

200

IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS IMUNOGÊNICAS PARA PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA IMUNO-ENZIMÁTICA (ELISA) COMO FERRAMENTA DE DIAGNÓSTICO DA CRIPTOCOCOSE HUMANA. *Juliana Ferraz Correa, Marcia Polese, 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*. Após cultivo em caldo Sabouraud a 30°C, as células foram lavadas por centrifugação, liofilizadas e maceradas em nitrogênio líquido para extração das proteínas totais. O extrato celular foi ressuspenso 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. 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 e soros de pacientes com outras micoses (soros negativos). Trinta e oito amostras de pacientes com criptococose foram testadas, sendo 60, 52% positivas e 39, 48% negativas para criptococose. Quarenta amostras de membros do laboratório foram analisadas, sendo 100% negativas. Foi encontrada reatividade cruzada frente a soros de pacientes com outras micoses, dos quais, 10 com histoplasmose, 9 com paracoccidiodomicose, 9 com candidose e 7 com aspergilose, apresentando 50%, 33, 3%, 0%, e 28, 57% de reatividade cruzada, respectivamente. Para solucionar esse problema Géis 2D de poliacrilamida seguido de Western Blot estão sendo utilizados para determinação de proteínas imunogênicas específicas de *Cryptococcus* que serão utilizadas como antígeno.