

Título: Adequação da plataforma de teste rápido para o diagnóstico da febre amarela

Autor: Diana Praia Borges Freire

RESUMO

A Febre Amarela (FA) é uma doença viral infecciosa não contagiosa transmitida através da picada do mosquito infectante ao homem. O vírus da FA pertence ao gênero *Flavivirus* e dentre as suas três proteínas estruturais (C, M e E) a proteína de envelope (E) é considerada o antígeno estrutural mais importante do vírus. Técnicas para diagnóstico da FA com métodos rápidos e precisos são cruciais para a correta identificação, prevenção, controle e notificação dessa infecção. Nesta dissertação foi realizada a adequação de insumos para o método de imunocromatografia de fluxo lateral como um diagnóstico rápido, simples e econômico para a FA. Os testes foram realizados através do sistema 1 para a detecção de anticorpo IgG contra o vírus utilizando a proteína E como antígeno e o sistema 2 para a detecção de antígeno viral utilizando o anticorpo monoclonal anti proteína E YF17D2D12 (mAb anti-E). A proteína E foi expressa em *E.coli* e purificada por cromatografia de afinidade (IMAC). Os pontos isoelétricos (pI) e a homogeneidade das proteínas E e mAb anti-E foram avaliados por focalização isoelétrica e SDS-PAGE, respectivamente. A proteína E foi reconhecida no MACELISA para a detecção de anticorpo IgM em soro humano e não apresentou reação cruzada com vírus Dengue. Para adequar o modelo de teste rápido ao diagnóstico da FA, foram testadas variáveis como: diferentes tipos de membranas de nitrocelulose, variações de concentração da proteína E, mAb anti-E e do conjugado e formulações de solução tampão de corrida distintas. Para avaliar o sistema 1, foram utilizadas amostras séricas positivas de indivíduos vacinados com 17DD, negativas de não vacinados e como controle positivo o mAb anti-E. Após vários testes, os insumos selecionados para o sistema 1 apresentaram 78,5% de sensibilidade e 100 % de especificidade. Para o sistema 2, foram utilizadas como amostra a partícula viral 17 DD inativada e os testes foram realizados com os seguintes insumos: membrana de nitrocelulose com mAb Anti-E na linha teste e proteína A na linha controle, porém não foi possível a escolha do conjugado e formulações de solução tampão de corrida devido a baixa sensibilidade do teste. Esse trabalho é importante para que novos estudos na plataforma de teste rápido sejam realizados e assim possibilitar o desenvolvimento de um reativo para o diagnóstico rápido, seguro e preciso para a FA.