

## Avaliação da nanopartícula CAH1-Eu como marcador de imunoenaios para o diagnóstico da leishimania tegumentar americana (LTA)

Eduardo M.R. Sanchez<sup>1</sup>, Cláudia A. Kodaira<sup>2</sup>, Ana Valéria S. Lourenço<sup>3</sup>, Hiro Goto<sup>1</sup>, Magnus Gidlund<sup>4</sup>, Maria Cláudia F.C. Felinto<sup>5</sup>, Maria Edileuza F. Brito<sup>6</sup>, Roberto P. Werkhauser<sup>6</sup>, Hermi F. Brito<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. <sup>2</sup>Lumintech Marcadores Ópticos Ltda., São Paulo, Brasil. <sup>3</sup>Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. <sup>4</sup>Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas-IV, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. <sup>5</sup>Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, Brasil. <sup>6</sup>Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Departamento de Imunologia. Recife, PE – Brasil.

\*eduardors22@hotmail.com

Palavras chave: európio; marcador luminescente; leishimania tegumentar americana; imunoensaio.

### INTRODUÇÃO

Novas técnicas de imunoenaios utilizando luminescência resolvida no tempo tem a base íons de  $\text{Eu}^{3+}$  em diagnósticos clínicos vem sendo desenvolvidas. Recentes avanços neste campo estão no desenvolvimento de nanopartículas com íons de terras raras (TR), onde combina as características ópticas dos íons e as propriedades das matrizes inorgânicas [1]. A leishimania tegumentar americana (LTA) é uma doença tropical negligenciada que acomete a pele e mucosas. A LTA está se tornando um problema da saúde pública devido ao crescimento do número de casos diagnosticados em populações carentes e semiurbanas. O diagnóstico é realizado pela reação imunoenzimática (ELISA) utilizando lisado total de promastigotas ou imunofluorescência indireta (IFI). Neste trabalho foram utilizados nanomarcadores luminescentes a base de íons  $\text{Eu}^{3+}$  e antígeno recombinante (LBC51) para a detecção de anticorpos anti-LTA.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

As placas de poliestireno de 96 poços foram sensibilizadas com o antígeno LBC51 overnight e bloqueadas com leite desnatado. Posteriormente, a placa foi incubada por 2 horas com o soro de paciente positivo para LTA. Em seguida, as placas foram incubadas com o nanomarcador CAH1-Eu conjugado com IgG contra IgG humano em diferentes concentrações, utilizando o glutaraldeído como espaçador. Após 2 horas as placas foram lavadas com PBS e então foram realizadas as leituras da luminescência, no fluorímetro Victor<sup>2</sup>D do fabricante PerkinElmer, segundo instruções do fabricante.

A Figura 1 apresenta as curvas das leituras da luminescência nas diferentes lavagens. Observou-se que o aumento da luminescência foi diretamente proporcional ao aumento da concentração do anticorpo na nanopartícula CAH1-Eu, como apresentado na Figura 1.

A curva da Figura 1 apresenta o mesmo perfil que é observado em imunoenaios do tipo ELISA. Portanto, os resultados indicam que o ensaio para a detecção de anticorpos anti-LTA utilizando o nanomarcador CAH1-Eu ocorreu de forma efetiva.

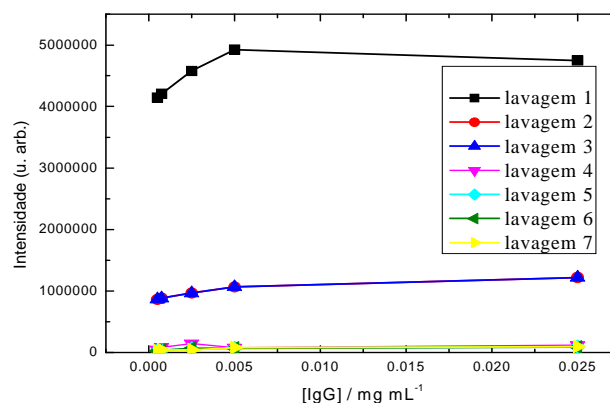


Figura 1. Leituras da intensidade da luminescência do íon  $\text{Eu}^{3+}$  nas diferentes lavagens, em função da concentração do IgG anti-humano na nanopartícula.

### CONCLUSÕES

Os resultados indicam que o nanomarcador CAH1-Eu é um candidato promissor para ser utilizado em imunoenaios. Ademais, o bioensaio apresentou bons resultados para a detecção da LTA.

### AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), Rede Nanobiotec-Brasil/CAPES e INCT-INAMI (Instituto Nacional de Nanotecnologia para marcadores integrados).

### REFERÊNCIAS

<sup>1</sup> Kodaira, C.A.; Lourenço, A.V.S.; Felinto, M.C.F.C.; Sanchez, E.M.R.; Rios, F.J.O.; Nunes, L.A.O.; Gidlund, M.; Malta, O.L.; Brito, H.F. *J. Lumin.* **2011**, 131, 727.