

## REA.12 - Desenvolvimento de teste rápido para diagnóstico *point-of-care* de hepatite A

Luciane Almeida Amado Leon<sup>1\*</sup>; Gabriel Menezes Costa dos Santos<sup>1</sup>; Vinícius da Motta de Mello<sup>1</sup>; Michel Vergne Sucupira<sup>2</sup>; Edmilson Da Silva<sup>2</sup>; Antonio G P Ferreira<sup>2</sup>; Vanessa S de Paula<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Fiocruz - Fundação Oswaldo Cruz;  
<sup>2</sup>Fiocruz/Bio-Manguinhos.

### Introdução:

Mudanças na epidemiologia da hepatite A vêm ocorrendo em diversos países do mundo. No Brasil, a incidência da hepatite A passou de 11,7 em 2005, para 0,6 casos por 100 mil habitantes em 2016. A redução da exposição ao vírus da hepatite A (HAV) durante a infância tem como consequências o aumento das ocorrências de surtos epidêmicos e o deslocamento da faixa etária infectada pelo HAV para indivíduos adultos, quando a morbidade e letalidade da doença são maiores. Outro aspecto relevante é a recente inclusão da vacina contra HAV na rede pública de saúde apenas para crianças de 15 meses a 5 anos, e, portanto, uma grande parcela da população ainda permanece suscetível à esta infecção. No Brasil, o aumento de indivíduos suscetíveis, aliado à circulação do vírus no ambiente, potencializa a ocorrência de surtos epidêmicos. Diante deste cenário, o emprego de testes rápidos representa uma poderosa ferramenta para o diagnóstico rápido de hepatite A aguda, inclusive em regiões de difícil acesso onde os diagnósticos laboratoriais e dados epidemiológicos são escassos, contribuindo assim para a prevenção e controle desta infecção em toda a extensão territorial do país

### Objetivo:

Desenvolver um teste rápido (TR) baseado em imunocromatografia de fluxo lateral para detecção de anticorpos anti-HAV IgM e IgG em amostras de soro.

### Metodologia:

A proteína VP1-2A do HAV foi sintetizada por clonagem e expressão em sistema bacteriano, purificada e concentrada por técnicas cromatográficas. A mesma foi dosada por fluorimetria, caracterizada por SDS-Page e avaliada sua especificidade por *Western blotting*. Protótipos de testes rápidos utilizando a

proteína VP1-2A recombinante foram desenvolvidos pelo LATED/ Bio-Manguinhos e padronizados através de um painel de amostras de Controle de Qualidade Interno (CQI) considerando-se diferentes parâmetros: concentração e volume de proteína (5,0 e 10,0uL) e formulação de tampões de corrida. Também foram avaliados diferentes tempos de leitura dos resultados: 10, 15 e 20 minutos.

### Resultado:

Após a purificação, a proteína VP1-2A foi obtida com uma concentração de 1.26mg/mL. Através da técnica de SDS-Page foi possível caracterizar a proteína pelo seu peso esperado (51kDa). Por *Western Blotting* a especificidade da proteína VP1 foi confirmada pela capacidade de detectar amostras reativas e não-reativas para anti-HAV IgG. Na avaliação preliminar do desempenho do teste rápido, utilizando um painel de amostras de soro anti-HAV positivas (n=14) e anti-HAV negativas (n=22), o teste apresentou uma boa sensibilidade (86%), utilizando 10uL de proteína em uma concentração de 1.0mg/mL e realizando a leitura do resultado após 10 minutos. Entretanto, foram obtidos resultados falso-positivos.

### Conclusão:

Estes resultados indicam que o teste rápido apresenta uma potencial aplicação para o diagnóstico de hepatite A entretanto, ainda precisa de aprimoramento

**Palavras-chave:** hepatite A; Diagnóstico; teste rápido