

## **R9 Padronização de uma metodologia de ensaio na plataforma de microarranjos líquidos utilizando sífilis como modelo**

Perieli da Silva Vasconcelos Sousa<sup>1</sup>, Christiane de Fátima Silva Marques<sup>1</sup>, Bruna de Paula Fonseca e Fonseca<sup>1</sup>, Bernardo Oliveira Loureiro<sup>1</sup>, Marcelle Bral de Mello<sup>1</sup>, Leila Botelho Rodrigues da Silva<sup>1</sup>, Nara Mazarakis Rubim<sup>1</sup>, Rosa Teixeira de Pinho<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Bio-Manguinhos, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ

<sup>2</sup> IOC, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ

**Introdução:** Entre os imunoenaios com alta sensibilidade e especificidade mais utilizados em diagnóstico estão o ensaio imunoenzimático, o radioimunensaio e a citometria de fluxo. Além destes, existe a tecnologia Luminex, que passou a ser utilizada mais recentemente no final da década de 1990 (Vignali, 2000). Esta tecnologia apresenta vantagens em relação às outras, como a análise simultânea de analitos de diversas doenças numa mesma reação e logo, uma redução de custo e tempo (Elshal & McCoy, 2006).

**Objetivo:** Padronizar uma metodologia de seleção e avaliação de antígenos com potencial uso em testes diagnósticos com base na plataforma tecnológica de microarranjos líquidos empregando sífilis como modelo de ensaio.

**Metodologia:** A seleção dos antígenos para serem utilizados nesta avaliação foi baseada primariamente na frequência com que estes eram referenciados na literatura, na própria experiência do laboratório e na disponibilidade destes antígenos pelos seus principais fornecedores. Diferentes massas de antígenos estão sendo testadas e selecionadas para o acoplamento às microesferas. Também serão avaliados no formato em *single*, os parâmetros relacionados à etapa de acoplamento (tampão, concentração de antígenos) e etapa de reação (agitação durante a incubação, composição do tampão). Posteriormente a avaliação será realizada no formato em *multiplex*.

**Resultados:** Foram avaliados três antígenos do *Treponema pallidum* de cada um dos dois diferentes fabricantes (F1 e F2) e foram selecionadas as massas de proteína para o acoplamento às microesferas. As massas de proteína selecionadas do F1 foram 5 µg dos antígenos p17 e TmpA e 25 µg do antígeno p47, do F2 foram 1 µg dos antígenos p47, p17 e p15+17+47. A diluição dos soros testados foi selecionada a 1/100. Avaliamos até agora 6 soros (três positivos e três negativos para sífilis) com as diferentes massas desses antígenos e obtivemos resultados promissores. Adicionalmente, avaliamos a influência de diferentes rotações (600, 800 e 1000 RPM) na incubação, porém não foi observada diferença significativa. Além disso, observamos que a utilização de soro albumina bovina (BSA) de dois

diferentes fabricantes, no tampão utilizado no ensaio também não influenciou no resultado.

**Conclusão:** A versatilidade e robustez da plataforma de microarranjos líquidos são grandes atrativos nesta tecnologia. Para torná-la prontamente utilizável, propomos a padronização dos métodos empregados nas diferentes etapas do ensaio. Dentre os diversos parâmetros, avaliamos a massa ideal para o acoplamento dos antígenos às microesferas frente a 6 diferentes soros teste, as diferentes rotações de incubação e insumos do tampão, testando também diferentes fabricantes. A massa para acoplamento variou de acordo com a proteína utilizada enquanto a velocidade de rotação e as diferenças entre os BSAs provenientes de diferentes fornecedores não foram determinantes na otimização do ensaio. Outros parâmetros importantes para o ensaio ainda serão testados em maior número de amostras e os selecionados serão avaliados em *multiplex*.

**Palavras-Chave:** Diagnóstico, Multiplex, Sífilis