

**TÍTULO:** AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE PROTEÍNAS QUIMÉRICAS NO IMUNODIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO CRÔNICA CAUSADA PELO TRYPANOSOMA CRUZI

**AUTOR(ES):** FRED LUCIANO NEVES SANTOS, PAOLA ALEJANDRA FIORANI CELEDON, WAYNER VIEIRA SOUZA, EDIMILSON DOMINGOS SILVA, VIRGINIA MARIA BARROS DE LORENA, NILSON IVO TONIN ZANCHIN, MARCO AURELIO KRIEGER, YARA DE MIRANDA GOMES

**INSTITUIÇÃO:** FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

O diagnóstico da doença de Chagas crônica (DCC) baseia-se em metodologias que usam em sua fase sólida antígenos brutos, semipurificados ou recombinantes, podendo resultar em baixa sensibilidade ou reação cruzada. Uma forma para resolver este problema é o uso de quimeras formadas por epítomos conservados e repetitivos de diferentes estruturas parasitárias em uma única molécula. O nosso objetivo foi caracterizar e avaliar o uso de quimeras em imunoenaios para o diagnóstico da DCC. As quimeras, IBMP-1, IBMP-2, IBMP-3 e IBMP-4 foram clonadas em vetores pET28a, expressos em *E. coli*, purificados por meio de cromatografia, sendo a pureza avaliada por SDS-PAGE. Ensaio de dicroísmo circular (DC) e espalhamento dinâmico da luz (DLS) foram usados para avaliação do raio hidrodinâmico das quimeras, avaliação de sua estabilidade e escolha do sistema tampão que oferecesse o menor estado de agregação molecular. Ensaio sorológico para detecção de anticorpos anti-*T. cruzi* através de ELISA foram realizados utilizando um painel de 862 amostras positivas para a DCC e 687 negativas. Para avaliação de reação cruzada foram usadas 948 amostras de diversas doenças endêmicas no país. A purificação foi eficiente uma vez que a SDS-PAGE indicou ausência de contaminação por proteínas de *E. coli* e estabilidade às proteases bacterianas. As análises de DC e DLS mostraram que as quatro quimeras apresentaram menor estado de agregação em tampão carbonato pH 9,6, sendo, assim, este o sistema para a sensibilização das placas. Os ensaios sorológicos revelaram valores elevados de sensibilidade (S) e especificidade (E) para a molécula IBMP-4 (S-99,3%; E-100%). O desempenho para as demais moléculas foi satisfatório, ficando os valores de S e E acima de 93%. A molécula IBMP-1 apresentou 1,2% de reação cruzada, a IBMP-2 2,2% e as demais moléculas 0,6%. Os resultados apontam que as quimeras atingiram os critérios de proficiência da ANVISA podendo, dessa forma, ser utilizados em ensaios diagnósticos a DCC.

**Palavras-chave:** Doença de Chagas, Diagnóstico sorológico, proteínas quiméricas, antígenos recombinantes

**Apoio Financeiro:** CNPq, FACEPE, FIOCRUZ