

RESUMO

A paracoccidiodomicose (PCM) é uma doença sistêmica, granulomatosa e endêmica da América Latina, cujo agente etiológico é o fungo *Paracoccidioides brasiliensis*. O diagnóstico da infecção é, principalmente, realizado por biópsia do tecido acometido. Diversos pesquisadores têm voltado seus esforços na tentativa de isolar antígenos capazes de diagnosticar, sorologicamente, pacientes com PCM, assim como desencadear uma resposta protetora à infecção. O antígeno Mexo, obtido a partir da *P. brasiliensis* foi capaz de extrair as proteínas extracelulares do fungo discriminar pacientes com PCM de indivíduos não infectados com sensibilidade de 100%. Além disso, pacientes em tratamento diminuem ou não mais reconhecem antígenos presentes no Mexo. Uma proteína de 28 kDa (Pb28), presente no Mexo, foi reconhecida por 100% dos soros de pacientes com PCM testados. Essa proteína se mostrou altamente específica à infecção, não sendo reconhecida por nenhum dos soros de pacientes com infecções diversas testados. A Pb28 foi purificada por FPLC e HPLC e a sequência de sua região N-terminal determinada. As análises de homologia e similaridade em bancos de dados demonstraram que a Pb28 corresponde a um *P. brasiliensis*. Utilizando a mesma estratégia de purificação novo antígeno de sequenciamento da região N-terminal, uma outra proteína de 29 kDa, também reconhecida por soro de pacientes com PCM, foi identificada. Essa proteína foi caracterizada como sendo o antígeno de 27 kDa do fungo (U41503.1), até então uma proteína hipotética, e denominada de Pb27r. A sequência de DNA codificadora para a proteína Pb27r foi amplificada, clonada e expressa em sistema de expressão pGEX-4T-2. Estudos imunológicos com a Pb27r purificada demonstraram que essa proteína é altamente sensível (80,5%) e específica (100%) à PCM em ensaios de ELISA com soros humanos. Ela ainda foi capaz de induzir resposta imunológica protetora, com alta produção de IgG2b, em camundongos Balb/C imunizados com a proteína e infectados com o isolado virulento do fungo, Pb18. Estudos bioquímicos da Pb27r determinaram a presença de 31,0% de estruturas - hélices; 10,7% de estruturas folha- β antiparalelas; 9,0% de estruturas folha- β paralelas ; 17,3% de estruturas " β -Turn"; 32,4% de estruturas randômicas. Anticorpos Anti-Pb27r foram capazes de localizar a proteína Pb27r na superfície do fungo. Esses resultados demonstram que ambas proteínas aqui estudadas, Pb28 e Pb27r, têm capacidade de discriminar pacientes com PCM podendo ser utilizadas em ensaios de imunodiagnóstico e, a Pb27r pode também ser usada na confecção de vacina contra o fungo.