

REA.04 - Avaliação de proteínas recombinantes para uso no diagnóstico da hepatite C

Christiane Teixeira Pinto^{1*}; Cristina Shaik de Oliveira¹; Felipe Rodrigues Semcovici Ramos¹; Keila Gisele Azevedo Figueiredo dos Santos¹; Edimilson Domingos da Silva¹; Aline Rodrigues Bernardo¹; Nara Mazarakis Rubim¹.

¹Fiocruz/Bio-Manguinhos.

Introdução:

Grave problema de saúde pública no Brasil e no Mundo, a Hepatite C é uma doença silenciosa que, geralmente, é diagnosticada décadas depois da infecção e tende a evoluir para a forma crônica. A Organização Mundial da Saúde estima que 71 milhões de pessoas em todo mundo convivam com a doença na forma crônica, correspondendo à prevalência global de 1,0%, porém, a maioria delas desconhece o seu diagnóstico, constituindo elo fundamental na cadeia de transmissão dessa infecção.

Objetivo:

Este trabalho tem por objetivo avaliar o desempenho de proteínas recombinantes visando ao desenvolvimento futuro de um teste rápido nacional para detecção da Hepatite C.

Metodologia:

Foram avaliadas sete proteínas recombinantes quanto ao desempenho na plataforma de teste rápido imunocromatográfico de fluxo lateral: A(HCVS401), B(4.8), C(4.7), D(4.5), E(HCV207), F(HCV241) e G(HCV255). Inicialmente, realizou-se uma triagem utilizando eletroforese e MAPIA (*Multi Antigen Print Immunoassay*) para avaliação do perfil e da reatividade dessas proteínas, respectivamente. As proteínas selecionadas foram avaliadas na plataforma de teste rápido de fluxo lateral, cada uma com três tipos diferentes de membrana de nitrocelulose (3µm, 10µm e 15µm). As proteínas foram inicialmente impregnadas na concentração de 40ng em membranas de nitrocelulose sobre cartão adesivo e secas em estufa (37°C) para a posterior adição das membranas da amostra, conjugado (proteína A/Ouro coloidal) e residual que compõem o teste. O cartão completo foi cortado em tiras e estas encaixadas em suportes plásticos. Amostras caracterizadas como positivas e negativas para HCV foram

testadas utilizando diferentes tampões de corrida e concentrações das proteínas para seleção da melhor condição.

Resultado:

A avaliação pela eletroforese mostrou proteínas com peso molecular, pureza e integridade de acordo as especificações dos fornecedores. No entanto, pela avaliação do MAPIA, as proteínas F e G não apresentaram reatividade necessária e foram eliminadas nessa triagem. As cinco proteínas restantes foram testadas em diferentes configurações do teste rápido, totalizando 15 combinações e foram escolhidas as condições: A1, B1, B2, C2, D2 e E1. Em seguida foram realizados inúmeros testes com maior número amostral utilizando-se diferentes formulações do tampão de corrida. Os resultados mostraram que as proteínas A e E foram as mais promissoras, apresentando índices preliminares de sensibilidade 80,5% e 75,5%, respectivamente e especificidade de 100% em ambas.

Conclusão:

Dentre as proteínas avaliadas, duas mostraram-se promissoras. Serão realizados ensaios complementares utilizando-se simultaneamente ambas as proteínas no mesmo teste com o intuito de ampliar a capacidade de detecção de anticorpos anti-HCV. Novas análises com maior número amostral serão necessárias para definição dos índices de sensibilidade e especificidade do teste, a fim de concluir em quais condições as proteínas recombinantes serão utilizadas para que sejam consideradas boas candidatas a alvos em um kit de imunocromatografia de fluxo lateral – Teste Rápido para diagnóstico da hepatite C.

Palavras-chave: Hepatite C; Teste rápido de fluxo lateral; Diagnóstico