

REA 03 - Nanosensor para testes diagnósticos *point-of-care* empregando *quantum dots* de CdTe funcionalizados com epitopos sintéticos para dengue

Isis Campos Prado^{1*}; Salvatore Giovanni De Simone²; Célia Machado Ronconi³; Ricardo Jorgensen Cassella³.

1 CDTS / FIOCRUZ; Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Inovação em Doenças Negligenciadas (INCT-IDN);

2 CDTS / FIOCRUZ; Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Inovação em Doenças Negligenciadas (INCT-IDN); UFF, Instituto de Biologia, Departamento de biologia celular e molecular;

3 UFF, Instituto de Química.

Introdução:

Quantum Dots (QDs), são monocristais semicondutores que variam de 1 a 15 nm. A partir do processo de foto-excitação dos QDs, pares elétron-buraco são gerados e sua recombinação provoca a emissão de luz. Em aplicações fluorescentes, a frequência da emissão da luz aumenta com a redução do tamanho dos quantum dots. Ligantes como íons ou moléculas podem ser acoplados à superfície dos QDs como aceitadores de elétrons, influenciando no processo de recombinação eletrônica e permitindo, assim, a utilização desse nanomaterial como sensor fluorescente. A busca por métodos práticos, seguros e econômicos na área de diagnóstico clínico, impõe-se novos desafios no desenvolvimento de plataforma sensoras tipo “point-of-care”, não para sistemas enzimáticos, mas voltadas para imunodiagnóstico direto.

Objetivo:

O presente trabalho consistiu na construção de um nanodispositivo, a partir da síntese dos QDs de CdTe conjugados a peptídeos sintéticos - epitopos, utilizados como elementos receptores na captura de anticorpos circulantes no soro humano para pacientes positivos ao vírus da dengue.

Metodologia:

Os QDs de CdTe funcionalizados com os peptídeos foram preparados empregando uma metodologia one-pot. A propriedade de detecção dos QDs de CdTe-PepDENV para diagnóstico point-of-care de dengue foi testada a partir da supressão na intensidade da

emissão fluorescente. Foram avaliados os efeitos do pH e do tempo de interação entre os QDs-CdTe-PepDENV e os anticorpos circulantes no soro humano. O estudo do pH, foi realizado no intervalo de 2 a 10, utilizando os tampões Britton-Robinson e fosfato salino. Os QDs sintetizados neste trabalho foram aplicados para a avaliação da resposta anti-dengue a epitopos antigênicos; soros de 40 pacientes foram testados, de acordo com a prévia caracterização sorológica provenientes da soroteca do laboratório de *Flavivírus* / FIOCRUZ, obtidos no período de 1996 a 2014 de diferentes centros de saúde de todo o país.

Resultado:

As suspensões dos QDs-CdTe-PepDENV exibiram máximos de emissão variando de 410 a 610 nm, conforme a variação do tempo de reação de 5 a 70 minutos. Uma sensibilidade mais elevada foi observada com os QDs preparados em 70 minutos de reação ($\lambda_{exc} = 293$ nm e $\lambda_{em} = 410$ nm). A presença de anticorpos específicos para a dengue presentes no soro humano causou uma supressão na intensidade da emissão fluorescente, seguindo uma estratégia quenching tipo FRET, o acoplamento dipolo-dipolo entre o QDs-CdTe-PepDENV e os anticorpos presentes no soro foi responsável pela supressão da fluorescência. Uma sensibilidade mais alta foi observada na ausência do tampão. O tempo de interação entre os QDs-CdTe-PepDENV e os anticorpos presentes no soro humano variou de acordo as condições da síntese.

Conclusão:

Os resultados foram bastante promissores, demonstrando que este nanomaterial pode ser aplicado com sucesso em testes diagnósticos rápidos para dengue, apenas pela adição de uma pequena quantidade de soro humano ao QD.

Palavras-chave: Diagnóstico Dengue; *Quantum Dots*; Epitopos