

072

IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS IMUNOGÊNICAS PARA PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE ELISA (ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY) COMO FERRAMENTA PARA DIAGNÓSTICO DA CRIPTOCOCOSE HUMANA. *Juliana Ferraz**Correa, Márcia Polese, Henrique Ferreira, Marilene Henning Vainstein (orient.) (UFRGS).*

Criptococose é uma micose oportunista, que acomete principalmente pacientes imunocomprometidos, com proporções relevantes com o aumento das enfermidades que comprometem o sistema imunológico. O presente estudo objetiva identificar proteínas imunogênicas específicas de *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* para a padronização do teste de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) para diagnóstico e monitoramento da criptococose humana. Após cultivo em caldo Sabouraud a 30°C, as células das leveduras foram lavadas, e centrifugadas, liofilizadas e maceradas em nitrogênio líquido para extração de proteínas totais. O extrato celular foi ressuspenso em tampão de extração (1M Tris HCl/0, 5M EDTA), as proteínas foram quantificadas pelo método de Bradford e visualizadas por eletroforese em SDS PAGE. Os ensaios de ELISA foram realizados com 0, 5µg de proteína por poço e uma diluição de soro primário de 1:500 utilizando-se soros de pacientes com criptococose (soros positivos); soros de indivíduos hígidos, soros de membros do laboratório expostos ao agente etiológico e soros de pacientes com outras micoses (soros negativos). Os soros testados apresentaram reatividade cruzada e falso-negativos nos testes preliminares, uma sensibilidade de 63% e especificidade de 72%. Para solucionar esses problemas, utilizou-se gel bidimensional (2D) seguido de *Western Blot*. No gel bidimensional foram utilizados 1200µg de extrato protéico total de *C. neoformans* var. *grubii* em uma faixa de pH de 4-7. Desse experimento foram selecionados 62 *spots* de proteínas imunogênicas que estão em processo de identificação/seqüenciamento a fim de se obter aquelas específicas de *C. neoformans* var. *grubii* para utilização como antígeno para diagnóstico da criptococose por ELISA. (CNPq).