

Título: Imunonodiagnóstico da pneumonia por *Pneumocystis*: uma abordagem inovadora baseada na associação de biossensores antigénicos e nanopartículas de ouro.

Autores: ANA LUÍSA TOMÁS¹, FERNANDO CARDOSO¹, RICARDO FRANCO² e OLGA MATOS¹

Afilições: 1Grupo de Protozoários Oportunistas/VIH e Outros Protozoários, Unidade de Parasitologia Médica, Global Health and Tropical Medicine, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa.

2UCIBIO, REQUIMTE, Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

Introdução

A pneumonia por *Pneumocystis* (PPc) é uma infeção causada por *Pneumocystis jirovecii*, um fungo atípico, capaz de provocar pneumonia intersticial severa em imunocomprometidos. O seu diagnóstico depende da recolha de espécimes respiratórios obtidos por técnicas invasivas e onerosas, pelo que o desenvolvimento de um teste de diagnóstico serológico é uma necessidade premente. *P. jirovecii* contém proteínas específicas, como a glicoproteína *major* de superfície (Msg) e a serina endopeptidase Kex1, que demonstram propriedades antigénicas reativas. Assim, a síntese de antígenos recombinantes sintéticos multiepítopo, que envolvam regiões antigénicas destas proteínas, é uma abordagem promissora no diagnóstico serológico da PPc.

Objetivo

Desenvolver um teste rápido imunocromatográfico para deteção de anticorpos circulantes anti-*P. jirovecii*, através da produção de antígenos recombinantes sintéticos multiepítopo específicos de *P. jirovecii* e sua conjugação com nanopartículas de ouro (AuNP) funcionalizadas.

Métodos

O desenho dos antígenos multiepítopo das proteínas Msg e Kex1 foi feito com base no estudo *in silico* da imunogenicidade da região C-terminal da Msg (GenBank: JN792933.1) e da sequência completa da Kex1 (GenBank: AY130996.1), através dos *softwares* ExpASY – ProtScale e CBS – TMHMM. Os antígenos sintéticos foram expressos em *E. coli* XJb (DE3) e



purificados por cromatografia de afinidade com iões metálicos de níquel. O antígeno sintético da Msg foi utilizado como ferramenta antigénica numa técnica de ELISA indireta otimizada para a deteção de anticorpos totais, IgG e IgM anti-*P. jirovecii*.

Resultados

Um antígeno sintético com três epítopos reativos da Kex1 e outro com três epítopos reativos da Msg foram produzidos. Os níveis de anticorpos IgM contra o antígeno sintético da Msg mostraram-se estatisticamente aumentados em doentes com PPc ($p = 0,001$). O teste ELISA para pesquisa de IgM anti-*P. jirovecii* mostrou, quando associado aos critérios de diagnóstico clínico, aplicabilidade no rastreio da PPc.

Conclusões

Foram produzidos dois antígenos recombinantes sintéticos específicos de *P. jirovecii*. O antígeno sintético da Msg mostrou aplicabilidade como biossensor da PPc. Trabalho futuro requer a avaliação do potencial do antígeno sintético da Kex1 como biossensor da PPc e a conjugação dos antígenos sintéticos com AuNP, que serão o núcleo do teste rápido a desenvolver.

Bibliografia

Tomás AL., *et al. Sci Rep.* doi: 10.1038/srep36287 (2016).