

VAC 05 - Avaliação das condições de inativação do vírus Zika por β -Propiolactona e das metodologias do processo

Marta Cristina de Oliveira Souza^{1*}; Mariana Pierre de Barros Gomes¹; Liliane Monteiro de Moraes¹; Gisela Freitas Trindade¹; André da Silva Tavares¹; Luiz Gustavo Almeida Mendes¹; Sheila Maria Barbosa de Lima¹; Elena Caride¹; Marcia Archer da Motta¹.

¹Bio-Manguinhos / Fiocruz.

Introdução:

O Brasil esteve em estado de emergência internacional de fevereiro a novembro de 2016 em decorrência da epidemia de Zika que vem afetando o país desde 2015. A infecção pelo vírus Zika, em humanos, causa febre, exantema, dores musculares e nas articulações, mal-estar e cefaleia. Complicações desta infecção estão associadas a casos de microcefalia, síndrome de Guillain -Barré e outros distúrbios neurológicos. Atualmente, não existe vacina para evitar a doença. Neste contexto, o Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) tem direcionado esforços para o desenvolvimento de uma vacina inativada segura contra o vírus Zika e para o estabelecimento de metodologias confiáveis para análise deste processo.

Objetivo:

Testar diferentes condições de inativação do vírus Zika e avaliar a eficácia do conjunto de metodologias aplicado para confirmação da inativação.

Metodologia:

Sobrenadantes virais provenientes do cultivo de células Vero em meio livre de soro, com diferentes graus de purificação (clarificado, primeira e segunda etapas) e na presença ou não de estabilizante, foram submetidos à inativação química. As condições de inativação incluíram a concentração do agente inativante β -Propiolactona e o tempo de incubação. Amostras foram coletadas para avaliação da inativação por titulação viral, imunofocus, passagens cegas em cultura celular e PCR em tempo real. As passagens cegas foram realizadas inoculando-se o material inativado em células Vero por 3-4 dias e nesse período, observou-se a ocorrência de efeito citopático na monocamada celular. Cinco passagens cegas foram realizadas, além da quantificação do vírus zika no sobrenadante de pelo menos 3 dessas culturas por PCR em tempo real.

Resultado:

O grau de pureza do vírus e a presença do estabilizante influenciam as condições de inativação. As cinéticas de inativação realizadas utilizando material clarificado (sem estabilizante) mostraram que na menor concentração de β -Propiolactona o vírus foi inativado em 24h. Por outro lado, amostras mais puras, ou na presença do estabilizante, exigiram maior tempo de inativação ou maior concentração do agente inativante. A cinética de inativação do material com 2 etapas de purificação (com estabilizante) exigiu, além de maior concentração de β -Propiolactona, incubação de 72h para inativação. As metodologias empregadas para avaliar os resultados mostraram maior confiabilidade quando analisadas conjuntamente. Nas passagens cegas, além da ausência do efeito citopático (visual), a constatação da não replicação viral por PCR conferiu maior segurança na análise dos resultados. Além disso, a reação específica envolvendo interação antígeno/anticorpo empregada na revelação por imunofocus, mostrou maior confiança na avaliação dos resultados quando comparada à quantificação utilizando revelação tradicional com cristal violeta.

Conclusão:

Através dos testes de inativação realizados, será possível selecionar um protocolo de inativação para testes de uma futura vacina contra o vírus Zika. As metodologias selecionadas nos permitiram avaliar com segurança a eficiência do processo de inativação para os diferentes graus de pureza do vírus Zika.

Palavras-chave: Zika vírus; inativação; β -Propiolactona