



## 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

e40818

• Biologia Médica

# Desenvolvimento de anticorpo policlonal direcionado para a proteína recombinante NS1 do vírus Zika e padronização pela técnica imuno-histoquímica

Regina Maria Catarino<sup>1\*</sup> , Carlos Roberto Prudêncio<sup>3</sup> , Karen Miguita<sup>1</sup> , Eliane Margareth Pimenta Carneiro<sup>1</sup> ,  
Cristina Takami Kanamura<sup>2</sup> , Amaro Nunes Duarte-Neto<sup>2</sup> , José Eduardo de Raeffray Barbosa<sup>4</sup> , Jerenice Esdras Ferreira<sup>1</sup> 

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

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

<sup>3</sup> Laboratório de Imunotecnologia, Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>4</sup> 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

O vírus Zika (ZikV) é um flavivírus emergente transmitido por artrópodes causando grande preocupação quando a infecção ocorre durante a gravidez, afetando os recém-nascidos com doenças neurológicas ou perda fetal. A proteína recombinante não estrutural 1 (NS1) do ZikV, por ter alta imunogenicidade, é utilizada para o desenvolvimento de imunobiológicos como ferramenta de diagnóstico. Nosso objetivo foi produzir, purificar e padronizar o anticorpo policlonal direcionado às proteínas de NS1 do ZikV por imuno-histoquímica (IHQ). A proteína NS1 clonada em vetor (3 mg/mL) foi associada aos adjuvantes completo e incompleto de Freud e inoculada via intramuscular em coelhos (New Zealand), com 3 (três) imunizações em intervalos de 21 dias. O soro imune foi precipitado 40% com sulfato de amônio saturado, procedendo a diálise por 24 horas em solução salina tamponada (PBS) em pH 7,0 seguida por dosagem proteica pelo método de Biureto (1,4 mg/dL). A padronização foi feita pela técnica IHQ em controles positivos de blocos celulares infectados com ZikV, fixados em formol, embebidos em parafina e posterior cortes de 3 micrômetros. A recuperação antigênica foi realizada em sob pressão em pH neutro, a seguir aplicado o anticorpo primário específico purificado nas diluições 1/1000, 1/2000, 1/5000 e 1/10000. Os controles negativos foram realizados nas mesmas amostras utilizando o soro de coelho não imune e PBS pH 7,4. No procedimento de amplificação da reação, utilizou-se o sistema de polímeros conjugado com anticorpo secundário e fosfatase alcalina, revelação com o cromógeno, e posterior análise das lâminas em microscópio óptico. A imunoreatividade foi detectada no citoplasma das células infectadas por ZikV com melhor resultado na diluição 1/10000, confirmando a coloração da reação nos controles positivos e ausência de coloração nos controles negativos. Concluímos que o anticorpo policlonal desenvolvido demonstrou ser eficaz e excelente ferramenta para o diagnóstico imuno-histoquímico na detecção da infecção pelo ZikV.

**Palavras-chave.** Vírus Zika, Anticorpo, Imuno-Histoquímica.

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