

OTIMIZAÇÃO NA OBTENÇÃO DE ANTÍGENO DE *Histoplasma capsulatum* PARA O IMUNODIAGNÓSTICO DA HISTOPLASMOSE.

Freitas RS¹, Kohara VS^{2,3}, Passos AN^{2,3}, Assis CM⁴, Barreto LC², Mendes RP⁵, Vicentini-Moreira AP².

Laboratório de Micologia Médica Instituto de Medicina Tropical, São Paulo, SP¹, Laboratório de Imunodiagnóstico das Micoses-Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP²; Programa de Pós-Graduação em Ciências (PG-CCD-SES-SP), São Paulo, SP³, Divisão de Serviços Básicos, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP⁴, Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina, UNESP-Botucatu, SP⁵. E-mail: apardini@ial.sp.gov.br

O objetivo deste trabalho foi a padronização de uma preparação antigênica com as seguintes características: fácil obtenção, específica, estável e reprodutível. Células micelianas da amostra Hc200 foram cultivadas em ágar Sabouraud-dextrose durante 33 dias a 27°C, segundo Freitas (2005). Após este período, as culturas foram incubadas com solução mertiolato-borato (1:5000) por 24 horas, filtradas e concentradas 20 vezes. O perfil antigênico foi avaliado por SDS-PAGE e a especificidade do antígeno analisada por imunodifusão dupla (ID) frente a anticorpo policlonal homólogo e heterólogo; 40 amostras de soros reagentes para Hc por ID (Grupo 1); 25 soros de indivíduos com suspeita clínica de HP e não reagentes por ID (Grupo 2); 59 soros reagentes para *Paracoccidioides brasiliensis* por ID (Grupo 3) e 64 soros de indivíduos saudáveis (Grupo 4). A análise por SDS-PAGE revelou entre outras, a presença de frações protéicas com massa molecular entre 120-108 kDa e 97-70 kDa, correspondente às frações H e M de *H. capsulatum*, respectivamente. Por ID, verificamos a formação de duas linhas de precipitação quando o antígeno foi avaliado frente ao anticorpo policlonal homólogo e ausência de reatividade frente ao anticorpo heterólogo; 77,5% de positividade para amostras do Grupo 1 e 12% para o Grupo 2; 93% de ausência de reatividade para o Grupo 3 e 100% para o Grupo 4. A metodologia proposta para obtenção de antígenos de *H. capsulatum* confirma ser esta uma alternativa de baixo custo operacional, de fácil exeqüibilidade técnica, necessitando de menor período de tempo para sua produção. Além disto, verificamos que o ágar Sabouraud-dextrose constituiu-se em um excelente meio para a produção de antígenos e a utilização de solução mertiolato-borato se mostrou eficiente para a extração de componentes antigênicos, abrindo assim, perspectivas para laboratórios que não possuam condições para adquirir meios de cultura complexos produzam antígenos com bom nível de especificidade.

Suporte Financeiro: Instituto Adolfo Lutz (Projetos CTC-IAL # 107/97 e #06/04)