

Análise do efeito das nanopartículas de sílica mesoporosa SBA-15, SBA-16 e Grafeno na detecção de *Neisseria meningitidis* e Zika Virus por qPCR.

Bruno Gaia Bernardes*, Marcelo Lancellotti.

Resumo

*Ambos os patógenos são de grande importância para a epidemiologia global atualmente, uma vez que as meningites bacterianas são as causadoras de dezenas de milhares de mortes anualmente, sendo uma das bactérias causadoras de meningite a *Neisseria meningitidis* e a infecção de gestantes pelo Zika Virus (ZIKV) está relacionado com o nascimento de crianças com microcefalia (OMS, 2016), assim como possui relação com a síndrome de Guillain-Barré, bem como a possibilidade de infecção por troca de fluidos, como a amamentação, por exemplo.*

Por conta disso, o presente trabalho procura o nanodiagnóstico como ferramenta para reduzir tais dificuldades, utilizando de nanopartículas para auxiliar na replicação do código genético do patógeno via PCR (objetivo de estudo anterior) ou qPCR, seja ele DNA ou RNA. O nanodiagnóstico é a utilização da nanotecnologia para fins de diagnóstico clínico, que busca atender a necessidade de um diagnóstico clínico veloz e ser mais sensível aos diferentes tipos de doenças, através de métodos mais sensíveis, robustos e reprodutíveis, tornando-os adequados e aplicáveis em locais com poucos recursos, como áreas rurais de países em desenvolvimento, em situações de campo, como em epidemias (Syed 2013).

Palavras-chave:

*Zika Virus, nanopartícula, *Neisseria meningitidis*, detecção, qPCR.*

Introdução

As meningites bacterianas podem ser facilmente confundidas, em termos de sintomas iniciais, com uma série de outras infecções, o que pode retardar o tratamento correto ou ainda induzir a um diagnóstico errôneo, que pode ser reduzido com o diagnóstico laboratorial, no entanto a cultura, que é considerada como “padrão ouro” em infecções bacterianas e que chega a identificar de 70 a 85% dos casos de meningites tem sua taxa de identificação reduzida para valores inferiores a 50% em pacientes já medicados com antibióticos, o que dificulta a identificação, o tempo de ação e a medicação correta (Teló et al, 2007).

O ZIKV também possui problemas no diagnóstico, uma vez que toda a família *Flaviviridae* possui grande familiaridade estrutural e de sintomas que, associado ao fato da dengue ser uma doença comum no país, leva os médicos a diagnosticarem pacientes com ZIKV como um quadro de dengue, o que pode ser especialmente problemático por conta da relação entre casos de microcefalia em recém nascidos mencionado acima, assim como sua relação com a síndrome de Guillain-Barré, bem como a possibilidade de infecção por troca de fluidos, como a amamentação, por exemplo.

Resultados e Discussão

De acordo com os gráficos a seguir, é possível observar que a adição de nanopartículas de grafeno ou de sílica mesoporosa (SBA-15 e SBA-16) no qPCR auxilia na redução de ruídos e na aproximação das curvas de replicação das triplicatas.

Inicialmente foi utilizado uma quantidade de nanopartícula relativa a 50ng/ul, observado em estudos anteriores, ser a melhor concentração destas nanopartículas para a utilização em PCR convencional. Baseado nisso foi-se feito a análise do ZIKV com 50ng

de nanopartícula por ul, enquanto na análise da *Neisseria*, utilizou-se 25ng/ul e 100ng/ul.

Conclusões

Pudemos ver com os resultados, que nas concentrações mais altas de DNA, a ação das nanopartículas é pequena, uma vez que a diferença entre as curvas de amplificação é pequena tanto com quanto sem nanopartículas. No entanto, em concentrações menores de DNA na reação (imagens 17 a 32), a ação das nanopartículas fica mais evidente, uma vez que as curvas das amostras com nanopartículas ficaram muito mais próximas que as das amostras sem nanopartículas. Com base nesses dados, poderia-se utilizar tais nanopartículas para reduzir a chance de erro nas amplificações por RTqPCR, reduzindo principalmente o número de diagnósticos errôneos mesmo após verificação do mesmo via RTqPCR, especialmente em casos onde a infecção se encontra fraca, seja por tempo de exposição ou uso de medicamentos

Espera-se no futuro fazer a análise a partir de soro de indivíduos infectados, para poder afirmar se a ação das nanopartículas também se mantém quando extraído diretamente do soro.

Agradecimentos

CNPQ-Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, SAE-Serviço de Apoio ao Estudante.

SYED, M.A. Advances in nanodiagnostic techniques for microbial agents. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013. 51:391-400.

Teló, E. P. et al. Determinação do limite mínimo de detecção da técnica de pcr “seminested” para *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*. *RBAC, Porto Alegre*, vol. 39(3): 2007, 197-200.

Atenção: O arquivo não poderá ultrapassar 1 página.