

## **REA 16 - Epitoma do vírus Mayaro e aplicação em novos métodos diagnósticos**

Paloma Napoleão Pêgo<sup>1\*</sup>; Patrícia Fernandes Ferreira<sup>1</sup>; André Luis Almeida Souza<sup>2</sup>; Flávia Coelho Garcia dos Reis<sup>1</sup>; David William Provance-Jr<sup>1</sup>; Salvatore Giovanni De Simone<sup>1</sup>.

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

2 IOC / FIOCRUZ, Laboratório de Bioquímica Experimental e Computacional de Fármacos.

### **Introdução:**

O vírus Mayaro (MAYV) é um vírus de circulação enzoonótica, pertencente ao gênero *Alphavirus*, do grupo das arboviroses. O ciclo biológico envolve o mosquito *Haemagogus janthinomys* e outros animais como reservatórios. A recente detecção de surtos do MAYV associado a surtos recentes de novos e antigos arbovirus no Brasil resultou em um enorme esforço para acelerar o desenvolvimento de métodos de diagnóstico e vacinas. Além disso, a potencial disseminação do vírus pelo envolvimento do *Aedes aegypti* têm sido demonstrado experimentalmente. A infecção pelo MAYV está associada a um quadro clínico debilitante caracterizado por febre, cefaléia, diarreia, vômito, mialgia, erupção cutânea e artralgia. Os sintomas são semelhantes aos da febre amarela, dengue e chikungunya, fazendo com que casos de infecção Mayaro sejam erroneamente diagnosticados. Como o teste para o diagnóstico de MAYV ainda apresenta uma série de dificuldades metodológicas e de especificidade, faz-se necessário o desenvolvimento de um teste rápido e específico para discriminar esta doença de forma eficaz.

### **Objetivo:**

Caracterizar epitopos B lineares do MAYV indutores de resposta imune e aplicação no desenvolvimento de testes diagnósticos específicos para infecção aguda e crônica.

### **Metodologia:**

As sequências completas de todas as proteínas estruturais e não-estruturais do MAYV circulante no Brasil foram obtidas em banco de dados UNIPROT. O mapeamento de epitopos foi realizado utilizando-se a metodologia do ponto concêntrico Spot-synthesis e soro de pacientes infectados por MAYV, e revelados com anticorpos anti-IgM e anti-IgG

humanos conjugados com fosfatase alcalina. Quatro epitopos reconhecidos apenas por IgM e quatro somente por IgG foram selecionados por suas especificidades e reatividades com soro de pacientes. Dois genes codificando peptídeos IgM (Rx-MAYVM) e IgG (Rx-MAYVG), respectivamente, foram construídos sob a forma de proteínas recombinantes (em processo de patente), sintetizados e expressos em larga escala em sistema de *E.coli*. Os epitopos selecionados também foram sintetizados quimicamente sob a forma de peptídeo simples ou multimérico (MAP-8). A reatividade foi avaliada por western-blot e ELISA.

### **Resultado:**

O mapeamento imunológico resultou na identificação de painéis de epitopos, um específico para o reconhecimento de IgM, outro para IgG e sequências carreando epitopos reconhecidos por IgM e IgG. A análise por ELISA dos insumos produzidos indicou que os recombinantes Rx\_MAYVM e Rx\_MAYVG apresentaram melhor desempenho do que os MAPs e estes maior do que os peptídeos simples. Nenhuma reação cruzada foi detectada frente a um painel de soros de pacientes com Chikungunhya, Oropouche, Dengue, Febre Amarela e Zika. A sensibilidade e especificidade maior do que 98% pela curva ROC.

### **Conclusão:**

Neste estudo descrevemos a identificação, clonagem, expressão e análise imunológica de duas proteínas recombinantes (para epitopos IgM e IgG) do vírus Mayaro, que possuem excelentes possibilidades de serem empregadas no desenvolvimento de testes sorológicos específicos para o diagnóstico da febre Mayaro.

**Palavras-chave: Mayaro vírus; Epitopo B linear; Spot-synthesis**