

Simpósio de Integração Acadêmica

“Ciências Básicas para o Desenvolvimento Sustentável”

SIA UFV 2023



Produção de kit diagnóstico baseado em vesículas de polidiacetileno para detecção de anticorpos contra o SARS-CoV-2

Maria Regina Fonseca Ramos^{1,2}; Fabiana Martins Costa Fontes^{1,3}; Luciana de Souza Fernandes^{1,4}; John Willians Oliveira Prates^{1,5}; Roberto Sousa Dias^{1,6}; Sérgio Oliveira de Paula^{1,7}

¹Laboratório de Imunovirologia Molecular, DBG, Universidade Federal de Viçosa; ²maria.r.ramos@ufv.br; ³fabiana.fontes@ufv.br; ⁴luciana.fernandes@ufv.br; ⁵john_prates@hotmail.com; ⁶roberto.dias@ufv.br; ⁷depaula@ufv.br

Trabalho de Pesquisa; Imunologia; Ciências Biológicas e da Saúde

Palavras-chave: sensor; polidiacetileno; point of care

Introdução

A pandemia de COVID-19 deixou recentemente de ser uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional. No entanto, mais de 690 milhões de pessoas foram infectadas até o momento, resultando em mais de 6 milhões de mortes no mundo e mais de 700 mil só no Brasil. A resposta contra a doença demandou mobilização global da comunidade científica para o desenvolvimento de métodos diagnósticos, terapêuticos e profiláticos em tempo recorde, o que somente foi possível devido à presença de plataformas bem estabelecidas.

Objetivos

Nesse contexto, este projeto objetivou a produção de vesículas a partir do polidiacetileno (PDA) para a elaboração de kits diagnósticos. Essas vesículas têm como propriedade a mudança da coloração, do azul para o vermelho, bem como do espectro de absorção máximo, mediante estímulos externos. Assim, para fins diagnósticos, a vesícula é funcionalizada com o objetivo de que, a partir de uma interação de alta afinidade, a transição colorimétrica indique a presença de determinada molécula de interesse.

Material e Método

Neste trabalho, foram produzidas vesículas contendo a proteína S do SARS-CoV-2 (expressão heteróloga através de *Komagataella phaffii*) e, portanto, a interação antígeno-anticorpo é a responsável pela mudança cromática. Para tal, foram diluídos 3,7 mg de ácido pentacosadiinóico (PCDA) e 3,4 mg de dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) em 10 e 5 mL de clorofórmio, respectivamente. Em seguida, as soluções foram misturadas na proporção 7:3 (PCDA/ DMPC) até o volume final de 10 mL, o qual foi submetido ao fluxo de nitrogênio até completa secagem. Logo após, 10 mL de água ultrapura foram adicionados ao residual, que foi submetido ao banho ultrassônico e, então, sonificado por 10 minutos a 80 W. Posteriormente, 3,3 mg de EDC-HCl e 3,5 mg de N-hidroxissuccinamida (NHS) foram adicionados para interação por 1 h. Em seguida, foi acrescida a proteína na concentração final de 33 µg/mL e incubado por 5 h. A fim de evitar possíveis interações inespecíficas, albumina bovina (BSA) 1% foi utilizada para bloqueio. Todas as incubações ocorreram em agitação a 4°C. Ao final do processo, a amostra foi polimerizada em banho ultravioleta por 15 min. A sensibilidade e a especificidade das vesículas foram determinadas através da curva ROC, pelo Prism graphpad.

Apoio financeiro



Resultados e Discussão

A avaliação da funcionalidade das vesículas foi realizada através de soros de pacientes previamente infectados com a COVID-19, detentores de anticorpos contra o vírus. O controle foi feito com sorologia negativa. Os resultados demonstraram a efetividade do método para a distinção de pacientes sorologicamente positivos de negativos. A mudança na coloração da amostra foi observada visual e espectrofotometricamente, em dois comprimentos de onda. Pela curva ROC foi possível determinar um cutoff de 0,0045 nm para discriminação dos resultados, com 91,67% de sensibilidade e especificidade.

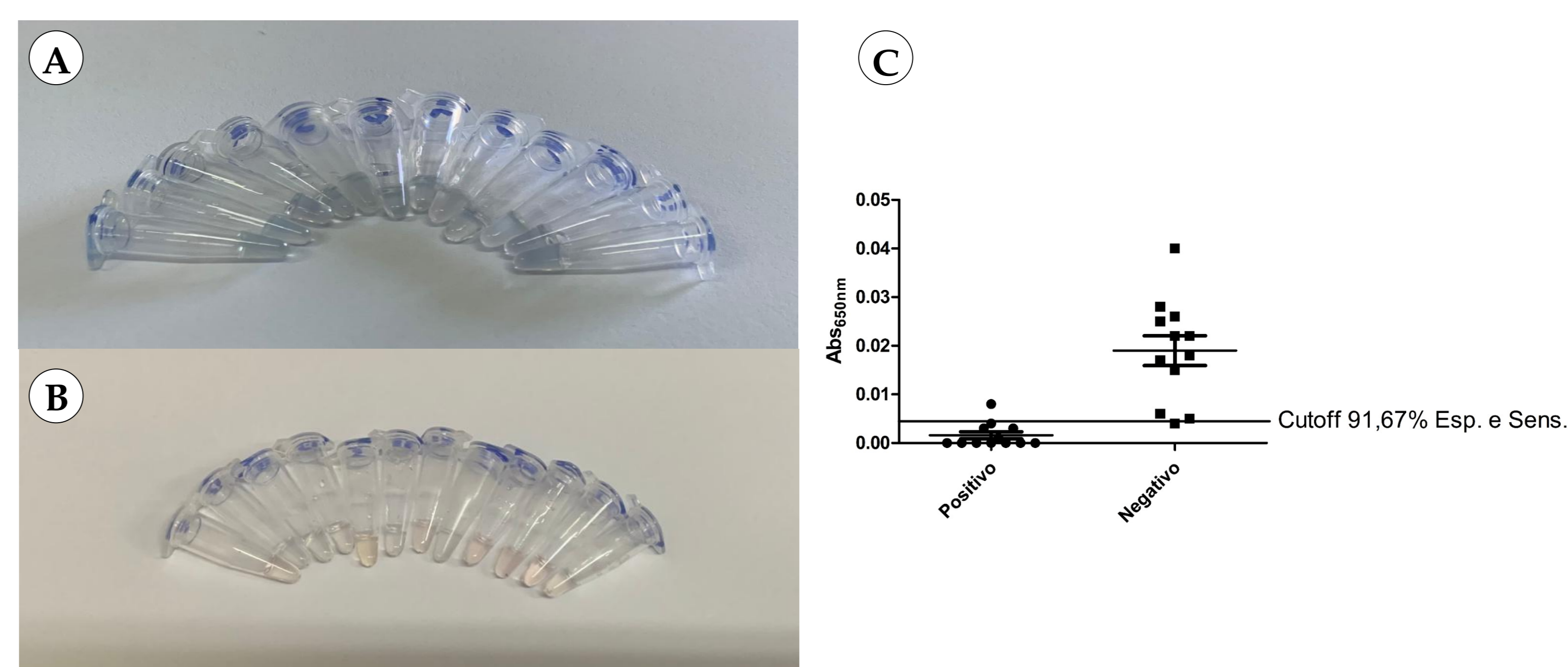


Figura 1. Método colorimétrico – Transição de cor do azul negativo (A) para o vermelho positivo (B). O cutoff pode ser numericamente estabelecido pela curva ROC (C).

Conclusões

A eficácia da técnica, portanto, impõe como perspectiva a consolidação de um novo teste, rápido e preciso, para a COVID-19 e outras doenças virais.

Bibliografia

David Nelson A, Shiveshwar P, Lim B, Rojas G, Abure I, Shrestha A, Jaworski J. Tuning the Surface Charge of Self-Assembled Polydiacetylene Vesicles to Control Aggregation and Cell Binding. *Biosensors (Basel)*. 2020 Sep 24;10(10):132. doi: 10.3390/bios10100132. PMID: 32987658; PMCID: PMC7598607. Jeong JP, Cho E, Yun D, Kim T, Lee IS, Jung S. Label-Free Colorimetric Detection of Influenza Antigen Based on an Antibody-Polydiacetylene Conjugate and Its Coated Polyvinylidene Difluoride Membrane. *Polymers (Basel)*. 2017 Mar 30;9(4):127. doi: 10.3390/polym9040127. PMID: 30970806; PMCID: PMC6432067.

Agradecimentos

