

RÁPIDA DETECÇÃO MOLECULAR DE ZIKA VIRUS DIRETAMENTE EM AMOSTRAS COMPLEXAS POR RT-LAMP EM DISPOSITIVOS MICROFLUIDICOS DESCARTÁVEIS DE PET

Congresso Online Nacional de Química, 3ª edição, de 29/03/2021 a 01/04/2021
ISBN dos Anais: 978-65-86861-93-8

ESTRELA; Paulo Felipe Neves¹, MENDES; Geovana de Melo², OLIVEIRA; Kézia Gomes de³, ASSUNÇÃO; Nilson Antônio de⁴, DUARTE; Gabriela Rodrigues Mendes⁵

RESUMO

O vírus Zika (ZIKV) é um arbovírus de fácil transmissão e amplo espectro clínico. A presença do vírus em fluidos biológicos, tais como saliva, sangue, urina e sêmen, e a diversidade de transmissão, que pode ser por picada de mosquito infectado, via sexual ou perinatal, aliada à prevalência de sintomas genéricos, ou até mesmo, a ausência de sintomas, potencializa as possibilidades de disseminação, repercutindo em surtos epidemiológicos, tais como, que ocorreu no Brasil em 2015, intimamente relacionados à casos de microcefalia e síndrome de Guillain-Barré. Convencionalmente, o diagnóstico molecular do ZIKV é pautado inicialmente em uma rigorosa etapa prévia de preparo da amostra (extração e purificação de ácidos nucleicos), seguido por amplificação e detecção realizada em equipamentos termocicladores, via RT-qPCR. As múltiplas etapas laboratoriais, elevada infraestrutura requerida, alto tempo e custo, dificulta sua aplicação em ambientes com recursos escassos. Em contrapartida, técnicas isotérmicas, como a Amplificação Isotérmica Mediada por Loop (LAMP) realizam o mesmo processo, entretanto, de forma instrumentalmente mais simples, rápida, acessível e compatível com amostras complexas. Ademais, as vantagens advindas da LAMP podem ser potencializadas pela utilização de dispositivos microfluídicos. Esses microdispositivos são portáteis, demandam menor quantidade de reagentes e amostra, e principalmente, possibilita a integração e automatização de etapas. Neste trabalho, objetivamos a integração de todas as etapas necessárias a detecção molecular do ZIKV em um único microdispositivo descartável de poliéster-toner (PeT). O microchip de PeT foi confeccionado pelo método de impressão, corte e laminação (PCL) utilizando o software *Silhouette Studio™ V4.2.471* para desenho do *layout*, impressora para deposição de toner e cortadora Silhouette Cameo para recorte dos canais microfluídicos. O chip final (3x2,5 cm) possui uma câmara (7x2 mm) com capacidade de 6,0 µL, onde é adicionada a mistura reacional da LAMP otimizada para o microchip, juntamente com 1,0 µL da amostra biológica. O dispositivo contendo a reação é incubado em um banho à seco por apenas 10 minutos à 72°C, e ao final, a detecção é realizada *on-chip*, por meio da adição do reagente SYBR Green I. Em caso positivo (presença de ZIKV na amostra) a solução adquire fluorescência verde quando exposto a luz UV, permitindo a simples identificação de forma visual. Os ensaios realizados frente a outros vírus demonstraram que a técnica apresenta elevada seletividade, com elevada sensibilidade, detectando apenas 1 cópia do RNA de ZIKV, o que é muito inferior à carga viral média de um paciente na fase aguda da infecção. A viabilidade de utilização de amostras complexas foi demonstrada pelo sucesso em detectar a presença de ZIKV diretamente em amostras de sangue total, soro, urina e saliva, de um paciente infectado com 16 dias desde o início dos sintomas, sem a necessidade extração e purificação, que corrobora para minimizar o tempo e custo da análise total. A obtenção do resultado final em menos de 15 minutos, de forma simples, partindo de amostras complexas que podem ser não invasivas, com especificidade, sensibilidade e baixo custo em um único dispositivo portátil demonstra grande potencial aplicação dos testes em larga escala e no *point-of-care*.

PALAVRAS-CHAVE: Diagnóstico molecular, Microsistemas de análise total, Point-of-care

¹ Universidade Federal de Goiás, paulofne@hotmail.com

² Universidade Federal de Goiás, geovanamelomendes@gmail.com

³ Universidade Federal de Goiás, oliveirakg2@outlook.com

⁴ Universidade Federal de São Paulo, nilson.assuncao@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Goiás, gabrielarmd@hotmail.com

¹ Universidade Federal de Goiás, paulofne@hotmail.com
² Universidade Federal de Goiás, geovanamelomendes@gmail.com
³ Universidade Federal de Goiás, oliveirakg2@outlook.com
⁴ Universidade Federal de São Paulo, nilson.assuncao@gmail.com
⁵ Universidade Federal de Goiás, gabrielarmd@hotmail.com