

VALIDAÇÃO DO TESTE IMUNOENZIMÁTICO “ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY” PARA DETECÇÃO DE OVALBUMINA RESIDUAL NA VACINA CONTRA FEBRE AMARELA PRODUZIDA EM BIO-MANGUINHOS/ FIOCRUZ

¹Vilarinho, A.C.R.A.; ¹Cruz, J.S.; ¹Santos, J.P.S.; ¹Brum, R.C.S.; ²Guimarães, R.C.; ¹Ferreira, F.C.; ¹Hokama, D.A.; ³Oliveira, L.C.M. & ⁴Teixeira, M.G.M.

¹Laboratório de Controle Microbiológico, ²Laboratório de Metrologia e Validação, Vice-Diretoria de Qualidade, Bio-Manguinhos, ³Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, IOC, ⁴Laboratório de Tecnologia Recombinante, Vice-Diretoria de Desenvolvimento Tecnológico, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil - alferes@bio.fiocruz.br

A vacina contra febre amarela (VFA), é produzida a partir de uma cepa atenuada de vírus vivo da Febre Amarela, designada 17DD, cultivada em ovos embrionados de galinha livres de agentes patogênicos (SPF), produzida de acordo com as normas estabelecidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Embora seja uma vacina segura e eficaz que confere proteção imunológica por dez anos e que vem sendo utilizada nos programas de vacinação por mais de 60 anos, é cada vez mais rigorosa a avaliação de possíveis reações adversas à vacina. Neste cenário, o controle de qualidade exerce um papel de suma importância na avaliação dos lotes de vacina com a qualidade assegurada. Uma parcela significativa da população apresenta sensibilidade à albumina do ovo (ovalbumina) com forte reação alérgica, constituindo desta forma a realização do teste de detecção de ovalbumina residual uma etapa indispensável e requerida no controle de qualidade da VFA. A especificação recomendada é de no máximo 5µg de ovalbumina por dose humana (5µg/DH) para aceitação como impureza em VFA. Este trabalho demonstrou a validação do teste de ovalbumina residual no controle de qualidade da VFA, sendo escolhido o método imunoenzimático “enzyme linked immunosorbent assay” (ELISA), devido a sua alta sensibilidade e especificidade. A validação analítica foi realizada com três lotes de vacina avaliando os seguintes fatores: linearidade (média de três curvas: $M = 0,985$); exatidão (onde se pode determinar o limite de detecção de 0,05µg/mL); teste de repetitividade do método; reprodutibilidade intra-laboratorial (precisão intermediária) e especificidade. Em

todos os fatores observados, foram analisados a média, o desvio padrão, intervalo de confiança e a equivalência entre diferentes analistas. A detecção de ovalbumina em VFA foi confirmada com os ensaios de validação em concentrações abaixo de 5µg/DH, correspondendo aos requerimentos da Farmacopéia Européia, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Organização Mundial de Saúde (OMS). Desta forma, foi confirmada a aplicabilidade do teste de ELISA para VFA como técnica para detecção analítica na quantificação residual de ovalbumina e a precisão obtida nos ensaios de controle de qualidade. O presente ensaio de controle de qualidade constitui uma etapa fundamental para garantir níveis aceitáveis de ovalbumina presente na vacina VFA fornecida por Bio-Manguinhos/Fiocruz ao Programa Nacional de Imunizações do Ministério da Saúde.