

211

PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA IMUNO-ENZIMÁTICA (ELISA) PARA CRIPTOCOCOSE HUMANA: FERRAMENTA DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL. Juliana Ferraz Correa, Marcia Polese, Cristine Souza Goebel, 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 estudo objetiva desenvolver uma técnica econômica e eficiente para diagnóstico e acompanhamento clínico de pacientes com criptococose ocasionada por *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, *Cryptococcus neoformans* var. *grubbi* e *Cryptococcus gattii*. As leveduras foram cultivadas em 100ml de caldo Sabouraud a 30^o C por 20hs com aeração contínua e posteriormente as células foram lavadas por centrifugação, liofilizadas e maceradas em nitrogênio líquido para extração das proteínas totais. O extrato celular foi ressuspenso em uma proporção de 1:10 (p/v) em tampão de extração (1M Tris HCl/0, 5M EDTA) e as proteínas foram quantificadas pelo método de Bradford e visualizadas por eletroforese em SDS PAGE. Western blot e ELISA foram utilizados para a determinação das proteínas imunogênicas utilizando soros de pacientes com criptococose (soros positivos); soros de indivíduos hígidos, e soros de membros do laboratório expostos ao agente (soros negativos). O soro secundário utilizado foi IgG conjugado com peroxidase. Os resultados parciais demonstraram uma produção e extração de aproximadamente 1500 µg/mL de proteína por amostra. Nas eletroforeses conferiram-se em média 27 bandas distinguíveis. Na técnica de Western blot constatou-se que entorno de 12 antígenos apresentaram imunogenicidade frente a soros positivos. Os resultados iniciais de ELISA demonstraram um valor médio de DO de 0, 5 nos soros positivos e 0, 2 nos soros negativos, com exceção do *C. gattii* onde as DOs dos soros foram semelhantes (DO ~ 0, 2). Para confirmação dos resultados serão realizadas análises posteriores. (Fapergs).