

## DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICA DIAGNÓSTICA IMUNOLÓGICA PARA DETECÇÃO DE ANTÍGENO NA DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA.

Melissa Lorena Fassina (PIBITI/CNPq/UEM), ra119982@uem.br, Amanda Hinobu de Souza, amandahbnsouza@gmail.com, Cristiane Maria Colli, cristianecolli@ufgd.edu.br, Celso Vataru Nakamura, cvnakamura@uem.br, Sueli de Oliveira Silva Lautenschlager, lautenschlager@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Ciências Básicas da Saúde

Ciências Biológicas III - Parasitologia

Palavras-Chave: *Trypanosoma cruzi*, Diagnóstico Laboratorial, ELISA.

### Introdução

A doença de Chagas afeta cerca de 6 a 7 milhões de pessoas em todo o mundo. Foi utilizado um ensaio ELISA de captura padronizado previamente para detectar e quantificar o antígeno de superfície de amastigotas (ASP-2) de *Trypanosoma cruzi*, avaliando-se dois pares de anticorpos monoclonais (anticorpos de captura e detecção) anti-ASP-2 em diferentes concentrações.

### Problema

Os métodos diagnósticos para fase crônica da doença de Chagas são capazes de detectar anticorpos IgG anti-*T. cruzi*. A detecção de antígeno de amastigota poderia indicar o prognóstico da doença, uma vez que parte dos indivíduos na fase crônica (60 a 70%) não desenvolvem nenhum sintoma, no entanto apresentam anticorpos IgG anti-*T. cruzi*.

### Solução e Benefícios

Dois pares de anticorpos monoclonais anti-ASP-2 foram testados em diferentes concentrações no ensaio. A Tabela 1 abaixo apresenta os melhores resultados obtidos.  
Tabela 1. Média dos valores de absorvância de diferentes concentrações da proteína ASP-2 utilizando anticorpo de captura 14 S1S1 e de detecção 8 S1S1 biotilado, ambos a 3 µg/ml.

Concentração da Proteína ASP-2-curva padrão	Média das absorvâncias (das duplicatas)
Branco	0,119
1 µg/mL	3,218
0,2 µg/mL	3,232
0,04 µg/mL	2,638
0,008 µg/mL	0,972
0,0016 µg/mL	0,335
0,00032 µg/mL	0,196
0,000064 µg/mL	0,169
0,0000128 µg/mL	0,131
0,00000256 µg/mL	0,123
0,000000512 µg/mL	0,143

### Potencial de Mercado e Diferencial Competitivo

Se comprovada a eficiência do ensaio com amostras clínicas, a técnica poderá ser utilizada em quaisquer laboratórios de análises clínicas.

### Considerações Finais

Foram testados dois pares de anticorpos monoclonais anti ASP-2 de *T. cruzi*, nas concentrações de 1, 2 e 3 µg/ml. A placa em que foram utilizados 3 µg/ml do anticorpo 14 S1S1 na sensibilização e 3 µg/ml do anticorpo 8 S1S1 biotilado para detecção apresentou melhor limite de detecção (2,56 pg/mL) em relação aos outros testes.

### Estágio de Desenvolvimento da Tecnologia

Os anticorpos monoclonais e proteína ASP-2 utilizados no ensaio imunológico foram fornecidos por uma empresa parceira. A técnica já havia sido padronizada com um dos pares de anticorpos na concentração de 1 µg/mL em que o limite de detecção foi de 64 pg/mL, agora, conseguimos melhorar o limite de detecção, entretanto, a próxima etapa é o teste com amostras clínicas. Assim, este projeto é classificado em TRL/MRL 4.

### Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq pelo apoio financeiro que serviu como um auxílio no encaminhamento deste projeto, pela orientação e auxílio das professoras Sueli de Oliveira Silva Lautenschlager e Cristiane Maria Colli e pelo apoio dos do Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos.

### Contato Institucional

Universidade Estadual de Maringá  
Departamento de Ciências Básicas da Saúde  
sec-dbs@uem.br  
(44) 3011-4833