

# **Monitoramento dos vírus dengue 1, 2 e 3, para obtenção dos antígenos utilizados no kit EIE IgM dengue/Bio-Manguinhos**

**Maria Célia Chaves Zuma**

## **RESUMO**

A infecção pelo vírus da Dengue é um problema de saúde pública mundial, com epidemias recorrentes em regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África e nas Américas. Estima-se que, no mundo, ocorram em torno de 100 milhões de casos de febre de dengue e 250.000 casos de febre hemorrágica de dengue, provocando a morte de cerca de 20.000 pessoas anualmente. No Brasil, onde os sorotipos 1, 2 e 3 foram introduzidos em 1986, 1990 e 2001, respectivamente, existe uma tendência do aumento da incidência dos casos, verificada nos dois últimos anos. Um diagnóstico preciso é importante para a vigilância epidemiológica da doença, permitindo que focos de transmissão possam ser detectados precocemente. Bio-Manguinhos produz e distribui para rede pública de saúde o kit EIE IgM Dengue desde 1999. Os antígenos integrantes do kit são obtidos a partir de cérebro de camundongos neonatos, inoculados com vírus dengue tipo 1, 2 e 3. Neste estudo temos como objetivo o estabelecimento de técnicas clássicas e moleculares para a caracterização e quantificação das cepas virais utilizadas na produção do kit, a fim de contribuímos para o seu controle de qualidade. Comparamos as técnicas de titulação viral por formação de placa de lise, por imunofocus e RT-PCR em tempo real. Estabelecemos um protocolo de imunofocus com o qual conseguimos a titulação do vírus dengue 1 utilizado como inóculo ( $5,3 \log_{10}$  FFU/ml) onde os resultados foram comparáveis aos obtidos pela técnica de RT-PCR em tempo real ( $5,6 \log_{10}$  PFU/ml). O vírus dengue 2 inóculo foi capaz de formar placas de lise em células vero, mas os resultados da titulação ( $4 \log_{10}$  PFU/ml) não foram comparáveis ao do RT-PCR em tempo real ( $6,06 \log_{10}$  PFU/ml). Sendo assim, o protocolo de imunofocus deve ser estabelecido para os sorotipos 2 e 3. A técnica de RT-PCR em tempo real se mostrou eficaz na quantificação dos vírus inóculo e dos vírus de trabalho. Este último, extraído e precipitado com acetona para a produção do kit. Não foi possível estabelecer uma correlação entre os títulos do ELISA direto obtidos com os vírus de trabalho e os resultados do RT-PCR em tempo real. A caracterização molecular dos vírus, comprovou a identidade original dos mesmos e demonstrou o acúmulo de trocas de aminoácidos em relação à seqüência original, provavelmente decorrente das passagens em cérebro de camundongo.