

VAC 02 - Aplicabilidade do MAT como método alternativo ao uso de coelhos no ensaio de pirogenia no controle de qualidade da MenCC

Vítor Fernandes Silva^{1*}; Alessandra Santos Almeida¹; Cristiane Caldeira da Silva²; Octávio Augusto França Presgrave²; Ivna Alana Freitas Brasileiro da Silveira¹; Daniel Da Silva Guedes Junior¹; Katherine Antunes de Mattos¹.

¹Bio-Manguinhos / Fiocruz;

²INCQS / Fiocruz.

Introdução:

A detecção de pirogênicos em produtos parenterais é mandatória pelas agências reguladoras. Atualmente, para avaliar o conteúdo de pirogênicos, as principais farmacopeias preconizam o teste de pirogênio em coelhos (RPT), o lisado de amebócito de *Limulus* (LAL) e o teste de ativação de monócitos (MAT).

Objetivo:

Atender ao recrutamento internacional de esforços para redução do uso de animais e refinar o controle de qualidade (CQ) na identificação de possíveis pirogênicos em produtos do portfólio do Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos). Avaliar a aplicabilidade do MAT ao CQ da vacina Meningocócica C conjugada (MenCC) como alternativa ao uso de coelhos no teste de pirogênia *in vivo* e ampliar a detecção de potenciais fontes de pirogênio não-endotoxina (NEP).

Metodologia:

Os sistemas do MAT combinaram a utilização de matrizes monocíticas (sangue total fresco e criopreservado) e a detecção de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e IL-1 β) como parâmetros de leitura. Lipopolissacarídeo (LPS), ácido lipoteicóico (LTA) e zymozan A (ZA) foram utilizados como padrões moleculares associados à pirogênia de Gram-negativas, positivas e fungos, respectivamente. Foram avaliados 3 lotes de MenCC produzidos por Bio-Manguinhos. Estes foram incubados em contato com a matriz monocítica em estufa de CO₂ a 37° C e após 16 horas foram quantificadas IL-1 β e IL-6 pelo ensaio de ELISA (R&D Systems). Em paralelo, os lotes foram analisados frente aos métodos farmacopeicos clássicos de detecção de pirogênicos, o LAL e o RPT.

Resultado:

A validação produto específica, MenCC frente ao MAT, não apresentou interferência, mostrando aplicabilidade do teste ao produto. Todas as diluições da vacina, bem como a presença do adjuvante não interferiram na detecção de IL-6 e IL-1 β , induzido pelo padrão exógeno de LPS. O sistema foi capaz de identificar NEPs (LTA e ZA) exógenos na presença de MenCC. Análises estatísticas demonstraram uma boa correlação entre os sistemas de leituras (IL -1 β e IL-6) para curvas de LPS em salina ($r=0,9918$ e $p=0,0001$) e em MenCC ($r=0,9702$ e $p=0,0028$). Os ensaios de linhas paralelas das curvas de LPS e LTA em salina *versus* MenCC demonstraram que o P-valor para o não-parallelismo não foi significativo para IL-1 β e IL-6 ($p > 0,05$). Os ensaios quantitativos demonstraram que os 3 lotes foram considerados não pirogênicos, reforçando os resultados obtidos pelos métodos clássicos RPT e LAL.

Conclusão:

O presente estudo demonstrou a susceptibilidade da MenCC à análise pelo MAT, observando uma correlação positiva com os ensaios clássicos RPT e LAL, bem como a análise diferencial e quantitativa de NEPs, potenciais alvos de contaminação na indústria. Os resultados abrem uma avenida de oportunidades, atendendo ao recrutamento internacional de esforços para redução de animais, principalmente para fins industriais, dando início a uma missão preventiva às futuras regulamentações referentes ao uso de animais no Brasil.

Palavras-chave: Teste de Ativação de Monócitos; Vacina Meningocócica C Conjugada; Métodos Alternativos¹⁹