

REA 11 - Construção de proteínas quiméricas multi-epítomos para emprego em testes sorológicos para o diagnóstico da doença de Chagas

Andressa da Matta Durans^{1,2,3,4*}; Flávia Coelho Garcia dos Reis^{1,2,3}; Paloma Napoleão Pêgo^{1, 2, 5}; Isis Campos Prado^{1, 2, 5}; Angela Cristina Verissimo Junqueira⁴; Salvatore Giovanni De Simone^{1,2,5}; David William Provance-Jr.^{1,2,3}.

1- CDTS / Fiocruz;

2- INCT, Inovação em Doenças de Populações Negligenciadas;

3- IOC / Fiocruz, Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas;

4- IOC / Fiocruz, Laboratório de Doenças Parasitárias;

5- Universidade Federal Fluminense.

Introdução:

O diagnóstico precoce da infecção por *Trypanosoma cruzi* é necessário para início imediato do tratamento, evitando-se o aparecimento da doença de Chagas. Os testes sorológicos empregados embora rápidos, ainda podem apresentar reatividade cruzada e baixa sensibilidade em algumas regiões, como encontradas no estado do Amazonas. Sabe-se que o desempenho dos testes sorológicos varia de acordo com o tipo e qualidade da preparação dos antígenos utilizados para a detecção de anticorpos anti-*T. cruzi*. Nesse contexto, o nosso estudo foi concebido para concentrar em um único alvo proteico quimérico epítomos abrangentes de proteínas de *T. cruzi* que são específicos e apresentam uma alta capacidade de ligação a anticorpos.

Objetivo:

Produzir uma proteína quimérica carreando epítomos de várias proteínas de *T. cruzi* e que sirva de alvo em testes sorológicos.

Metodologia:

Os epítomos B lineares inseridos na poliproteína foram selecionados de um conjunto de estruturas previamente identificadas experimentalmente, tanto em nosso laboratório quanto da literatura, e que representam cepas de diferentes regiões geográficas. A poliproteína foi construída contendo um cerne estrutural que permite a inserção de dez epítomos. Um gene foi gerado sinteticamente e a poliproteína expressa foi purificada usando cromatografia de afinidade e sua reatividade frente a soros de pacientes com

doença de Chagas, Leishmaniose e dengue avaliada por western-blot e ELISA. Para estudarmos a contribuição e importância de cada epítipo na reatividade da poliproteína, dez proteínas quiméricas mutadas individualmente foram produzidas e analisadas como descritas anteriormente.

Resultado:

Os estudos de ELISA com a plataforma inteira mostraram uma especificidade de 98,55%, e uma sensibilidade de 86,11%. Por sua vez, a análise (por ELISA) das dez plataformas poliproteicas (mutadas individualmente), mostra que induziram diferentes graus de reatividades com os soros de pacientes. Além disso, uma pequena reatividade contra o cerne proteico bacteriano foi detectada.

Conclusão:

Os estudos mostraram que alguns epítipos influenciam estruturalmente na reatividade dos anticorpos e sugerem que a baixa sensibilidade pode estar relacionada à conformação do núcleo cerne. Das análises realizadas até o momento, podemos destacar a identificação de três proteínas quiméricas com grande potencial de serem usadas como ferramentas sorológicas diagnósticas para a doença de Chagas, e que abrangem se não todas, a maioria das DTUs (discrete typing units) das regiões endêmicas do Brasil. O próximo passo, será validar as três poliproteínas com soros das Referências Biológicas da OMS, e soros obtidos de diversos LACENs.

Palavras-chave: Doença de Chagas; Diagnóstico; Proteína quimérica