

V15. PADRONIZAÇÃO DAS REAÇÕES DE PCR EM TEMPO REAL E MICROARRANJO LÍQUIDO PARA DETERMINAÇÃO DO TÍTULO DA VACINA TRÍPLICE VIRAL.

Jéssica Malheiros¹; Gisela de Freitas Trindade¹; Denise de Souza Matos¹; Sheila Maria Barbosa de Lima¹.

¹ Bio-Manguinhos / Fiocruz.

INTRODUÇÃO A vacina tríplice viral é responsável pela prevenção contra Sarampo, Caxumba e Rubéola. Consiste de uma formulação de vírus vivos atenuados e veiculados em um meio estéril. Para o sarampo são utilizadas as cepas Schwarz, Moraten e Edmonston Zagreb. As cepas de caxumba são Jeryl Lynn, L-3 Zagreb e Urabe AM9 e para a Rubéola, é utilizada a cepa Wistar RA27/3. Sua eficácia é resultado da apresentação de antígenos de mais de um agente infeccioso com apenas uma aplicação. Os componentes são altamente imunogênicos, conferindo imunidade duradoura. A vacina age estimulando o organismo a produzir sua própria proteção (anticorpos) contra as três doenças com soroconversão de aproximadamente 95%. A síndrome causada por esses vírus foi significativamente diminuída devido à implementação de programas de imunização, como o Programa Nacional de Imunização no qual a vacina é utilizada amplamente desde 2003. Atualmente, a determinação da potência da vacina é realizada por ensaios de unidades formadoras de placa (UFP), que medem a quantidade de partículas infecciosas individualmente para cada componente da vacina. Esses testes convencionais dependem da observação do efeito citopático, ou seja, lise celular provocada pela infecção viral. Embora este método seja considerado o padrão ouro para titulação viral, é laborioso e demanda alguns dias para ser realizado.

OBJETIVO Este projeto, visa a implementação das metodologias de microarranjo líquido e qPCR como metodologias alternativas para determinação da carga viral dos vírus que compõem a vacina tríplice viral.

METODOLOGIA A primeira metodologia consiste no revestimento de microesferas com anticorpos neutralizantes específicos utilizando uma solução de acoplamento, que se ligarão aos vírus alvos e a detecção final será feita através da ligação de anticorpo específico, seguido de um terceiro anticorpo anti IgG (idiotipo) marcado com fluorocromo estreptavidina-ficoeritrina (PE). A metodologia de qPCR determina

a carga viral através da quantificação do genoma utilizando curva padrão sintética em poucas horas. Estas duas técnicas têm como vantagem a obtenção mais rápida do resultado, permitindo o processamento de maior número de amostras, e a especificidade que é dada pela sequencias gênicas usadas na amplificação da amostra alvo.

RESULTADOS Como parte dos resultados deste projeto, temos a implantação desta metodologia molecular e otimização das condições de reação para os três vírus. Faremos ainda cinéticas de crescimento viral em cultura celular e monitoramento do título pelas metodologias propostas neste trabalho.

CONCLUSÃO Desta forma, pretendemos contribuir com outras metodologias mais simples e robustas para o controle de qualidade e verificação da potência da vacina tríplice viral produzida por Bio-Manguinhos.

PALAVRAS-CHAVE tríplice viral, qPCR, microarranjo líquido.