

OTR9. PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE NEUTRALIZAÇÃO EM PLACA DE 96 POÇOS PARA AVALIAR A IMUNOGENICIDADE DA CAXUMBA EM VACINA COMBINADA.

Emily Hime Miranda¹; Stephanie Almeida da Silva¹; José Henrique Rezende Linhares¹; Vanessa de Oliveira Santos¹; Renata de Carvalho Pereira¹; Kátia Paulino Ribeiro de Souza¹; Sheila Maria Barbosa de Lima¹; Érika Martins de Carvalho².

¹ Biomanguiinhos;

² Farmanguiinhos.

INTRODUÇÃO A caxumba é uma doença infecto-contagiosa imunoprevenível por vacinação. A imunogenicidade vacinal é avaliada através de testes sorológicos. O Teste de Neutralização (PRNT) apresenta vantagens frente a outros testes por ser mais específico na detecção de anticorpos neutralizantes. O mesmo apresenta morosidade para a obtenção de um resultado, como também variabilidade se as etapas do processo e critérios de aceitação não estiverem definidos.

OBJETIVO O objetivo deste trabalho foi avaliar a interferência do tempo de neutralização na ligação vírus - soro; determinar o melhor ponto de corte (*cut-off*) do teste e estabelecer critérios de aceitação em relação à faixa de variação do vírus e dos soros padrões após o estabelecimento das condições analíticas.

METODOLOGIA Inicialmente, o vírus estoque foi diluído em placas de 96 poços, mimetizando o PRNT. De forma a definir um teste que proporcione melhor visualização do fenótipo de placa de lise, ou seja, que apresente qualidade na definição atrelado a diluição viral, diferentes condições analíticas foram analisadas: tipos de tampões para o controle de pH, concentração da solução semi-sólida / CMC, tempo de incubação final, tempo de neutralização, e o tempo de adsorção e sedimentação celular. Posteriormente utilizando um painel sorológico contendo 126 soros pré e pós-vacinais de crianças imunizadas com a vacina tríplice viral foi construída a curva ROC. Em seguida foram determinadas as faixas que melhor classificam os resultados dos soros testados (positivo, negativo ou indeterminado).

RESULTADOS As condições analíticas definidas foram: diluição viral para obtenção de aproximadamente 30 placas de lise/poço, bicarbonato de sódio como

tampão no meio de cultura, meio semi-sólido 1,5%, tempo de adsorção de 3 horas e tempo de incubação final de 4 dias. Com relação ao tempo de neutralização, duas horas se demonstrou mais adequada ao ensaio. A partir da construção da curva ROC foi definido um ponto de corte de 23 (recíproca da diluição). De acordo com o ponto de corte foram estabelecidas faixas interpretativas para o teste: negativo: $\leq 15 - 23$; indeterminado: $> 23 - 50$; positivo: > 50 (recíproca da diluição). Critérios de aceitação do teste foram estabelecidos para o controle viral (13 a 22) e para os soros controle (negativo: 19,26; positivo baixo: 96,11; positivo médio: 396,13; e positivo alto: 1723,31).

CONCLUSÃO Este estudo promoveu melhoria na eficiência e eficácia da técnica.

PALAVRAS-CHAVE neutralização, caxumba, padronização, anticorpos.