

## **REA.09 - Mapeamento de epítomos de seis proteínas da membrana externa de *Leptospira interrogans* usando tecnologia de síntese peptídica de alto rendimento**

Priscila de Simone Gonçalves<sup>1\*</sup>; Paloma Napoleão-Pêgo<sup>1</sup>; Patricia Fernandes Ferreira<sup>1</sup>; Andre Luis Almeida Souza<sup>2</sup>; Salvatore Giovanni De-Simone<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Fiocruz/CDTS;

<sup>2</sup>Fiocruz/IOC.

### **Introdução:**

A leptospirose é uma zoonose emergente de nível global e de grande importância, causada por infecção com espécies de *Leptospira* patogênicas, merecendo destaque principalmente nos países em desenvolvimento. Recentemente, casos endêmicos e epidêmicos de hemorragia pulmonar grave têm sido reconhecidos como mais uma importante manifestação relacionada à leptospirose. O diagnóstico precoce na fase aguda da infecção é importante e necessário para se iniciar a antibioticoterapia. Vários ensaios de ELISA foram desenvolvidos para o diagnóstico em humanos e animais. Entretanto estes testes são frequentemente empíricos e apresentam baixas sensibilidade e especificidade, principalmente na fase aguda da infecção. As proteínas de membrana externa (OMPs) predominam na membrana externa da bactéria e são altamente conservadas entre as diferentes espécies de *Leptospira*. Portanto, essas OMPs são importantes alvos para o desenvolvimento de novos testes de diagnóstico.

### **Objetivo:**

Mapear todos os epítomos IgG de 6 proteínas de *L. interrogans*, identificando os epítomos de reação cruzada e específicos para compor insumo para o desenvolvimento de um novo teste de diagnóstico sorológico rápido e específico.

### **Metodologia:**

Uma biblioteca de 321 peptídeos cobrindo toda a extensão de 6 proteínas (LipL32, LipL41, LipL49, ISD, LigB e LigS), com um comprimento de 15aa e sobreposição de 9 resíduos foi sintetizada em membranas celulósicas através da técnica de *Spot-synthesis* e confrontada em banco de proteínas, usando ferramentas de bioinformática, para identificar possíveis reações cruzadas. A especificidade foi confirmada através de ELISA, usando quimeras sintéticas

produzidas por síntese química e soros de pacientes com diversas doenças hemorrágicas febris.

### **Resultado:**

Foram identificados 34 epítomos IgG abrangendo toda a extensão das 6 proteínas de *L. interrogans*, entretanto a LipL49 (10) foi a OMP que apresentou maior antigenicidade seguida da serino protease (9) e peptidase sinal (7). A LipL32 foi a proteína com maior número de epítomos específicos. O ELISA usando três quimeras sintéticas mostrou a especificidade frente a soros de pacientes com diversas patologias hemorrágicas.

### **Conclusão:**

A reatividade cruzada revelada por algumas das OMP analisadas e a especificidade de outro pequeno, mas significativo, número de epítomos indicam a possibilidade concreta de serem obtidos insumos com potencial de desenvolvimento de novos ensaios diagnósticos imunológicos mais específicos para o desenvolvimento de testes diagnósticos para a leptospirose. Esforços estão sendo empreendidos para a construção de uma quimera molecular através de tecnologia de DNA recombinante para uso diagnóstico.

**Palavras-chave:** *Leptospira interrogans*; epítomos; diagnóstico