



Utilização de proteínas quiméricas na identificação de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* em indivíduos infectados por diferentes cepas do parasita

Eva Dopico¹; Rodrigo Del-Rei²; Paola Celedon³; Laura Guerrero⁴; Teresa Vinuesa⁴; Nilson Zanchin⁵; Yara Gomes⁶; Fred Santos²

¹ Institut Català de La Salut, Barcelona, Espanha; ² Instituto Gonçalo Moniz - Fiocruz-BA; ³ Instituto de Biologia Molecular do Paraná – IBMP; ⁴ Universitat Barcelona, Barcelona, Espanha; ⁵ Instituto Carlos Chagas - Fiocruz-PR; ⁶ Instituto Aggeu Magalhães - Fiocruz-PE

INTRODUÇÃO

O *Trypanosoma cruzi*, agente causador da doença de Chagas, apresenta elevado polimorfismo genético, podendo levar a variações na resposta imune do hospedeiro. Por conta desta característica, variações regionais na sensibilidade dos testes diagnósticos já foram relatadas. Uma alternativa para superar esta dificuldade consiste no uso de antígenos quiméricos constituídos por epítopos conservados e repetitivos de diversas proteínas do parasito, aumentando a possibilidade de interação com anticorpos anti-*T. cruzi* de diferentes especificidades.

OBJETIVO

Avaliar a utilização das proteínas quiméricas IBMP-8.1 e IBMP-8.4 no diagnóstico da doença de Chagas em portadores crônicos do Brasil e em imigrantes bolivianos residentes em Barcelona - Espanha.

MATERIAIS E MÉTODOS

As quimeras foram clonadas em vetores pET28a, expressas em *Escherichia coli* BL21-Star e purificadas por meio de cromatografia de troca iônica e de afinidade. As amostras séricas de indivíduos infectados foram oriundas da Bahia (n = 65), Goiás (n = 70), Minas Gerais (n = 58), Paraná (n = 36), Pernambuco (n = 596) e de imigrantes bolivianos residentes em Barcelona/Espanha (n = 347). Adicionalmente foram utilizados dois painéis comerciais internacionais (*Boston Biomedical Inc* e *Sera-Care Life Sciences Inc*) contendo amostras da Nicarágua (n = 3), México (n = 2), Honduras (n = 1), Guatemala (n = 1) e Argentina (n = 1), além de 24 amostras do painel do Programa de Avaliação Externa de Qualidade (AEQ, Fiocruz-RJ).

Os imunossaios foram realizados através de ELISA indireto. Valores de ponto de corte foram determinados através da curva ROC e os dados expressos através da determinação do índice de reatividade (DO/CO). Amostras com índice de reatividade igual ou superior a 1.0 foram consideradas positivas. Valores de índice de reatividade iguais a 1.0 ± 10% foram julgadas na zona cinza.

RESULTADOS

A Tabela 1 ilustra valores de sensibilidade obtidos em ensaios com as quimeras IBMP-8.1 e IBMP-8.4 utilizando amostras de diferentes regiões geográficas do Brasil, painéis comerciais nacional e internacional e de imigrantes bolivianos residentes em Barcelona/Espanha. Valores de sensibilidade superiores a 99% foram obtidos em ensaios com a quimera IBMP-8.4, independente da origem geográfica das amostras. Por outro lado, a molécula IBMP-8.1 mostrou-se menos sensível, em especial para as amostras provenientes dos painéis internacionais. Considerando a sobreposição do IC a 95%, o parâmetro de desempenho avaliado não mostrou diferença significativa entre as amostras de origens distintas (Figura 1). Por outro lado, a média dos índices de reatividade das amostras dos bolivianos residentes na Espanha foram significativamente maiores daqueles encontrados para as amostras dos portadores brasileiros (IBMP-8.1: 4,15 vs. 2,85; IBMP-8.4: 3,16 vs. 2,59).

Tabela 1. Valores de sensibilidade obtidos utilizando amostras de diferentes regiões geográficas do Brasil e de Barcelona/Espanha

Origem	IBMP-8.1	IBMP-8.4
	Sensibilidade % [IC95%]	
Bahia (BA)	98,5 [91,8-99,7]	98,5 [91,8-99,7]
Goiás (GO)	97,1 [90,2-99,2]	100 [94,8-100]
Minas Gerais (MG)	94,8 [85,9-98,2]	100 [93,8-100]
Pernambuco (PE)	97,8 [96,3-98,7]	99,2 [98,1-99,6]
Paraná (PR)	97,2 [85,8-99,5]	100 [90,4-100]
Painel AEQ	100 [82,6-100]	100 [86,2-100]
Painel Internacional (PCI)	75,0 [40,9-92,9]	100 [67,6-100]
Barcelona/Espanha (BCN)	99,4 [97,9-99,8]	99,1 [97,5-99,7]

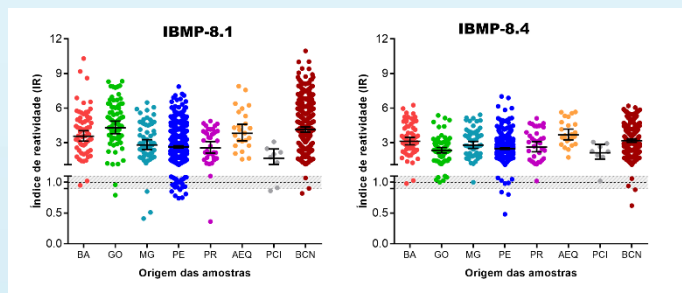


Figura 1. Índices de reatividade obtidos com amostras de indivíduos positivos para a doença de Chagas oriundos de diferentes regiões geográficas do Brasil e de Barcelona/Espanha

DISCUSSÃO

Os resultados demonstram elevada capacidade das quimeras em identificar indivíduos positivos para a doença de Chagas, tanto do Brasil (país onde circula o DTU TcII) quanto de imigrantes bolivianos residentes na Espanha (caracterizados por apresentar o DTU TcV), sugerindo que as moléculas identificam anticorpos anti-*T. cruzi* independentemente da linhagem circulante. Para confirmar nossa hipótese, iremos avaliar o potencial diagnóstico das quimeras utilizando amostras de indivíduos infectados com outras linhagens do parasita, como os DTUs TcI e TcIII.

REFERÊNCIAS

- Santos FL, et al. Performance assessment of four chimeric *T. cruzi* antigens based on antigen-antibody detection for diagnosis of chronic Chagas disease. PLoS One 2016; 11: e0161100.
- Santos FL, et al. Accuracy of chimeric proteins in the serological diagnosis of chronic Chagas disease - a Phase II study. PLoS Negl Trop Dis 2017; 11: e0005433.
- Santos FL, et al. Performance assessment of a *T. cruzi* chimeric antigen in multiplex liquid microarray assays. J Clin Microbiol 2017; 55: 293-45.