

Estabelecimento de um protocolo visando o isolamento do vírus da caxumba (cepa Jeryl Lynn) para produção de uma vacina em Biomanguinhos

Anna Maya Yoshida Yamamura

RESUMO

A caxumba é uma doença infecciosa da infância que pode acometer adultos, cujas complicações como meningite e orquite são muito comuns. Várias cepas do vírus da caxumba foram utilizadas para produção de vacinas atenuadas sendo que a cepa Jeryl Lynn mostrou-se segura e eficaz. Com o objetivo de produzir um lote semente para uma vacina atenuada, estabelecemos um protocolo para o isolamento desta cepa a partir de uma vacina tríplice viral comercial. Utilizando a vacina MMRII (Merck), inoculamos a CEF e ovos embrionados e pelas técnicas de diluição limitante e seleção de placas de lise isolamos 39 amostras virais provenientes da CEF que foram analisadas para título de infecciosidade e por *nested* RT-PCR. Destes isolados, cinco amostras foram positivas somente para caxumba, onde quatro destas amostras apresentaram título viral que variou de 4,0 a 6,04 logPFU/mL. Selecionamos também uma amostra a partir de ovo embrionado denominada ECE5A-2, positiva apenas para caxumba por RT-PCR, com título de infecciosidade de 5,72 logPFU/mL. As cinco amostras provenientes da CEF sofreram ainda mais cinco passagens em CEF com o intuito de revelar qualquer possível contaminante de sarampo ou rubéola. Todas as 25 amostras apresentaram resultados negativos para os contaminantes, apresentando títulos de infecciosidade entre 4,69 a 6,75 logPFU/mL. Todos os isolados de caxumba e as respectivas passagens P1 e P5 foram tipadas por RFLP demonstrando identidade entre si e com a cepa JL-5. A amostra ECE5A-2, isolada em ovo, era idêntica à cepa JL-2. O gene F, SH, espaço intergênico e o gene HN de todas as amostras foram seqüenciados e o resultado demonstrou que as amostras isoladas em CEF possuíam 100% de identidade com a cepa JL-5. A amostra ECE5A-2 possuía 99% de identidade com a cepa JL-2, apresentando algumas mutações selecionadas durante o processo de passagem em ovos embrionados. Com o procedimento apresentado neste trabalho poderemos isolar o vírus da caxumba, incluindo os dois componentes da vacina MMR II (JL-2 e JL-5), em área validada para Boas Práticas de Fabricação com o objetivo de produção de um futuro lote semente vacinal nesta instituição.