
Avaliação do uso de anticorpos policlonais e monoclonais e polímeros no diagnóstico imuno-histoquímico de casos de dengue

Joyce Cândido FERREIRA*, Cristina Takami KANAMURA, Gislene Mitsue NAMIYAMA, Getúlio Thiago dos Santos RAMOS*, Roosecelis Araujo BRASIL

Núcleo de Anatomia Patológica – Centro de Patologia – Instituto Adolfo Lutz

**Programa de Aprimoramento Profissional (PAP/SES/FUNDAP)*

ADengue é uma doença infecciosa de transmissão vetorial de grande impacto em termos de morbidade e mortalidade¹. Devido à expansão dos diferentes sorotipos do vírus na população mundial nos últimos anos, a ocorrência de óbitos tem aumentado significativamente². Por isso, o diagnóstico de Dengue nos casos fatais encontra importante fundamentação principalmente em resposta à vigilância epidemiológica, atuando na vigilância laboratorial desses casos. A confirmação diagnóstica de Dengue pode ser realizada através da detecção de anticorpos por ensaios sorológicos ou por detecção de moléculas virais específicas com uso de técnicas moleculares como Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), Isolamento Viral, pesquisa de NS1 e imuno-histoquímica (IHQ)³. A IHQ é uma técnica molecular baseada na identificação de antígenos presentes em amostras de tecidos fixadas e incluídas em parafina. Sumariamente, consiste no uso de anticorpos específicos para o antígeno, seguido de um sistema que amplifica a sensibilidade da ligação antígeno-anticorpo⁴. A IHQ tem sido amplamente utilizada no diagnóstico de casos fatais de origem

infecciosa, pois, muitas vezes, amostras destinadas a outras metodologias podem estar indisponíveis. A padronização da IHQ e o desenvolvimento de reagentes que elevem sua sensibilidade motivam diversos estudos visando a minimizar o número de óbitos de etiologia infecciosa desconhecida⁵.

Este trabalho teve como objetivo, avaliar o uso de anticorpos policlonais e monoclonais para o diagnóstico imuno-histoquímico aliado ao uso de sistema de amplificação de última geração, os polímeros.

Foram selecionados 45 casos com diagnóstico de Dengue, confirmados por pelo menos duas metodologias, que foram encaminhados ao núcleo de Anatomia Patológica do Centro de Patologia do Instituto Adolfo Lutz. Todas as amostras foram submetidas a revisão histopatológica e ao ensaio imuno-histoquímico com uso de anticorpo policlonal aliado ao sistema de amplificação com polímeros. Posteriormente, foi realizada a padronização do anticorpo monoclonal e foram utilizadas apenas amostras em que foram anteriormente identificado o sorotipo viral pela técnica de PCR, totalizando 9 amostras.

O anticorpo policlonal demonstrou boa sensibilidade e especificidade de antígenos de Dengue associados a polímeros, identificando 71,1% dos casos. O uso de anticorpos monoclonais específicos para cada um dos sorotipos de Dengue (Dengue-1, Dengue-2 e Dengue-3) possibilitou a identificação do sorotipo viral em 33,3% das amostras.

Concluiu-se que a IHQ é importante ferramenta diagnóstica para elucidação de casos de Dengue, podendo ser usada sobretudo em casos de óbito que contenham apenas amostras de tecido incluídas em parafina. Seu uso encontra maior aplicabilidade com anticorpos policlonais, não havendo ainda anticorpos monoclonais que apresentem alta sensibilidade para determinação dos diferentes sorotipos em tecidos. Ressalta-se ainda que o uso do sistema de amplificação com polímeros elevou a qualidade da reação diminuindo a coloração inespecífica, superando, inclusive,

a perda da antigenicidade tecidual causada pelo possível mau processamento das amostras na fase pré-analítica.

REFERÊNCIAS

1. Gusmán MG, Kourí G. Dengue: an update. *Lancet Infectious Diseases*. 2002;2:33-42.
2. Chaturvedi UC, Nagra R. Dengue and dengue haemorrhagic fever: Indian perspective. *Journal of Biosciences*. 2008;33(4):429-41.
3. Gubler DG. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clinical Microbiology Reviews*. 1998;11(3):480-96.
4. Taylor CR, Shi SR, Barr NJ. Techniques of Immunohistochemistry: Principles, Pitfalls, and Standardization. In: Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications*. 3. ed. Filadélfia: Saunders Elsevier, 2010. p. 1-41.
5. Ezyguirre EJ, Walker DH, Zaki SR. Immunohistology of Infectious Diseases. In: Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications*. 3. ed. Filadélfia: Saunders Elsevier. 2010. p. 58-74.