
Massire¹, Heather E
Matthews¹, Donna
Toleno¹, Thomas A
Hall¹, Lawrence B Blyn¹,
Mark W Eshoo¹,
Raymond Ranken¹,
Steven A Hofstadler¹
and Yi-Wei Tang^{1,2}

Technologies for the correct and timely diagnosis of bloodstream infections are urgently needed. Molecular diagnostic methods have yet to have a major impact on the diagnosis of bloodstream infections; however, new methods are being developed that are beginning to address key issues. In this article, we discuss the key needs and objectives of molecular diagnostics for bloodstream infections and review some of the currently available methods and how these techniques meet key needs. We then focus on a new method that combines nucleic acid amplification with mass spectrometry in a novel approach to molecular diagnosis of bloodstream infections.

KEYWORDS: antibiotic resistance • bacteria • candidemia • Ibis • molecular diagnosis • PCR/electrospray ionization mass spectrometry • PLEX-ID • sepsis • systemic inflammatory response syndrome

Detection of unculturable pathogens



“The PCR/ESI-MS method detects pathogens with no bias due to culturability. Aerobic, anaerobic, culturable, fastidious and unculturable organisms are identified in the same way”

[346, 348, 349, 361]
**Ribosomal primer pairs
 with broad bacterial coverage
 unless indicated otherwise**

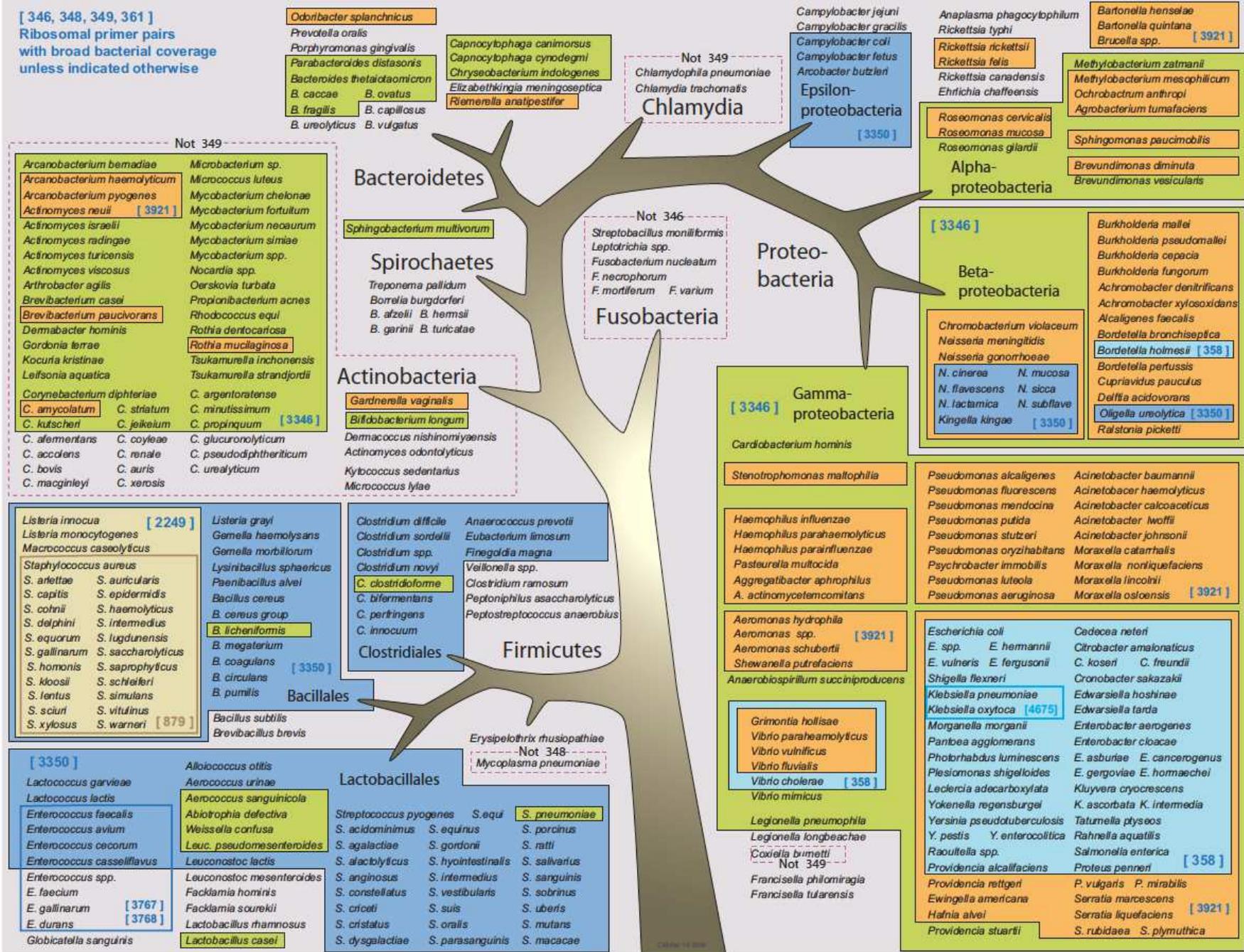


Figure 2. Bacterial phylogenetic tree showing the primer coverage of the PCR/electrospray ionization/mass spectrometry assay. The primer coverage of the rDNA is represented by the gray background. Exceptions are indicated by red boxes.

The revolution inside the revolution...

REVIEW

nature
biotechnology

Next-generation DNA sequencing

Jay Shendure¹ & Hanlee Ji²

DNA sequence represents a single format onto which a broad range of biological phenomena can be projected for high-throughput data collection. Over the past three years, massively parallel DNA sequencing platforms have become widely available, reducing the cost of DNA sequencing by over two orders of magnitude, and democratizing the field by putting the sequencing capacity of a major genome center in the hands of individual investigators. These new technologies are rapidly evolving, and near-term challenges include the development of robust protocols for generating sequencing libraries, building effective new approaches to data-analysis, and often a rethinking of experimental design. Next-generation DNA sequencing has the potential to dramatically accelerate biological and biomedical research, by enabling the comprehensive analysis of genomes, transcriptomes and interactomes to become inexpensive, routine and widespread, rather than requiring significant production-scale efforts.



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

 ScienceDirect

Journal of Genetics and Genomics 38 (2011) 95–109

JOURNAL OF
**GENETICS AND
GENOMICS**

www.jgenetgenomics.org

The impact of next-generation sequencing on genomics

Jun Zhang^{a,b,*}, Rod Chiodini^c, Ahmed Badr^a, Genfa Zhang^d

^aCOE for Neurosciences, Department of Anesthesiology, Texas Tech University Health Sciences Center El Paso, TX 79905, USA

^bDepartment of Biomedical Sciences, Texas Tech University Health Sciences Center El Paso, TX 79905, USA

^cInternal Medicine, Texas Tech University Health Sciences Center El Paso, TX 79905, USA

^dCollege of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Received 2 November 2010; revised 18 January 2011; accepted 18 January 2011

Abstract

This article reviews basic concepts, general applications, and the potential impact of next-generation sequencing (NGS) technologies on genomics, with particular reference to currently available and possible future platforms and bioinformatics. NGS technologies have demonstrated the capacity to sequence DNA at unprecedented speed, thereby enabling previously unimaginable scientific achievements and novel biological applications. But, the massive data produced by NGS also presents a significant challenge for data storage, analyses, and management solutions. Advanced bioinformatic tools are essential for the successful application of NGS technology. As evidenced throughout this review, NGS technologies will have a striking impact on genomic research and the entire biological field. With its ability to tackle the unsolved challenges unconquered by previous genomic technologies, NGS is likely to unravel the complexity of the human genome in terms of genetic variations, some of which may be confined to susceptible loci for some common human conditions. The impact of NGS technologies on genomics will be far reaching and likely change the field for years to come.

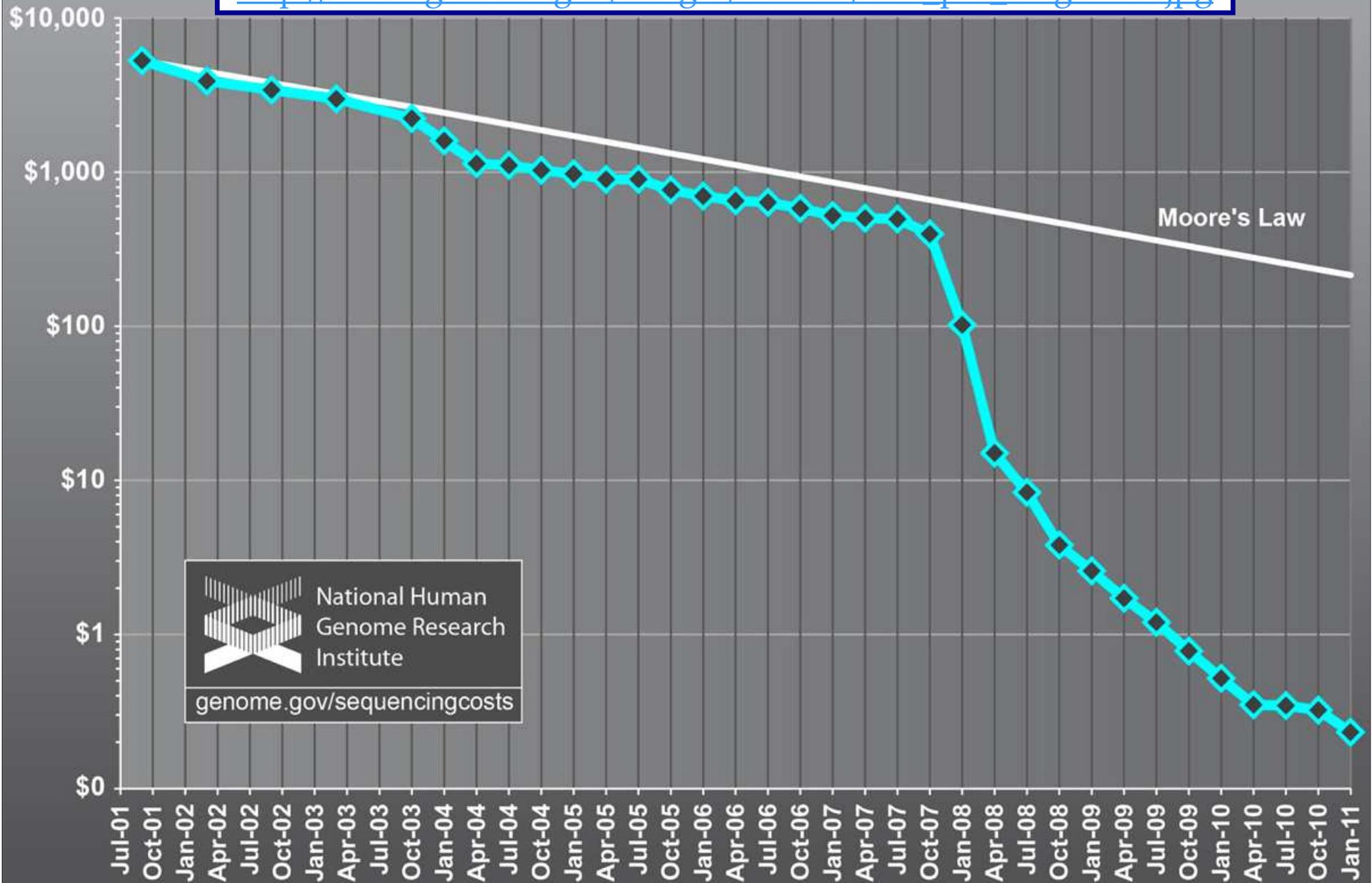
Keywords: Next-generation sequencing; Genomics; Genetic variation; Polymorphism; Targeted sequence enrichment; Bioinformatics

Platforms for next-generation sequencing

Technology	Amplification	Read length	Throughput	Sequence by synthesis
<i>Currently available</i>				
Roche/GS-FLX Titanium	Emulsion PCR	400–600 bp	500 Mbp/run	Pyrosequencing
Illumina/HiSeq 2000, HiScan	Bridge PCR (Cluster PCR)	2 × 100 bp	200 Gbp/run	Reversible terminators
ABI/SOLiD 5500xl	Emulsion PCR	50–100 bp	>100 Gbp/run	Sequencing-by-ligation (octamers)
Polonator/G.007	Emulsion PCR	26 bp	8–10 Gbp/run	Sequencing-by-ligation (monomers)
Helicos/Heliscope	No	35 (25–55) bp	21–37 Gbp/run	True single-molecule sequencing (tSMS)
<i>In development</i>				
Pacific BioSciences/RS	No	1000 bp	N/A	Single-molecule real time (SMRT)
Visigen Biotechnologies	No	>100 Kbp	N/A	Base-specific FRET
U.S. Genomics	No	N/A	N/A	Single-molecule mapping
Genovox	No	N/A	N/A	Single-molecule sequencing by synthesis
Oxford Nanopore Technologies	No	35 bp	N/A	Nanopores/exonuclease-coupled
NABsys	No	N/A	N/A	Nanopores
Electronic BioSciences	No	N/A	N/A	Nanopores
BioNanomatrix/nanoAnalyzer	No	400 Kbp	N/A	Nanochannel arrays
GE Global Research	No	N/A	N/A	Closed complex/nanoparticle
IBM	No	N/A	N/A	Nanopores
Ling Vitae	No	N/A	N/A	Nanopores
Complete Genomics	No	70 bp	N/A	DNA nanoball arrays
base4innovation	No	N/A	N/A	Nanostructure arrays
CrackerBio	No	N/A	N/A	Nanowells
Reveo	No	N/A	N/A	Nano-knife edge
Intelligent BioSystems	No	N/A	N/A	Electronics
LightSpeed Genomics	No	N/A	N/A	Direct-read sequencing by EM
Halcyon Molecular	No	N/A	N/A	Direct-read sequencing by EM
ZS Genetics	No	N/A	N/A	Direct-read sequencing by TEM
Ion Torrent/PostLight	No	N/A	N/A	Semiconductor-based pH sequencing
Genizon BioSciences/CGA	No	N/A	N/A	Sequencing-by-hybridization

Cost per Megabase of DNA Sequence

http://www.genome.gov/images/content/cost_per_megabase.jpg



 National Human
Genome Research
Institute
genome.gov/sequencingcosts

The future of genomic data

(Kahn S, *Science* 331:728-729, Feb 2011)



PERSPECTIVE

On the Future of Genomic Data

Scott D. Kahn

Many of the challenges in genomics derive from the informatics needed to store and analyze the raw sequencing data that is available from highly multiplexed sequencing technologies. Because single week-long sequencing runs today can produce as much data as did entire genome centers a few years ago, the need to process terabytes of information has become de rigueur for many labs engaged in genomic research. The availability of deep (and large) genomic data sets raises concerns over information access, data security, and subject/patient privacy that must be addressed for the field to continue its rapid advances.

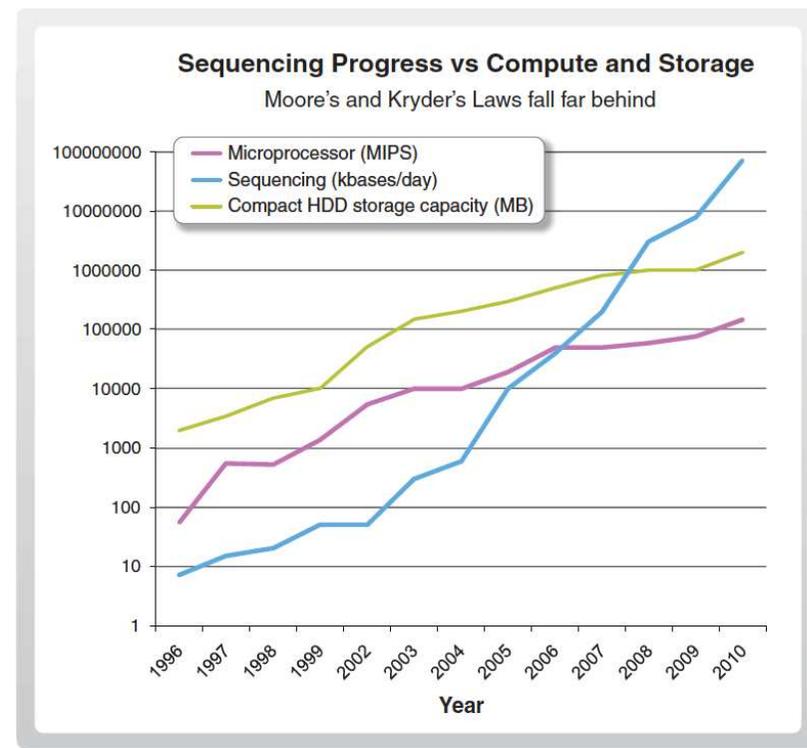


Fig. 1. A doubling of sequencing output every 9 months has outpaced and overtaken performance improvements within the disk storage and high-performance computation fields.

High throughput data collection requires new bioinformatics tools

Table 3 Bioinformatics tools for short-read sequencing

Program	Categories	Author(s)	Reference	URL
Cross_match	Alignment	Phil Green, Brent Ewing and David Gordon		http://www.phrap.org/phredphrapconsed.html
ELAND	Alignment	Anthony J. Cox		http://www.illumina.com/
Exonerate	Alignment	Guy S. Slater and Ewan Birney	72	http://www.ebi.ac.uk/~guy/exonerate
MAQ	Alignment and variant detection	Heng Li	37	http://maq.sourceforge.net
Mosaik	Alignment	Michael Strömberg and Gabor Marth		http://bioinformatics.bc.edu/marthlab/Mosaik
RMAP	Alignment	Andrew Smith, Zhenyu Xuan and Michael Zhang	73	http://rulai.cshl.edu/rmap
SHRiMP	Alignment	Michael Brudno and Stephen Rumble		http://compbio.cs.toronto.edu/shrimp
SOAP	Alignment	Ruiqiang Li <i>et al.</i>	35	http://soap.genomics.org.cn
SSAHA2	Alignment	Zemin Ning <i>et al.</i>	36	http://www.sanger.ac.uk/Software/analysis/SSAHA2
SXOligoSearch	Alignment	Synamatix		http://synasite.mgrc.com.my:8080/sxog/NewSXOligoSearch.php
ALLPATHS	Assembly	Jonathan Butler <i>et al.</i>	38	
Edena	Assembly	David Hernandez <i>et al.</i>	74	http://www.genomic.ch/edena
Euler-SR	Assembly	Mark Chaisson and Pavel Pevzner	75	
SHARCGS	Assembly	Juliane Dohm <i>et al.</i>	76	http://sharcgs.molgen.mpg.de
SHRAP	Assembly	Andreas Sundquist <i>et al.</i>	39	
SSAKE	Assembly	René Warren <i>et al.</i>	40	http://www.bcgsc.ca/platform/bioinfo/software/ssake
VCAKE	Assembly	William Jeck	77	http://sourceforge.net/projects/vcake
Velvet	Assembly	Daniel Zerbino and Ewan Birney	41	http://www.ebi.ac.uk/%7Ezerbino/velvet
PyroBayes	Base caller	Aaron Quinlan <i>et al.</i>	34	http://bioinformatics.bc.edu/marthlab/PyroBayes
PbShort	Variant detection	Gabor Marth		http://bioinformatics.bc.edu/marthlab/PbShort
ssahaSNP	Variant detection	Zemin Ning <i>et al.</i>		http://www.sanger.ac.uk/Software/analysis/ssahaSNP

Incomplete list compiled from sources, including <http://seqanswers.com/forums/showthread.php?t=43> and <http://www.sanger.ac.uk/Users/lh3/seq-nt.html>.



Unraveling human complexity and disease with systems biology and personalized medicine

We are all perplexed that current medical practice often appears maladroit in curing our individual illnesses or disease. However, as is often the case, a lack of understanding, tools and technologies are the root cause of such situations. Human individuality is an often-quoted term but, in the context of human biology, it is poorly understood. This is compounded when there is a need to consider the variability of human populations. In the case of the former, it is possible to quantify human complexity as determined by the 35,000 genes of the human genome, the 1–10 million proteins (including antibodies) and the 2000–3000 metabolites of the human metabolome. Human variability is much more difficult to assess, since many of the variables, such as the definition of race, are not even clearly agreed on. In order to accommodate human complexity, variability and its influence on health and disease, it is necessary to undertake a systematic approach. In the past decade, the emergence of analytical platforms and bioinformatics tools has led to the development of systems biology. Such an approach offers enormous potential in defining key pathways and networks involved in optimal human health, as well as disease onset, progression and treatment. The tools and technologies now available in systems biology analyses offer exciting opportunities to exploit the emerging areas of personalized medicine. In this article, we discuss the current status of human complexity, and how systems biology and personalized medicine can impact at the individual and population level.

KEYWORDS: complexity • human health • 'omics • personalized medicine
• systems biology • variability

Stephen Naylor¹
& Jake Y Chen^{1,2,3,4}

Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency in an Endemic Area for Malaria in Manaus: A Cross-Sectional Survey in the Brazilian Amazon

Marli Stela Santana^{1*}, Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda^{1,2,3*}, Maria das Graças Vale Barbosa^{1,2,3}, Wilson Duarte Alecrim^{2,3}, Maria das Graças Costa Alecrim^{1,3}

¹ University of the State of Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil, ² Tropical Medicine Foundation of Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil, ³ Nilton Lins University Center, Manaus, Amazonas, Brazil

Abstract

Background: There is a paucity of information regarding glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency in endemic areas for malaria in Latin America.

Methodology/Principal Findings: This study determined the prevalence of the G6PD deficiency in 200 male non-consanguineous individuals residing in the Ismail Aziz Community, on the outskirts of Manaus (Brazilian Amazon). Six individuals (3%) were deficient using the qualitative Brewer's test. Gel electrophoresis showed that five of these patients were G6PD A⁻. The deficiency was not associated with the ethnic origin ($P = 0.571$). In a multivariate logistic regression analysis, G6PD deficiency protected against three or more episodes of malaria ($P = 0.049$), independently of the age, and was associated with a history of jaundice ($P = 0.020$) and need of blood transfusion ($P = 0.045$) during previous treatment for malarial infection, independently of the age and the previous malarial exposure.

Conclusions/Significance: The frequency of G6PD deficiency was similar to other studies performed in Brazil and the finding of a predominant G6PD A⁻ variant will help the clinical management of patients with drug-induced haemolysis. The history of jaundice and blood transfusion during previous malarial infection may trigger the screening of patients for G6PD deficiency. The apparent protection against multiple malarial infections in an area primarily endemic for *Plasmodium vivax* needs further investigation.

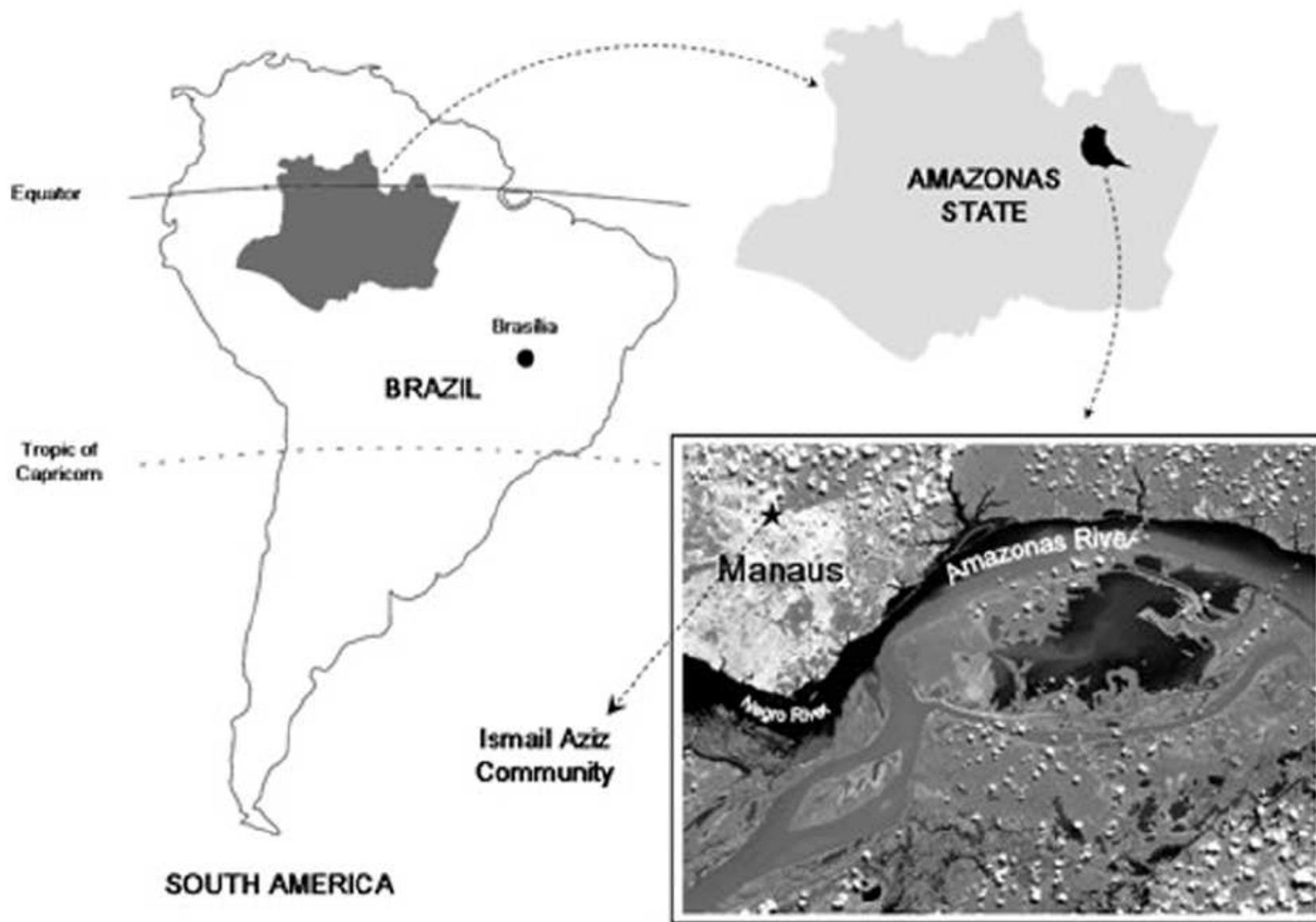


Figure 1. Geographic localization of the Ismail Aziz Community in an endemic area for malaria in Manaus, Amazonas State, Brazil.
 doi:10.1371/journal.pone.0005259.g001

CASE REPORT

Open Access

The reality of using primaquine

Kathy L Burgoine^{1,2*}, Germana Bancone^{1,3}, François Nosten^{1,3,4*}

Abstract

Background: Primaquine is currently the only medication used for radical cure of *Plasmodium vivax* infection. Unfortunately, its use is not without risk. Patients with glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency have an increased susceptibility to haemolysis when given primaquine. This potentially fatal clinical syndrome can be avoided if patients are tested for G6PD deficiency and adequately informed before being treated.

Case presentation: A 35-year old male presented to our clinic on the Thai-Burmese border with a history and clinical examination consistent with intravascular haemolysis. The patient had been prescribed primaquine and chloroquine four days earlier for a *P. vivax* infection. The medication instructions had not been given in a language understood by the patient and he had not been tested for G6PD deficiency. The patient was not only G6PD deficient but misunderstood the instructions and took all his primaquine tablets together. With appropriate treatment the patient recovered and was discharged home a week later.

Conclusions: Whilst primaquine remains the drug of choice to eradicate hypnozoites and control *P. vivax* transmission, the risks associated with its use must be minimized during its deployment. In areas where *P. vivax* exists, patients should be tested for G6PD deficiency and adequately informed before administration of primaquine.

Diagnostics and public health

The role of networks
Rapid diagnostic tests
On-demand, near-patient technologies diagnostics
Faster, better; cheaper ?



International Study to Evaluate PCR Methods for Detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in Blood Samples from Chagas Disease Patients

Alejandro G. Schijman^{1*}, Margarita B. Jaramillo³, Carolina Cura¹, Frederic A. Gisely Hajar⁸, Inés Zulantay⁹, Raúl Ho Leon¹³, Lucia Galvão¹⁴, Debbie Nold Zorrilla¹⁹, María Flores²⁰, Maria I. Jer Gonzalez²⁴, Karla Acosta Viana²⁵, Pedro Diosque¹⁶, Omar Triana Chavez³, Christian Assal⁴, Felipe Guhl¹⁸, Sergio Sosa Es Luquetti²⁹, Janis Ladzins³⁰

Country	Nº Labs
Argentina	7
Brazil	5
Colombia	3
Belgium	1
Bolivia	1
Chile	1
France	1
French Guiana	1
Mexico	1
Paraguay	1
Peru	1
Spain	1
Switzerland	1
UK	1
Uruguay	1
USA	1
Venezuela	1

María Sued², Tomás Duffy¹, Ana M. Mejía Qvarnstrom⁶, Stijn Deborggraeve⁷, Juan José Siqueira¹¹, Tatiana Tellez¹², Zunilda Sanchez José E. Levi¹⁷, Juan D. Ramirez¹⁸, Pilar Pastor Añez²², Ana M. De Castro²³, Clara I. Torrico¹², Carlos Robello¹⁹, Patricio Somando¹³, Philippe Büscher⁷, Azzedine Constança Britto²⁸, Alejandro

¹Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina, ²Instituto de Cálculo, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, ³French Blood Services, La Plaine Saint Denis, Paris, France, ⁴Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA, ⁵Parasitic Diseases, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia, USA, ⁶Department of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium, ⁷Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú, ⁸Facultad de Medicina, Santiago de Chile, Chile, ⁹Instituto de Patología Experimental, Universidad Nacional de Buenos Aires, Argentina, ¹⁰Centro Universitario de Medicina Preventiva y Diagnóstica, Universidad Nacional de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Rio Grande do Norte, Brazil, ¹¹London School of Tropical Medicine and Hygiene, London, United Kingdom, ¹²Laboratorio de Patología Experimental, Universidad Nacional de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical, Mahahonda, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España, ¹³Sección Parasitología, Instituto Nacional De Salud, Santiago de Chile, Chile, ¹⁴Centro de Investigaciones Parasitológicas "J.F. Torrealba," Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela, ¹⁵Instituto de Patología Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brazil, ¹⁶Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular (GIEM), Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia, ¹⁷Departamento de Biomedicina de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias Laboratorio de Biología Celular, Centro de Investigaciones Regionales (CIR) "Dr Hideyo Noguchi," Universidad Autónoma de Yucatán, Yucatán, México, ¹⁸Instituto de Biomedicina, Universidad Católica de Santiago del Estero, Santiago del Estero, Argentina, ¹⁹Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación de Endemoepidemias (CeNDIE) ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Buenos Aires, Argentina, ²⁰Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas, Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil, ²¹Laboratório de Pesquisa de Doença de Chagas, Goiânia, Brazil, ²²Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR), World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland

Major Reduction in Anti-Malarial Drug Consumption in Senegal after Nation-Wide Introduction of Malaria Rapid Diagnostic Tests

Sylla Thiam¹, Moussa Thior¹, Babacar Faye², Médoune Ndiop¹, Mamadou Lamine Diouf¹, Mame Birame Diouf¹, Ibrahima Diallo¹, Fatou Ba Fall¹, Jean Louis Ndiaye², Audrey Albertini³, Evan Lee³, Pernille Jorgensen³, Oumar Gaye², David Bell^{4*}

¹ Programme National de lutte contre le Paludisme, Ministère de la Santé, Dakar Fann, Senegal, ² Faculté de Médecine, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Fann Dakar, Sénégal, ³ Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND), Geneva, Switzerland, ⁴ Global Malaria Programme, World Health Organization, Geneva, Switzerland

PLoS ONE 6(4): e18419. doi:10.1371/journal.pone.0018419

Table 1. Key dates in introduction of anti-malaria interventions in Senegal.

Intervention	Year of introduction
Indoor residual spraying: primary vector control intervention	1998
Insecticide-treated bednets (more recently long-lasting nets)	2002
Intermittent prophylactic Therapy for pregnancy (IPTp)	2004
Artemisinin-based combination therapy	2006
Rapid diagnostic tests (RDTs)	2007 (Sept)
RDT country 'full coverage' (roll-out to health posts, then health huts)	2008 (Late)

doi:10.1371/journal.pone.0018419.t001

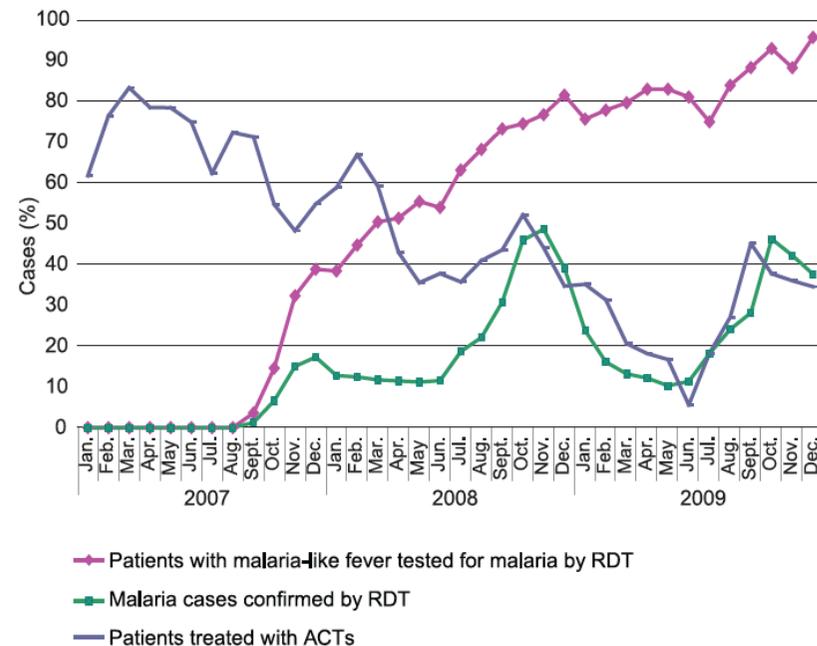


Figure 3. Management of suspected malaria in Senegal public health services, 2007–2009. doi:10.1371/journal.pone.0018419.g003

RESEARCH

Open Access

Blood transfer devices for malaria rapid diagnostic tests: evaluation of accuracy, safety and ease of use

Heidi Hopkins^{1*}, Wellington Oyibo², Jennifer Luchavez³, Mary Lorraine Mationg³, Caroline Asimwe¹, Audrey Albertini⁴, Iveth J González⁴, Michelle L Gatton⁵, David Bell^{4,6}

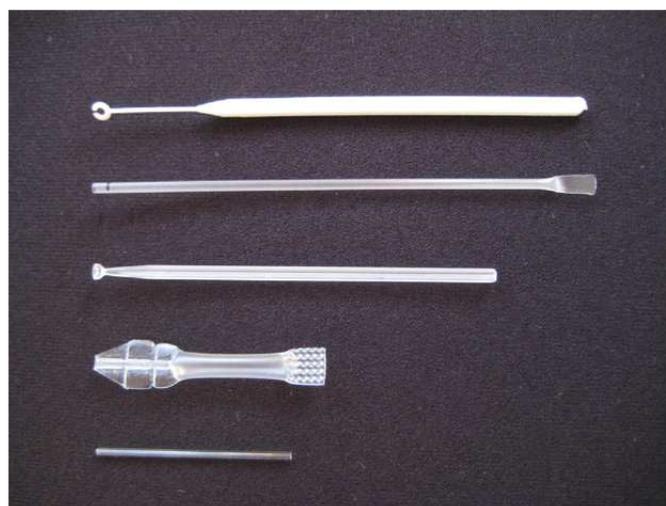
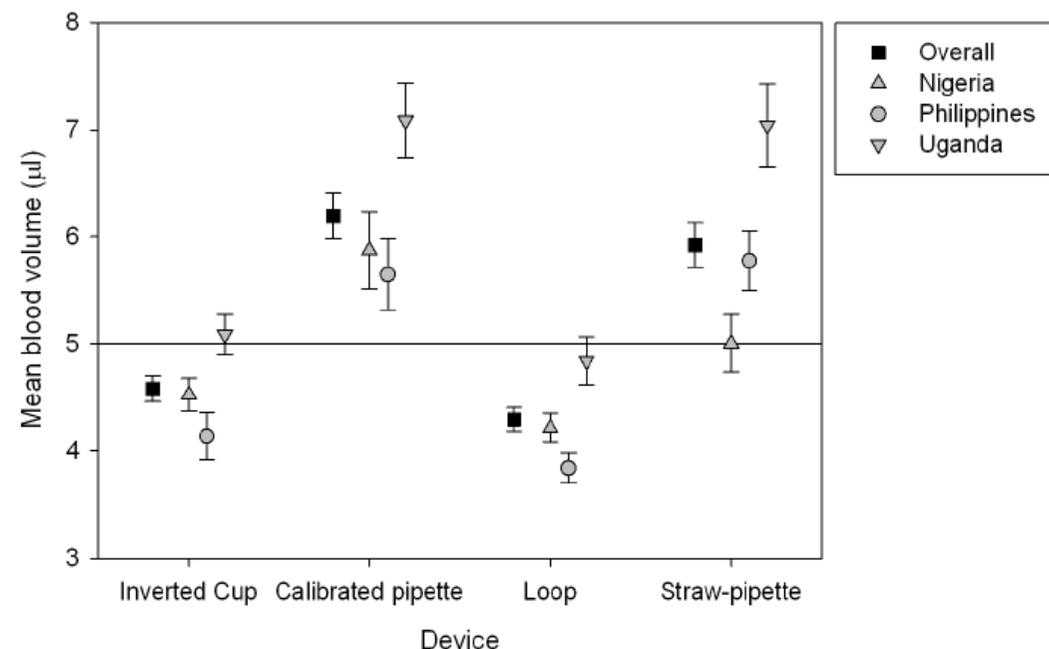


Figure 1 Photograph of blood transfer devices evaluated. From top to bottom, the loop, straw-pipette, inverted cup, calibrated pipette, and glass capillary.



Conclusions: The performance of blood transfer devices varied in this evaluation of accuracy, blood safety, ease of use, and user preference. The inverted cup design achieved the highest overall performance, while the loop also performed well. These findings have relevance for any point-of-care diagnostics that require blood sampling.

Pathways to better diagnostics for tuberculosis

A blueprint for the development of TB diagnostics

By the New Diagnostics Working Group of the Stop TB Partnership



Contents

Contributors	2
Glossary	4
Executive summary	6
Introduction: delivering diagnostics, from concept to delivery	12
1. The search for <i>tubercle bacilli</i>	18
2. TB diagnosis today: the search for improved diagnostics continues	22
3. The current TB epidemic	26
4. The rationale for the diagnostic pipeline	30
5. Assessing the needs	32
6. Aiming for the right targets	38
7. Feasibility – A guarantee of strong foundations	46
8. Development and optimization: additional hurdles	50
9. Evaluation, putting it through its paces: does the test work?	54
10. Demonstration, putting the test to the test: is it worth it?	60
11. Measuring impact	70
12. Access: the final test of success	78
13. Barriers and challenges	84
14. References	88

⊙ ANNEXES - see CD in back cover

The principles of current TB diagnostic tools

1. Optimizing TB smear microscopy
2. Rapid solid and liquid culture
3. Antigen detection tests for diagnosis of active TB
4. Antibody detection
5. T-cell-based interferon-gamma release assays
6. Nucleic acid amplification tests
7. Molecular drug resistance testing
8. Phage-based tests
9. Nose technologies
10. References and glossary

Figure 1. Summary of new TB diagnostic technologies

SUMMARY OF TECHNOLOGIES			ESTIMATED COSTS			
Technology	Description	Product	Training ¹	Infra-structure ²	Equip. ³	Consumables
WHO-ENDORSED TOOLS (2006-2008)						
Liquid culture	Commercial broth-based culture systems detect TB bacteria (manual and automated systems are available), can be configured for DST	BacT/ALERT 3D; MGIT	Extensive (3 weeks)	■■■	High	High
Molecular line probe assay	Strip test simultaneously detects TB bacteria and genetic mutations that indicate isoniazid and/or rifampicin resistance	GeoType® MTBDR and MTBDRplus; INNO-LiPA Rif.TB	Moderate (3 days)	■■ to ■■■	High	High
Strip speciation	Strip speciation test detects a TB-specific antigen from positive liquid or solid cultures to confirm the presence of TB bacteria in culture samples	Capilia TB Rapid Diagnostic Test	Minimal (1 day)	■■■	Low	Medium
TOOLS IN LATE-STAGE DEVELOPMENT/EVALUATION						
Automated detection and MDR screening	Device allows automated sample processing; DNA amplification and detection of <i>M. tuberculosis</i> and screening for rifampicin resistance	Cepheid GeneXpert device and Xpert MTB cartridge	Minimal	■	High	High
Colorimetric redox indicators	Technique detects isoniazid and rifampicin resistance in culture samples after incubation with redox dyes	Non-commercial method (Resazurin)	Extensive	■■■	Low	Medium
Front-loaded smear microscopy	Based on 2 or 3 specimens but aims to examine specimens on the day that patient presents to the health service (thus identifying 95% of TB cases)	n/a	Minimal	■	Low	Low
Interferon gamma release assay	Blood test detects specific cellular immune responses indicating TB infection	QuantiFERON®-TB Gold In Tube; T-SPOT.TB®	Moderate	■	Low	High
LED fluorescence microscopy	Robust fluorescence microscopy (FM) systems based on light-emitting diodes (LEDs) that could allow the advantages of FM at levels of the health system where conventional FM would be impractical	Fraen; LW Scientific; Zeiss	Moderate Moderate Moderate	■ ■ ■	Medium Medium Medium	Low Low Low
Microscopic Observation Drug Susceptibility (MODS)	Manual liquid culture technique uses basic laboratory equipment (incl. an inverted light microscope) and microscopy skills to detect TB bacteria	Non-commercial method	Extensive	■■ to ■■■	Medium	Medium
New solid culture methods	Solid culture technique measures nitrate reduction to indicate isoniazid and rifampicin resistance. Solid culture technique simultaneously detects TB bacteria and indicate isoniazid and rifampicin resistance	Non-commercial method (Nitrate reductase assay)	Moderate	■■ to ■■■	Low	Medium
		Non-commercial method (Thin layer agar culture)	Extensive	■■ to ■■■	Low	Medium
TOOLS IN EARLY PHASE OF DEVELOPMENT						
Tool	Level of health system	Tool	Level of health system			
Breathalyser screening test	Community or point-care	Sodium hypochlorite (bleach) microscopy	Peripheral laboratory			
First-generation loop-mediated isothermal amplification technology platform (LAMP)	Peripheral laboratory	Sputum filtration	Peripheral laboratory			
Lipoarabinomannan (LAM) detection in urine	Peripheral laboratory	TB Patch Test	Health post			
Phage-based tests	Reference laboratory	Vital fluorescent staining of sputum smears	Peripheral laboratory			

From: World Health Organization & Stop TB Partnership. *New laboratory diagnostic tools for tuberculosis control*. World Health Organization, Geneva, 2008

New approaches to TB diagnostics

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Jan. 2010, p. 229–237
0095-1137/10/\$12.00 doi:10.1128/JCM.01463-09
Copyright © 2010, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 48, No. 1

Rapid Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and Rifampin Resistance by Use of On-Demand, Near-Patient Technology^{▽†‡}

Danica Helb,^{1§} Martin Jones,² Elizabeth Story,¹ Catharina Boehme,³ Ellen Wallace,² Ken Ho,² JoAnn Kop,² Michelle R. Owens,² Richard Rodgers,² Padmapriya Banada,¹ Hassan Safi,¹ Robert Blakemore,¹ N. T. Ngoc Lan,⁴ Edward C. Jones-López,¹ Michael Levi,⁵ Michele Burday,⁶ Irene Ayakaka,⁷ Roy D. Mugerwa,⁸ Bill McMillan,^{2¶} Emily Winn-Deen,² Lee Christel,² Peter Dailey,² Mark D. Perkins,³ David H. Persing,² and David Alland^{1*}

Department of Medicine, New Jersey Medical School, University of Medicine and Dentistry, New Jersey, Newark, New Jersey¹; Cepheid, Sunnyvale, California²; Foundation for Innovative New Diagnostics, Geneva, Switzerland³; Pham Ngoc Thach Hospital, Ho Chi Minh City, Vietnam⁴; Montefiore Medical Center, Bronx, New York⁵; Department of Pathology, New Jersey Medical School, University of Medicine and Dentistry, New Jersey, Newark, New Jersey⁶; Makerere University-University of Medicine and Dentistry, New Jersey, Research Collaboration, Kampala, Uganda⁷; and Department of Medicine, Makerere University School of Medicine, Kampala, Uganda⁸

“...In conclusion, this highly sensitive and simple-to-use system can detect *M. tuberculosis* directly from sputum in less than 2 h.”

Automated, real-time PCR-based diagnosis of TB

The Lancet, [Volume 377](#), [Issue 9776](#), Pages 1495 - 1505, 30 April 2011
doi:10.1016/S0140-6736(11)60438-8 [\(?\) Cite or Link Using DOI](#)

[< Previous Article](#) | [Next Article >](#)

Published Online: 19 April 2011

Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study

Dr [Catharina C Boehme MD ^a](#)  , Prof [Mark P Nicol PhD ^{b c}](#), [Pamela Nabeta MD ^a](#), Prof [Joy S Michael MD ^d](#), [Eduardo Gotuzzo MD ^e](#), [Rasim Tahirlı MD ^f](#), [Ma Tarcela Gler MD ^g](#), [Robert Blakemore BSc ^h](#), [William Worodria MMed ^{i j}](#), [Christen Gray MPH ^a](#), Prof [Laurence Huang MD ^k](#), [Tatiana Caceres BSc ^e](#), [Rafail Mehdiyev MD ^l](#), [Lawrence Raymond MD ^m](#), [Andrew Whitelaw MD ^{b c}](#), [Kalaiselvan Sagadevan MSc ^d](#), [Heather Alexander PhD ^{a n}](#), [Heidi Albert PhD ^{a o}](#), [Frank Cobelens PhD ^p](#), [Helen Cox PhD ^q](#), Prof [David Alland MD ^h](#), [Mark D Perkins MD ^a](#)

Summary

Background

The Xpert MTB/RIF test (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA) can detect tuberculosis and its multidrug-resistance. It has high sensitivity and specificity in controlled studies, but no performance data exist from district and subdistrict tuberculosis-endemic countries. We aimed to assess operational feasibility, accuracy, and effectiveness of the test in such settings.

Country	N° Labs
South Africa	3
Uganda	3
USA	3
Azerbaijan	2
Philippines	2
India	1
Netehrlands	1
Peru	1
Switzerland	1

Automated, real-time PCR-based diagnosis of TB



PROCESSING CHAMBERS

CONTAIN REAGENTS, FILTERS, AND CAPTURE TECHNOLOGIES NECESSARY TO EXTRACT, PURIFY, AND AMPLIFY TARGET NUCLEIC ACIDS

OPTICAL WINDOW

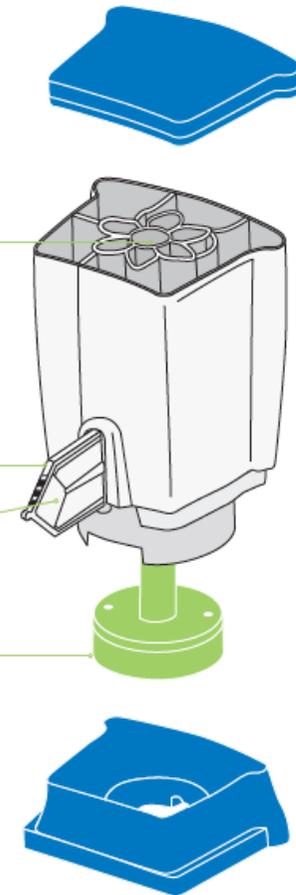
ENABLE REAL-TIME OPTICAL DETECTION

REACTION TUBE

THIN CHAMBER ENABLES VERY RAPID THERMAL CYCLING

VALVE

ENABLES FLUID TRANSFER FROM CHAMBER TO CHAMBER, MAY CONTAIN NUCLEIC ACIDS LYSIS AND FILTRATION COMPONENTS



Detection of TB cases and rifampicin resistance by different methods

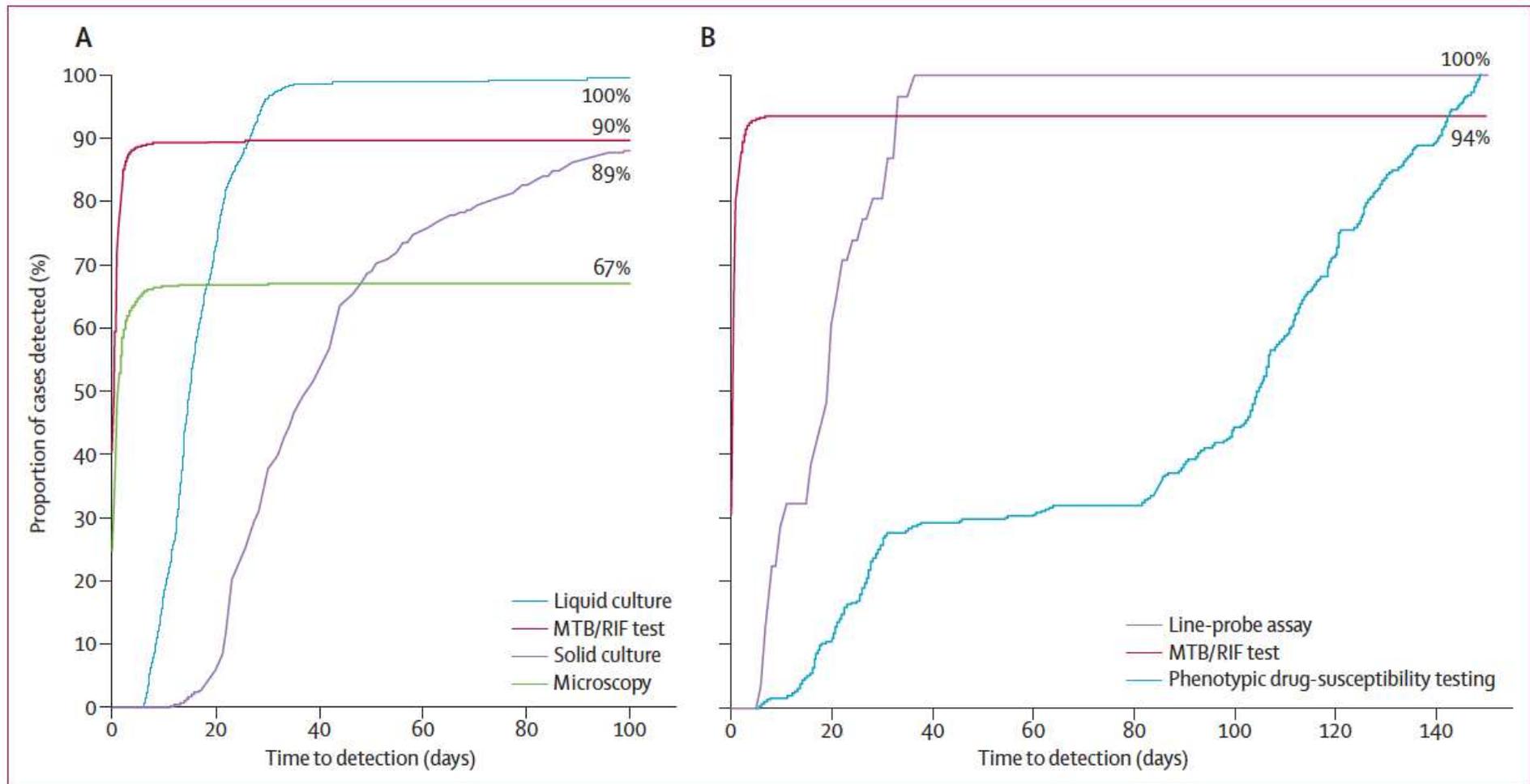


Figure 2: Proportion of tuberculosis cases detected by each method in culture-positive patients

Percentages are the maximum proportion of cases detected by every method. (A) Tuberculosis case detection. (B) Detection of rifampicin resistance. Time to detection was defined as time between date of sputum sample collection and date of positive result. MTB=*Mycobacterium tuberculosis*. RIF=rifampicin.

Faster, better... cheaper ?

Chapter 10

Demonstration,
putting the test to
the test: *is it worth it?*



Table 2. Cost data elements for cost analysis of TB diagnostics and suggested data sources

Element	Cost items	Suggested sources of data
Physical Infrastructure	Construction	Construction contractors / Government Estates and building planning office / Recent laboratory construction budget
	Maintenance contracts for all laboratory equipment requiring periodic maintenance	Laboratory financial records; laboratory or hospital accounts offices
Chemicals and reagents and consumables	All types of chemicals and reagents utilized for diagnostic methods evaluated	Laboratory financial records / manufacturer catalogue (must include all costs associated with procurement, usually at 25% of the catalogue price)
Human resources	Laboratory staff salaries	Government salary scale / Laboratory or hospital accounts office
	Laboratory staff allowances and benefits	Government salary scale / Laboratory or hospital accounts office
	Staff training off-site	Laboratory records / interview
Training and quality assurance	Orientation training for new staff	Laboratory staff records
	No need for biosafety cabinet. Disposal of clinical material without further treatment	No need for biosafety cabinet
	Internal QAVQC	Cost can be evaluated as part of the general cost analysis using 'ingredients' approach. The full list of internal QAVQC procedures can be found in the general SOP
Specimen transport	Cost of a vehicle used for specimen transport - evaluated as purchased 'new'	Accounting office/auto dealer
	Average distance traveled - annual figure	List of locations referring specimens to the laboratory
	Average driver salary	Accounting office
	Quantity of fuel used	Accounting office
	Fuel Price	General market research, Accounting office
	Insurance of vehicle	Accounting office
	Other consumables used in specimen transport	Accounting office

Abbreviations: QA: Quality Assurance, QC: Quality Control, SOP: Standard Operating Procedure

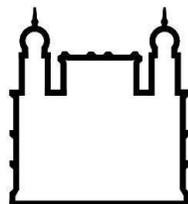


Center for Technological Development in Health (CDTS at Fiocruz)

To download a pdf of this presentation go to:
<https://public.me.com/cmmorel>

Thank you
Muito obrigado

morel@cdts.fiocruz.br



Ministério da Saúde

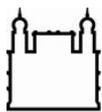
FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



inct-idn

national institute of
science and technology
**of innovation in
neglected diseases**



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



Instituto de Tecnologia
em Imunobiológicos

Bio-Manguinhos



Apoio

