



Caracterização de um imunossensor *point-of-care* para detecção da proteína do vírus mayaro

P D Mendonça^{1*}, L K B Santos¹, G M Santana¹, R R Ribeiro², P A B Ferreira¹, C M Padro¹, P N Pêgo³, De-Simone S G³, R A F Dutra¹

¹Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil

²Secretaria de Saúde do Estado da Bahia, Salvador, Brasil

³Instituto Fio Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

*priscadm07@gmail.com

Contexto, Motivação e Objetivo. Arbovírus são vírus transmitidos pelos artrópodes (Arthropod-borne vírus) e esta denominação não é apenas por sua veiculação através de artrópodes, mas, principalmente pelo seu ciclo reprodutivo, que em parte acontece nos insetos. No Brasil já foram isolados cerca de 210 arbovírus e dentre estes, 40 causam doenças em humanos. O vírus Mayaro pertence à família Togaviridae e ao gênero Alphavirus e foi inicialmente isolado do sangue de 5 trabalhadores na cidade de Mayaro em 1954. Seu material genético é constituído por RNA de fita simples positivo e seu diagnóstico é difícil por causa da natureza inespecífica da doença e as técnicas baseadas na identificação do vírus são difíceis, sendo assim, o método mais confiável tem sido o isolamento do vírus por inoculação in vivo e RT-PCR. O desenvolvimento de alternativas mais práticas, quantitativas e econômicas tem resultado na crescente busca por testes baseados em biossensores, que vem sendo explorados no diagnóstico de diversos metabólitos, antígenos, proteínas antigênicas, alérgenos, etc., tendo a vantagem de oferecerem respostas quantitativas em tempo real e possibilidade de miniaturização. Portanto, este trabalho trata-se do desenvolvimento de uma tecnologia rápida, prática e segura, além de fornecer alta sensibilidade e especificidade diagnóstica devido à transdução em sinal elétrico com objetivo de caracterização e desenvolvimento do teste de diagnóstico específico e sensível para uso em larga escala com a tecnologia de biossensores da associação de seqüências de peptídeos sintéticos que caracterizam epítomos da proteína do vírus Mayaro.

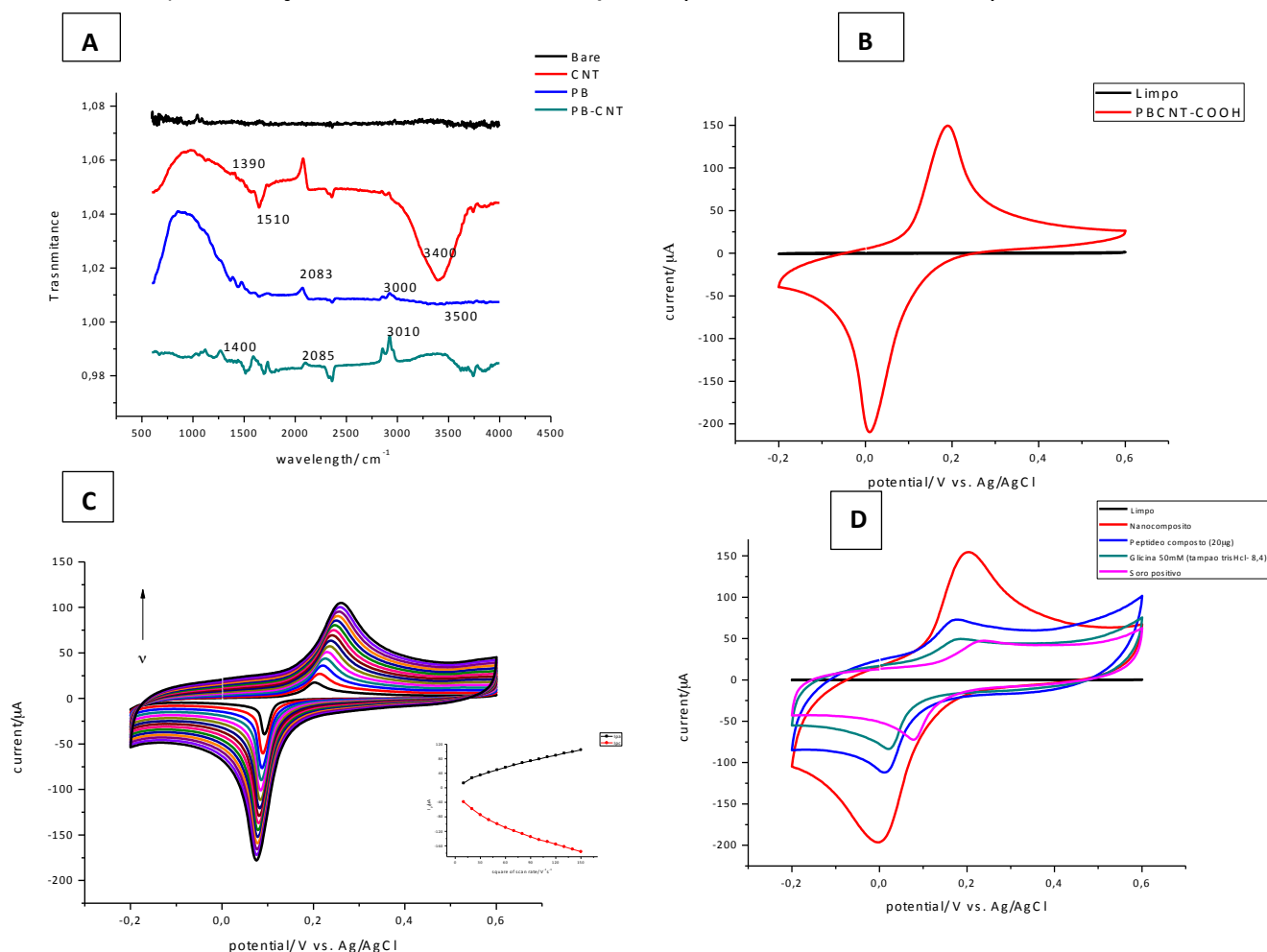
Métodos. Foram realizados experimentos para o desenvolvimento do imunossensor baseado em uma plataforma nanoestruturada, constituída por um compósito formado pelo azul da prússia e nanotubos de carbono (AP/NTC-COOH) montado sobre sistema eletroquímico constituído por eletrodo impresso de carbono onde a mesma é usada como sonda redox. Todas as etapas de modificações da superfície eletródica foram caracterizadas eletroquimicamente, estruturalmente e morfológicamente através das técnicas de voltametria cíclica e onda quadrada, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) (Figura 1A) e microscopia de força atômica (AFM), respectivamente.

Resultados. Na figura 1B pode observar o comportamento eletroquímico do nanomaterial utilizado para a formação do filme sobre a superfície sensora através do aumento das amplitudes dos picos redox em KCl a 0,1M. Após a deposição do filme no eletrodo impresso de carbono foi possível determinar um aumento significativo da área eletroativa quando se compara o eletrodo não modificado (voltograma vermelho), sugerindo a formação do nanocompósito. A estabilidade eletroquímica do filme mostrou-se estável sobre o eletrodo e foi avaliado submetendo o eletrodo em 20 varreduras cíclicas consecutivas numa gama de potencial entre -0,2 V a 0,6 V em uma velocidade de varredura de potencial de 0,05 V/s. Os

coeficientes de variação dos picos anódicos e catódicos, demonstraram que o filme apresentou ótima estabilidade (CV: $I_{pa} = 0,3890$; $I_{pc} = 0,3185$ (figura 1C). O peptídeo composto foi imobilizado sobre a superfície eletródica por ligações covalentes com os NTC-COOH, permitindo uma alta estabilidade durante as medidas. Observa-se que houve uma diminuição dos picos redox da área ativa, confirmando a imobilização do peptídeo e foi possível observar a detecção pela técnica de voltametria cíclica (Figura 1D).

Discussão e conclusão. As informações que envolvem os mecanismos eletroquímicos muitas vezes podem ser obtidas pela relação da taxa de pico entre a corrente catódica / anódica. A resposta sensora foi desafiada com a incubação de amostra de soro. No voltograma verde (figura 1D), é possível observar um decréscimo dos picos redox devido à natureza isolante de proteínas, confirmando o bloqueio e a resposta sensora. Portanto, este imunossensor livre de marcação foi desenvolvido para detectar o peptídeo do vírus mayaro que tem por intenção a contenção da doença e o diagnóstico precoce da fase crônica e aguda, permitindo ao paciente cuidados paliativos necessários através do diagnóstico preciso e com rapidez.

Figura 1. A) Infravermelho por Transformada de Fourier; **B)** Voltamogramas cíclicos do eletrodo limpo (preto) e do eletrodo modificado com (vermelho) em solução de KCl a 0.1mol L^{-1} ; **C)** Perfil voltamétrico do AP-NTC-COOH sob diferentes velocidades de varredura de potencial ($10\text{--}150\text{mVs}^{-1}$) em solução de KCl a 0.1mol L^{-1} ; **D)** Princípio do imunossensor amperométrico.





XXVI Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica

Armação de Búzios – RJ – Brasil

October 21st to 25th, 2018

Agradecimentos. CAPES e CNPQ

Palavras-chave. Vírus Mayaro, Imunossensor, nanocompósito, peptídeo, biossensores.