

Título: Definição do processo de produção do lote semente do vírus quimérico febre amarela/dengue 2, componente de uma vacina candidata tetravalente recombinante contra dengue

Autor: Maria Carolina de Sousa Martins

RESUMO

A dengue é uma doença febril aguda causada pela infecção com qualquer um dos sorotipos do DENV, sendo considerada uma das mais importantes arboviroses, em termos de morbidade e mortalidade, que afeta o homem. Atualmente, não existe vacina ou droga antiviral contra o DENV liberada para a comercialização, porém algumas vacinas encontram-se em desenvolvimento. Este trabalho teve como objetivo descrever um processo de produção de lote semente do vírus FA/D2 vacinal em células Vero em meio de cultivo livre de soro fetal bovino. O vírus FA/D2 é um componente da vacina tetravalente recombinante contra a dengue em desenvolvimento em Bio-Manguinhos. Foi estabelecido o fluxograma de produção do lote pré semente, semente e algumas etapas do fluxo de produção, onde analisamos metodologias que melhor se adaptassem à produção do vírus em questão. As metodologias estudadas foram: Clarificação do sobrenadante viral por filtração e centrifugação, estabilização viral com sorbitol, transfecção de RNA viral com lipídeo catiônico para recuperação viral, redução do DNA celular residual e concentração de viral por filtração tangencial. Podemos concluir que dentre as metodologias estudadas o processo de produção do lote semente viral inicia-se com clarificação por filtração, estabilização do sobrenadante viral com sorbitol 8%, recuperação viral a partir do RNA por transfecção com lipofectamina na condição de 15 µg/ml de RNA viral e 20 µl de lipofectamina em 1 ml de PBS. Para a redução do DNA celular residual, tanto a Benzonase quanto o Sulfato de Protamina demonstraram ser eficazes. A concentração viral de 5 e 10 X, por filtração tangencial em filtro 100 kDa, demonstrou o resultado esperado. Os resultados propostos para o vírus FA/D2, podem ser reproduzidos para os demais sorotipos ou até mesmo na produção de outras vacinas virais, cultivadas em célula Vero.