

# Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

## GERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS PARA DENGUE E HANTAVÍRUS - DESENVOLVIMENTO DE INSUMOS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO APLICADO A SAÚDE

Giovanny Camacho Antêvere Mazzarotto

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
INSTITUTO CARLOS CHAGAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS

**Orientadora:** Dra. Claudia N. Duarte dos Santos

**Co-orientador:** Dr. Juliano Bordignon

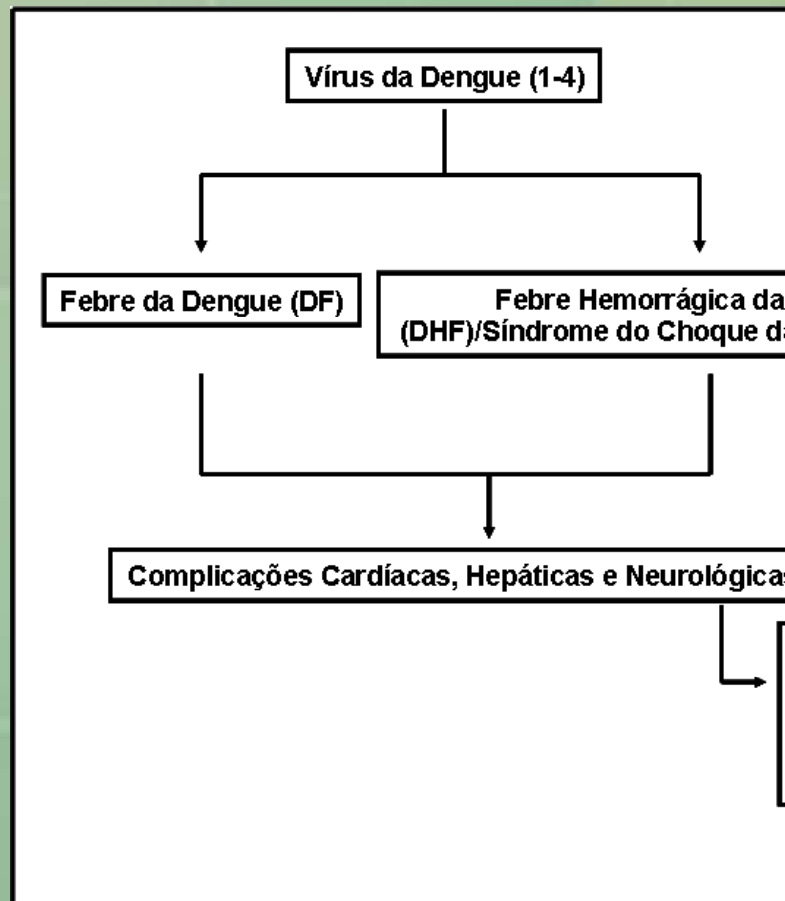


Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos  
Ministério da Saúde



# Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

## 1. Introdução - A dengue



**Não existem vacinas ou drogas antivirais específicas contra a dengue.**

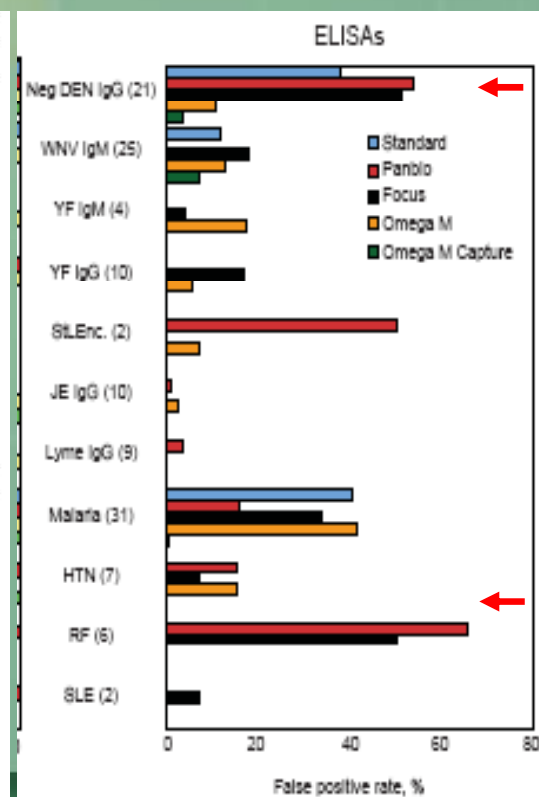
# Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

## 1. Introdução - Diagnóstico da dengue

**Direto:** isolamento viral, imunohistoquímica e as variações de PCR.

**Indireto:** formato do tipo ELISA é o mais comumente utilizado.

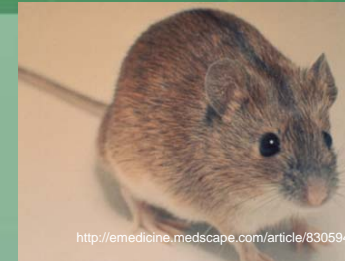
ELISAs					
Test name	Dengue IgM capture	Pathozyme dengue M	Pathozyme dengue M capture	Dengue fever virus IgM capture DxSelect	Dengue IgM capture
Company, location	Panbio Diagnostics, Windsor, Queensland, Australia	Omega Diagnostics, Alva, UK	Omega Diagnostics	Focus Diagnostics, Cypress, CA, USA	Standard Diagnostics, Kyonggi-do, South Korea
Detection method	IgM capture	Indirect IgM detection	IgM capture	IgM capture	IgM capture
Format	12 strips of 8 wells	12 strips of 8 wells	12 strips of 8 wells	12 strips of 8 wells	12 strips of 8 wells
No. tests/package	96	96	96	96	96
Antigen	Recombinant DENV 1-4	Purified DENV 2	DENV 1-4	DENV 1-4	DENV 1-4
Sample volume, µL	10	10	20	10	10
Total incubation time	130 min at 37°C	120 min at 37°C	110 min at 37°C	240 min at room temperature	130 min at 37°C
Storage conditions, °C	2-30	2-8	2-8	2-8	2-8
Rapid diagnostic tests					
Test name	Dengue duo cassette	Hapalyse dengue-M PA kit	Denguecheck WB	SD dengue IgG/IgM	
Company, location	Panbio Diagnostics	Pentax, Tokyo, Japan	Zephyr Biomedicals, Panaji, India	Standard Diagnostics	
Assay principle	Lateral flow	Particle agglutination	Lateral flow	Lateral flow	
Target antibody	IgM and IgG	IgM	IgM and IgG	IgM and IgG	
Format	Cassette	12 strips of 8 wells	Cassette	Cassette	
No. tests/package	25	96	25	25	
Antigen	Recombinant DENV 1-4	DENV 1-4	Recombinant DENV (serotype not specified)	Recombinant DENV 1-4 envelope protein	
Specimen type	Serum, plasma, or whole blood	Serum or plasma	Serum, plasma, or whole blood	Serum or plasma	
Volume of sample	10	1	5	5	



Inclusão de anticorpos monoclonais (mAbs) visa melhorar a especificidade dos kits de diagnóstico

# Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

## 1. Introdução - A hantavirose



Duas manifestações clínicas:

Febre hemorrágica com síndrome renal (FHSR)

Síndrome cárdio-pulmonar por hantavírus (SCPH)

**Taxa de mortalidade de 50%**

Não existe vacina, drogas antivirais ou imuno-moduladoras para tratamento da hantavirose.

# Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

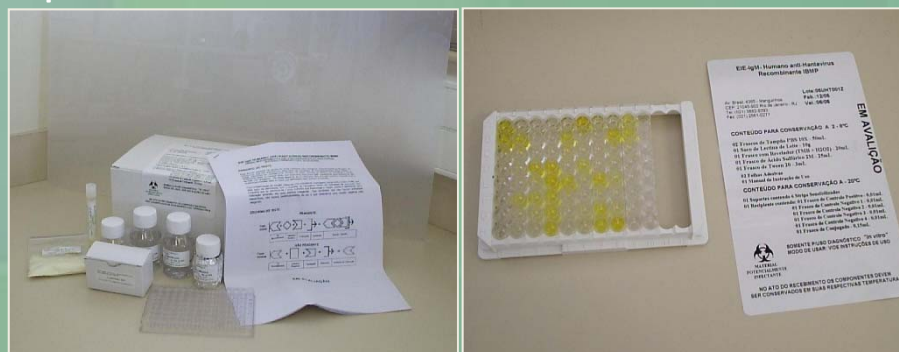
## 1. Introdução - Diagnóstico da hantavirose

**Direto:** isolamento viral, PCR e imunohistoquímica

**Indireto:** Ensaio de imunofluorescência indireta (IFI) e ensaios do tipo ELISA

Kit de diagnóstico desenvolvido pelo ICC.

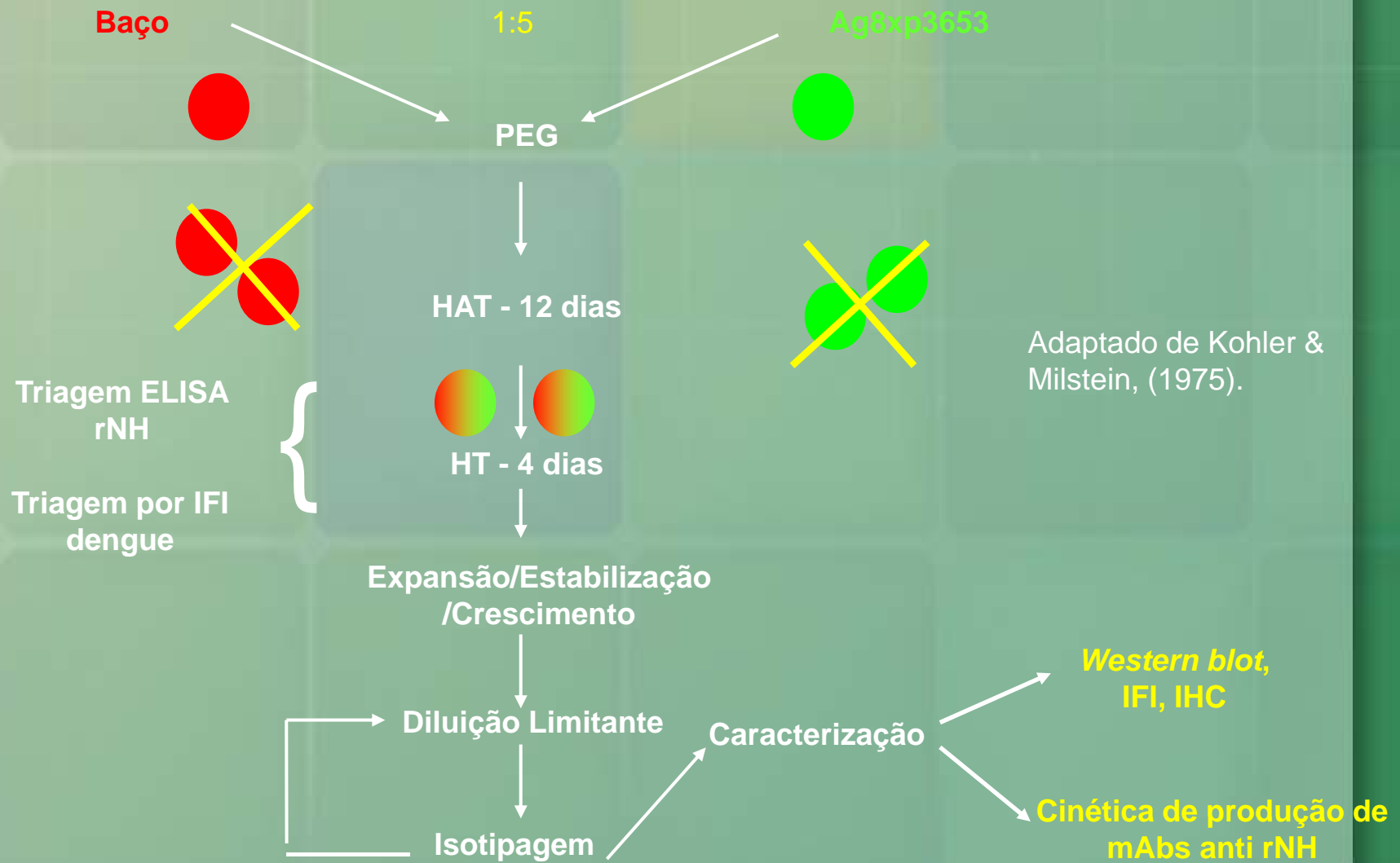
IBMP EIE IgG e IgM HANTEC



Os mAbs anti-hantavirus têm aplicação em kits de diagnósticos, pesquisa básica e imunoterapia.



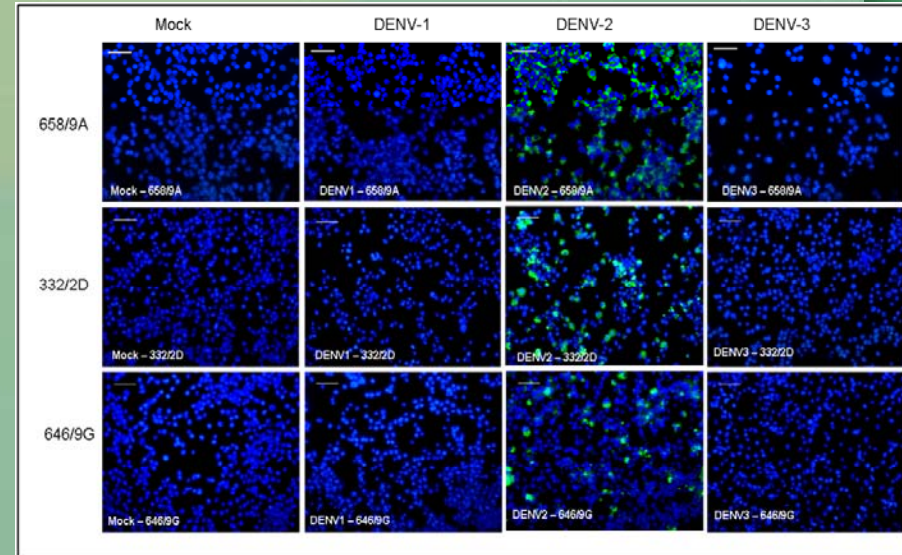
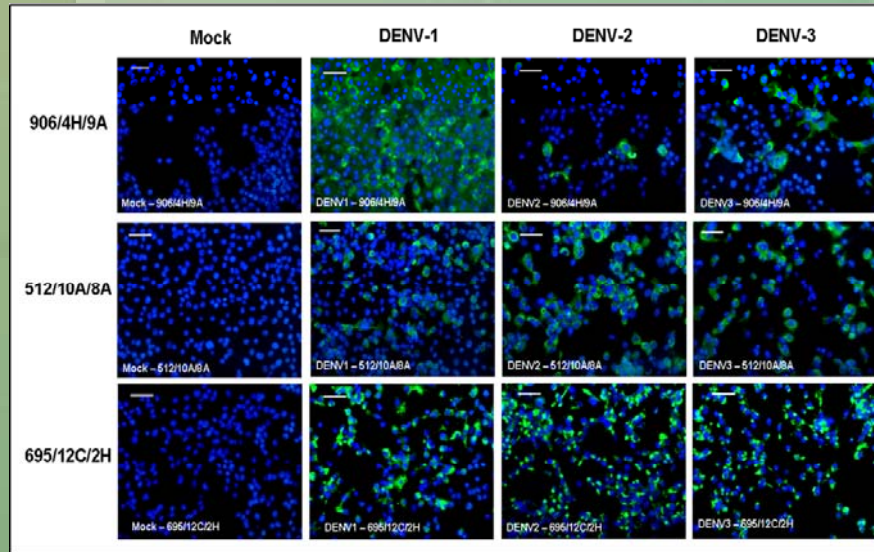
## 2. Produção de anticorpos monoclonais (mAbs) utilizando a tecnologia de hibridomas



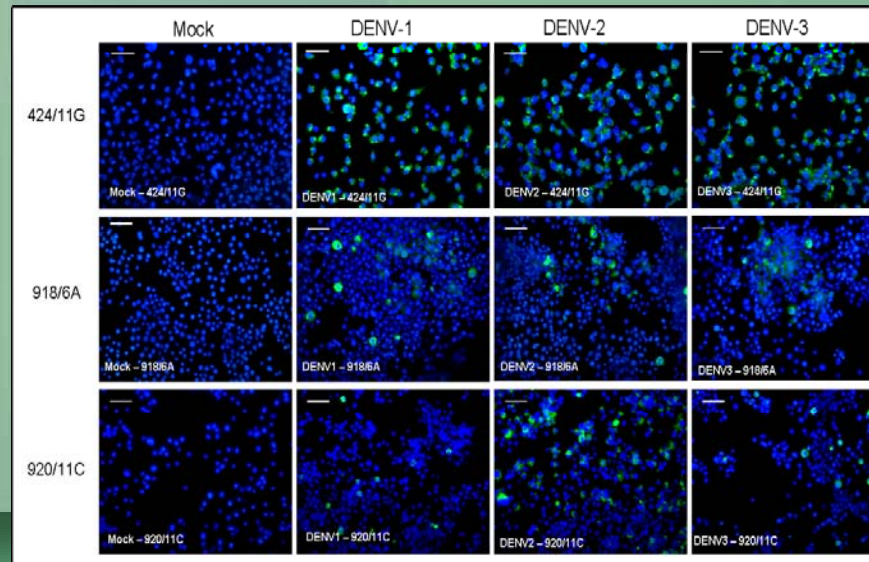
### 3. Resultados - IFI dos mAbs anti-dengue

#### DENV-1

#### DENV-2



#### DENV-3



# Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

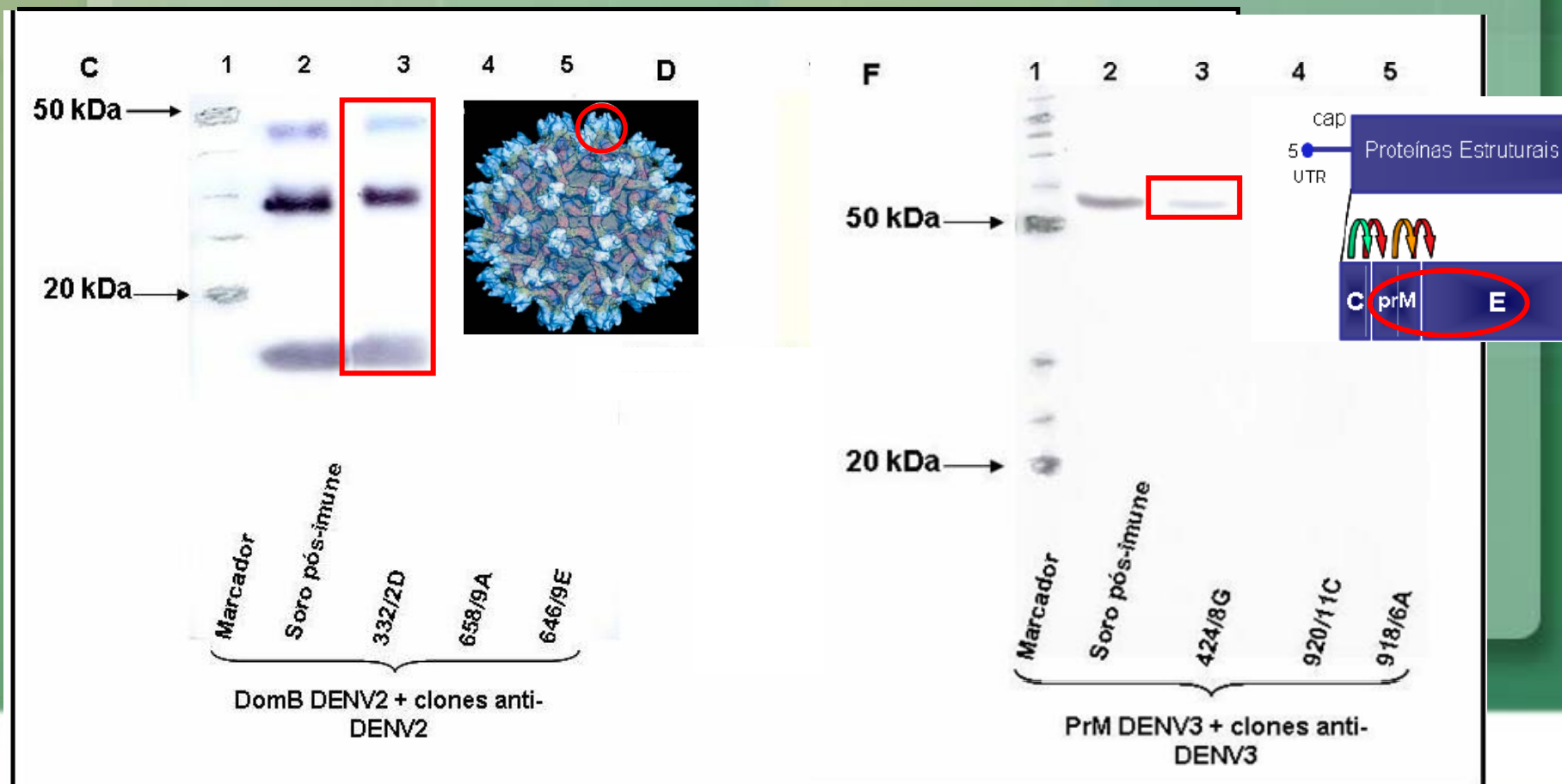
## 3. Resultados - *Western blot mAbs anti-dengue*

DENV-2

Domínio B da prot. de E

DENV-3

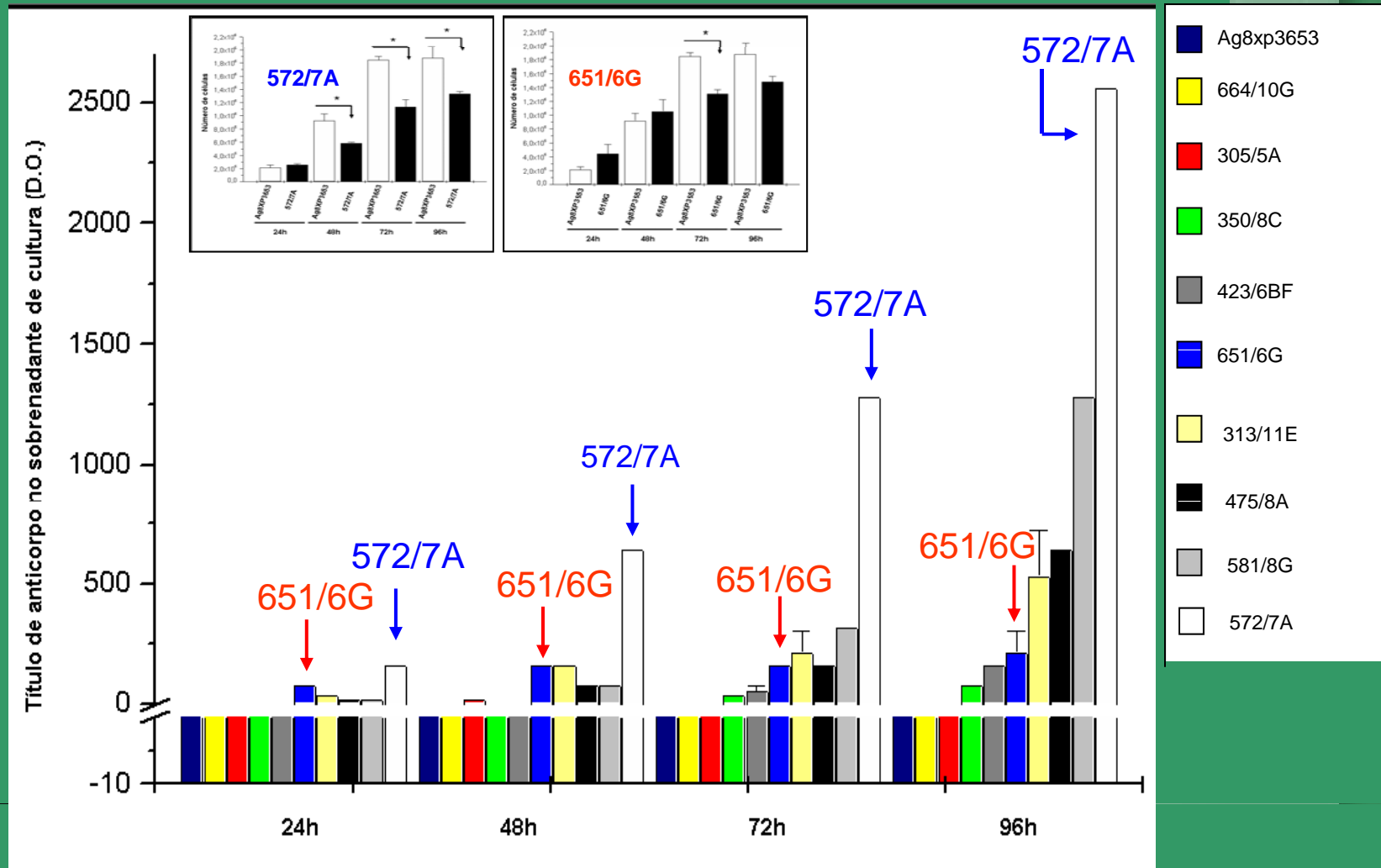
prM/E





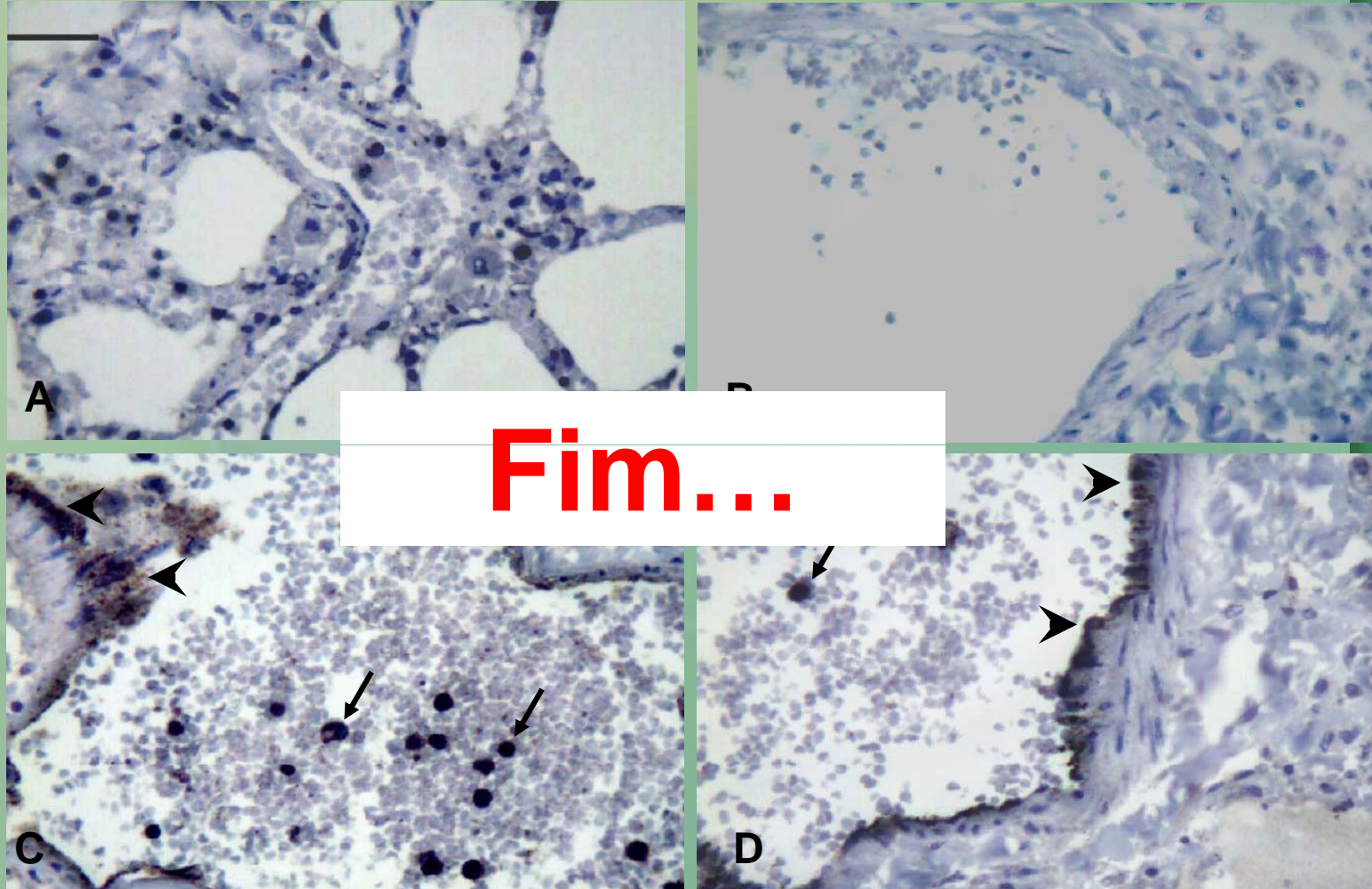
### 3. Resultados - Ensaio dos mAbs anti-nucleoprotéina de Hantavirus

#### Crescimento Vs Secreção de mAbs



### 3. Resultados - *Imuno-histoquímica de um caso fatal de hantavirose*

mAb  
313/11E



Raboni *et al.*, Evidence of circulation of Laguna Negra-like hantavirus in the Central West of Brazil: case report. J Clin Virol. 2009 Jun;45(2):153-6.