



Titulo: Caracterização da resposta imune humoral para a pesquisa de marcadores serológicos na malária.

Autores: Yorleydy Ruiz Moreno, Fátima Nogueira, Marcelo Silva

Afiliações: Unidade de Parasitologia Médica, *Global Health and Tropical Medicine*, Instituto de Higiene e Medicina Tropical – Universidade Nova de Lisboa.

Introdução

Os mecanismos de imunidade e proteção durante às infeções causadas por *Plasmodium sp* representam um grande desafio e prioridade de investigação no contexto da malária. Os estudos dos mecanismos de imunidade humoral e celular parecem ser de fundamental importância para na compreensão da interação parasita-hospedeiro, podendo contribuir na identificação de potenciais marcadores serológicos, uma importante etapa para o desenvolvimento de novos testes de diagnósticos e novas vacinas contra a malária (1).

Objetivos

Caracterizar a reatividade serológica e antigénica de amostras de soros obtidas de uma população de indivíduos com história clínica de malária;

Identificar proteínas e antígenos de *Plasmodium falciparum* envolvidos na manutenção da reatividade serológica durante a malária

Métodos

Foram analisadas 419 amostras de soros de indivíduos com história clínica de malária e 17 amostras de soros de indivíduos saudáveis, sem história clínica de malária. Foram realizadas a pesquisa de anticorpos (anticorpos totais, IgM, IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) anti-*Plasmodium falciparum* por imunoenaios ELISA. Pela técnica de *Western Blotting*, procurou-se fazer a caracterização imunológica dos antígenos de *Plasmodium falciparum* responsáveis por tais reatividades serológicas dos indivíduos infetados com *Plasmodium sp*. Para os imunoenaios, utilizou-se um extrato proteico total da estirpe 3D7 de *Plasmodium falciparum*, que foi obtido de acordo com o protocolo de Costa *et al.*, 2013 (2).

Os dados foram analisados usando o software Prism 6 (*GraphPad Software, Inc.*), as diferenças entre os níveis de anticorpos anti-*Plasmodium falciparum* IgG, IgM e subtipos IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 foram analisadas pelo teste de *Kruskal-Wallis*, foram feitas

comparações usando teste de *Mann-Whitney* ou ANOVA entre os níveis de anticorpos detetados nos indivíduos com malária; considerando significância estatística com $p < 0,0001$.

Resultados e Conclusões

Das 419 amostras de soros humanos analisadas, um total de 54,6 % (n=229) foram reativas por ELISA na deteção de anticorpos totais anti-*Plasmodium falciparum*. Das amostras com serologia positiva, 91,26 % (n=209) apresentou reatividade serológica para anticorpos do tipo IgG e 50,65 % (n= 116) para anticorpos do tipo IgM. Das amostras com serologia positiva para anticorpos do tipo IgG, foram analisadas na pesquisa dos subtipos de IgG (1,2,3,4) tendo um predomínio na deteção de IgG1 (21,4%) e IgG3 (20,5%). Relativamente aos dados de caracterização antigénica por *immunoblotting*, observou-se que os soros dos indivíduos com serologia positiva para a malária reagiram com proteínas de *P. falciparum* com massas moleculares na gama de 35- 70 KDa.

Com os dados preliminares deste estudo, pretende-se uma posterior caracterização imunogénica das frações proteicas de *P. falciparum* como potenciais alvos serológicos e antigénicos para o desenvolvimento de novas abordagens de diagnóstico e vacinas no contexto da malária.

Bibliografia

1. Hafalla JC, et al. Cell Biology and immunology of malaria. Immunological Reviews. 2001; 240 (1) 297-316.
2. Costa, R. M., Nogueira, F., De Sousa, K. P., Vitorino, R. and Silva, M. S. 2013. Immunoproteomic analysis of Plasmodium falciparum antigens using sera from patients with clinical history of imported malaria. *Malar J.* 12. p.100.