

OTR 01 - Mapeamento dos Epitopos B lineares da proteína ALT-2 de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877)

Verônica Gonçalves Mendes^{1*}; Salvatore Giovanni De Simone²; André Luis Almeida Souza²; Paloma Napoleão Pêgo¹.

1 Fiocruz;

2 CDTS / Fiocruz.

Introdução:

A identificação de epitopos em proteínas reconhecidas por anticorpos clinicamente relevantes é útil para o desenvolvimento de diagnósticos e vacinas à base de peptídeos. Neste estudo, tivemos como objetivo mapear os epitopos de células B lineares da proteína ALT-2 (*Abundant Larval Transcript-2*) do verme *Wuchereria bancrofti*, agente infeccioso da filariose linfática (bancroftose).

Objetivo:

Geral: Mapear os epitopos B lineares da proteína ALT-2 (D3JEM9) de *Wuchereria bancrofti*. Específico: 1. Construir uma biblioteca peptídica e identificar os epítopos B lineares da proteína ALT-2; 2. Desenhar peptídeos sintéticos e avaliar sua antigenicidade utilizando um painel de soros humanos provenientes de área endêmica; 3. Avaliar, utilizando ferramentas de bioinformática a especificidade dos epitopos; 4. Desenvolver um teste de ELISA indireto empregando peptídeo(s) sintético para possível diagnóstico sorológico.

Metodologia:

Uma biblioteca de 24 peptídeos sintéticos cobrindo toda a extensão da sequência da proteína ALT-2 da larva L3 de *Wuchereria bancrofti* foi sintetizada em solução usando a estratégia F-moc e analisada por uma matriz-peptídica puntiforme (*Spot*) usando soros de pacientes com *Wuchereria bancrofti*. Os epitopos foram identificados através da sobreposição dos arranjos positivos e os peptídeos selecionados, representando os epítopos, foram analisados por um ensaio imunoenzimático indireto baseado em peptídeos. A especificidade e sensibilidade dos ensaios imunoenzimáticos foram determinados pela curva ROC. A presença de reações cruzadas dos epitopos com outros organismos foi avaliada utilizando-se ferramentas de bioinformática.

Resultado:

A estratégia empregando a síntese em solução de uma biblioteca de peptídeos e a matriz puntiforme permitiu identificar com sucesso seis determinantes antigênicos da proteína ALT-2 reconhecidos por anticorpos IgG. Os estudos de bioinformática sugeriram que os epitopos E-1, E-2 e E-6 são exclusivos de *Wuchereria bancrofti*, enquanto que o epitopo E-3 apresenta similaridade com uma sequência presente nas proteínas de *Brugia malayi*, *Loa Loa* e *Ascaris suum*. Subsequentemente, os peptídeos que representam os epitopos E1(P-4), E-3(P-11), E-4(P-14), E-5(P-18) e E-6(P-22) foram analisados por ELISA. O antígeno (E-5) P-18 apresentou a maior sensibilidade e especificidade, 100% e 98%, respectivamente. Enquanto o antígeno P-4(E-1) mostrou uma especificidade de apenas 86%.

Conclusão:

Os epitopos reconhecidos pelos anticorpos anti-*Wuchereria bancrofti* foram localizados com precisão na estrutura da proteína ALT-2. Os resultados da análise de um painel de 44 soros de pacientes através do ELISA-baseado em peptídeos, representando estes epítopos, sugerem fortemente que as sequências de E1, E-2 e E-6 são as mais úteis para o desenvolvimento de novos testes diagnóstico para detectar a filariose linfática causada pela *Wuchereria bancrofti* com maior sensibilidade e especificidade.

Palavras-chave: *Wuchereria bancrofti* ; Peptídeo; ELISA.