



XI Encontro do Instituto Adolfo Lutz

Desafios do Laboratório de Saúde Pública: conhecer, monitorar e responder









04 a 07 de novembro de 2024

São Paulo/SP

e40821

• Biologia Médica

Produção de anticorpo policlonal direcionado para o peptídeo DENV2-NS1 do vírus da Dengue e padronização pela técnica imuno-histoquímica

Regina Maria Catarino^{1*} , Jerenice Esdras Ferreira¹ , Amaro Nunes Duarte-Neto² , Cinthya dos Santos Cirqueira Borges² ,
Marcela Oliveira de Toledo² , Carlos Roberto Prudêncio³ , José Eduardo Raeffray Barbosa⁴ , Raimunda Telma de Macedo Santos¹ 

¹ Núcleo de Hematologia e Bioquímica, Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

² Núcleo de Anatomia Patológica, Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

³ Laboratório de Imunotecnologia, Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Núcleo de Biotério, Centro de Procedimentos Interdisciplinares, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

*Autor de correspondência: regina.catarino@ial.sp.gov.br

Coordenadora da Comissão Científica: Adriana Pardini Vicentini

A dengue é uma doença causada pelo vírus Dengue (DENV), o qual é transmitido pela picada do mosquito *Aedes aegypti* e são conhecidos quatro sorotipos – DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. A proteína recombinante não estrutural 1 (NS1) do DENV é reconhecida como um bom marcador de infecção, podendo contribuir para o desenvolvimento de ferramentas diagnósticas contra a proteína NS1 para mapear epítomos específicos. Nosso objetivo foi produzir, purificar e padronizar o anticorpo policlonal (pAb) direcionado às proteínas de NS1. O antígeno sintetizado quimicamente “peptídeo ELHNQTFLLIDGPETAEC” do DENV2-NS1, na concentração 5 mg/mL, foi associado com adjuvante completo de Freud na primeira imunização, e com incompleto na segunda e terceira imunizações. Foi inoculado via intramuscular em coelhos (Nova Zelândia) com intervalos de 21 dias. O soro imune foi precipitado com sulfato de amônio e dialisado por 24 horas em solução salina tamponada (PBS) pH 7,0 seguido da dosagem proteica pelo método de Biureto (0,8 mg/dL). A padronização do pAb foi feita por imuno-histoquímica (IHQ) em cortes histológicos de 3 micrômetros em fragmentos de tecidos e blocos celulares infectados com DENV. A recuperação antigênica foi realizada a vapor pH 6,0, seguida da aplicação do anticorpo primário purificado nas diluições de 1/1000, 1/2000, 1/5000 e 1/10000. Os controles negativos foram realizados nas mesmas amostras utilizando soro de coelho não imune. Na amplificação da reação utilizou-se sistema de polímeros conjugado com anticorpo secundário e fosfatase alcalina, seguido de revelação com cromógeno e posterior análise das lâminas em microscópio óptico. A imunorreatividade foi detectada no citoplasma das células infectadas por DENV com melhor resultado na diluição 1/5000, confirmando a coloração da reação nos controles positivos e ausência de coloração nos controles negativos. Concluímos que a produção do anticorpo policlonal foi eficaz para detectar a presença do DENV utilizado na padronização da técnica de imuno-histoquímica.

Palavras-chave. Vírus da Dengue, Anticorpo, Imuno-Histoquímica.

Comitê de Ética: Comitê de Ética no Uso de Animais/IAL, Parecer nº 05/2023.