



Simpósio de Integração Acadêmica

"Ciências Básicas para o Desenvolvimento Sustentável"

SIA UFV 2023



Avaliação em série e em paralelo dos testes TR-DPP-LVC e EIE-LVC para o diagnóstico de Leishmaniose Visceral Canina e análise da performance de um novo antígeno quimérico derivado da rLiNTPDase2

Leopoldino, L.S.¹; Castro, R.B.¹; Moraes, J.V.B.²; DeSouza, A.C.A.¹; Favarato, E.S.³; Barros, R. A.³; G Bressan G.C.¹; Vasconcellos, R.S.¹; Fietto, J.L.R.¹
1 Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. 2 Departamento de Biologia Geral. 3 Departamento de Medicina Veterinária.
Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG).

luma.leopoldino@ufv.br, raissa.castro@ufv.br, joao.badaro@ufv.br, annalves@gmail.com, esfavarato@ufv.br, rodrigo.a.barros@ufv.br, voorwald@ufv.br, gustavo.bressan@ufv.br, raphael.vasconcellos@ufv.br, jufietto@ufv.br

Palavras-chave: Controle epidemiológico, Sorodiagnóstico, Leishmaniose Visceral Canina | **Área Temática/ Grande Área:** Bioquímica/Ciências Biológicas e da Saúde | **Categoria do Trabalho:** Pesquisa

Introdução

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma zoonose endêmica e 90% dos casos da América Latina ocorrem no Brasil. Por isso, a doença é foco de importantes pesquisas científicas que buscam aprimorar o controle epidemiológico. No Brasil, o diagnóstico é feito pela triagem de animais utilizando o teste rápido TR-DPP-LVC, e posteriormente a confirmação pelo ELISA (EIE-LVC), ambos da Bio-Manguinhos (FioCruz). Além desses testes, estudos recentes do nosso grupo de pesquisa demonstraram a alta performance da rLiNTPDase2 no diagnóstico da LVC, sugerindo sua utilização no diagnóstico da doença. Para isso, o foco atual da pesquisa são as otimizações desse antígeno e avaliação das mesmas.

Objetivos

Considerando a importância da precisão desses testes, o objetivo deste estudo foi avaliar seu desempenho em amostras de campo, bem como expressar e avaliar um novo antígeno recombinante derivado da rLiNTPDase2.

Material e Método

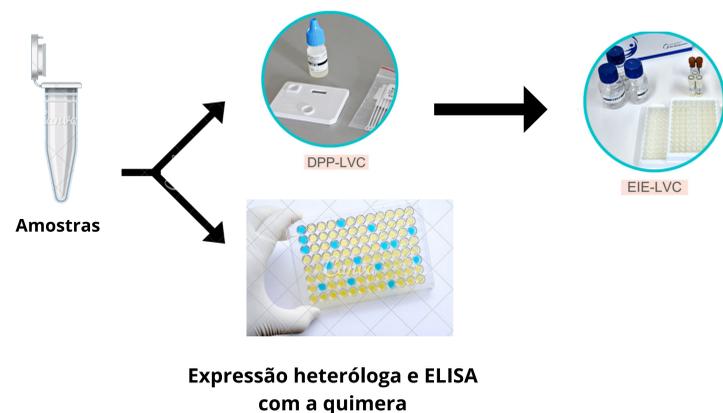


Figura 1 - Testes do Bio Manguinhos utilizados para diagnóstico de LVC. Teste imunocromatográfico usado para triagem (DPP-LVC) e ELISA usado como ensaio confirmatório (EIE-LVC). A análise seriada foi feita pelo uso sequencial de ambos os testes, e a análise paralela foi feita pela avaliação individual de cada teste. Abaixo, esquema utilizado para fazer o ELISA com a quimera.

Os testes foram avaliados em série, com a triagem feita com DPP-LVC e a confirmação com o EIE-LVC; e em paralelo, avaliando os testes individualmente. Ambos os testes foram realizados de acordo com as instruções do manual. Foram utilizadas 163 amostras, sendo 96 negativas, da região de Viçosa (MG), e 67 positivas, de Governador Valadares (MG).

Resultados e Discussão

Os resultados de sensibilidade, especificidade e acurácia, tanto para a análise seriada, quanto para a paralela, são apresentados na Tabela 1. Observamos que embora a sensibilidade do TR DPP-LVC tenha sido menor, ele apresentou maior especificidade. O EIE-LVC apresentou alta sensibilidade, mas baixa especificidade, o que pode levar a resultados incorretos.

| Teste | Sensibilidade | Especificidade | Acurácia |
|------------------|---------------|----------------|----------|
| Série: DPP + EIE | 40.29% | 98.95% | 74.84% |
| Paralelo: DPP | 68.65% | 100% | 87.11% |
| Paralelo: EIE | 91.67% | 61.02% | 89.64% |

Tabela 1 - Análise Serial e Paralela. A tabela mostra os valores de sensibilidade, especificidade e acurácia para a análise seriada e paralela. Para a análise seriada e análise paralela de DPP-LVC, a sensibilidade foi a probabilidade de um resultado positivo em pacientes, a especificidade foi a probabilidade de um resultado negativo em não pacientes e a acurácia foi a probabilidade de o teste fornecer resultados corretos. Para análise paralela de EIE-LVC esses valores foram determinados pela curva ROC (95% C.I).

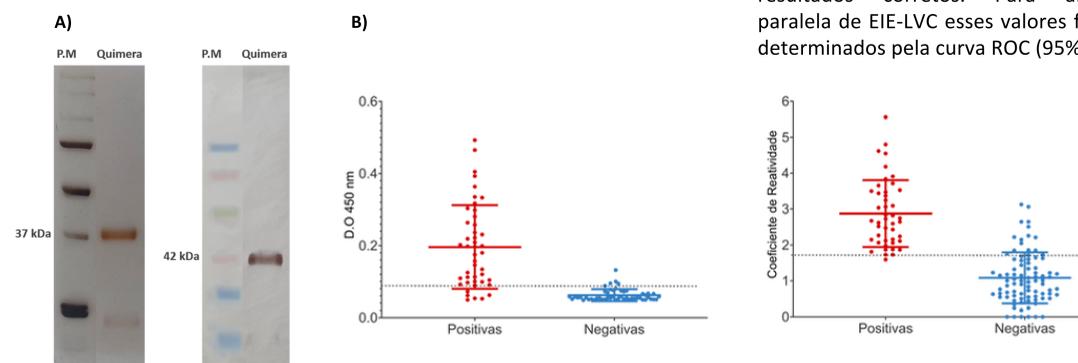


Figura 2 - Produção do antígeno quimérico derivado da LiNTPDase2 e comparação com EIE-LVC. A) SDS-PAGE corado por prata e western blot. Para ambos, a primeira canaleta é o marcador de peso molecular (P.M) e a segunda canaleta é a quimera após a purificação. B) Comparação da performance da quimera com o EIE-LVC. Sensibilidade, especificidade e acurácia foram determinados pela curva ROC (95% C.I).

| Teste | Sensibilidade | Especificidade | Acurácia |
|---------|---------------|----------------|----------|
| EIE-LVC | 92,16% | 86,67% | 91,92% |
| Quimera | 82,56% | 97,78% | 94,68% |

Tabela 2. resultado do ELISA comparativo entre Quimera e EIE-LVC.

O western blot utiliza anticorpo anti-histidina e detecta com alta especificidade apenas as proteínas que contenham uma cauda de histidina, como é o caso da quimera. Assim, ele confirma que a banda visualizada no SDS-PAGE é de fato a proteína recombinante de interesse. O resultado do ELISA mostra que o EIE-LVC apresenta limitações e que, nos resultados iniciais, a quimera se mostrou como um bom antígeno, uma vez que apresentou melhores valores de especificidade e acurácia.

Conclusões

Observamos, portanto, que os testes que têm sido utilizados apresentam limitações e que o diagnóstico da LVC precisa ser mais preciso para que ocorra um melhor controle epidemiológico da doença. Nesse contexto, o novo antígeno recombinante tem se mostrado promissor para o desenvolvimento de novos testes, os quais possam identificar corretamente cães com LVC.

Apoio financeiro

