

## Resumen

*Trypanosoma cruzi*, el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, presenta una estructura poblacional compleja, con múltiples cepas genéticamente diversas agrupadas en 6 unidades discretas de tipificación (DTU), denominadas TcI a TcVI. Estas DTU presentan variaciones en sus características eco-epidemiológicas y, probablemente, también clínicas, por lo que la tipificación de la cepa infectante emerge como una necesidad en el área. El antígeno TSSA (*trypomastigote small surface antigen*) es el candidato más prometedor para la serotipificación de *T. cruzi* ya que presenta 'variantes' en las distintas DTU que generan firmas de anticuerpos diferenciales durante la infección. Estudios recientes en el laboratorio permitieron identificar y mapear dos aparentes epítopes B lineales (A y B) de localización casi solapada dentro de la región polimórfica, y antigénica, de TSSA. Para explorar las propiedades serodiagnósticas de estos epítopes putativos en este trabajo se desarrollaron proteínas recombinantes conteniendo distintas configuraciones: i) solo el epítope A; ii) solo el epítope B; iii) los epítopes A y B, en su disposición original; y iv) ambos epítopes, pero separados por un espaciador. Todas estas construcciones se generaron para las variantes TSSAII, III y IV (codificadas en los genomas de TcII/TcV/TcVI, TcIII/TcV/TcVI y TcIV, respectivamente), se expresaron en bacterias como proteínas recombinantes de fusión y se ensayaron por ELISA frente a un panel de sueros de pacientes infectados con *T. cruzi*. Los resultados en TSSAII validan los epítopes A y B, mostrando que son secuencias discretas, reconocidas por distintas poblaciones de anticuerpos y que, en conjunto y en líneas generales, logran recapitular la respuesta serológica de la TSSAII original. Además, se muestra que el epítope A es significativamente más inmunogénico que el B, tanto en términos de reactividad como de seroprevalencia (de los 82 sueros TSSAII-reactivos ensayados, 41 reconocen exclusivamente al epítope A (epitotipo A), 30 presentan reconocimiento mixto (epitotipo AB) y solo 1 muestra epitotipo B. La inmunodominancia del epítope A se extiende también a las variantes TSSAIII y TSSAIV. Más interesante, los epítopes A de las variantes de TSSA muestran mayor promiscuidad de reconocimiento serológico en comparación con los epítopes B, que son más específicos. Por último, se muestra que el agregado del espaciador mejora la performance diagnóstica de TSSAII ya que i) permite el rescate diagnóstico de sueros catalogados como 'negativos' por la TSSAII salvaje, sin espaciador; y ii) aumenta su reactividad frente a sueros de epitotipo AB pero no de epitotipo A o B. Este último punto sugiere que la disposición adyacente de los epítopes A y B en TSSA dificulta su reconocimiento simultáneo por los distintos anticuerpos. En conjunto, los resultados obtenidos aquí contribuyen a la caracterización antigénica de TSSA y aportan información valiosa y posibles herramientas para el refinamiento de los protocolos de serodiagnóstico y serotipificación de *T. cruzi* basados en esta molécula.

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*, enfermedad de Chagas (*chagas disease*), serotipificación (*serotipification*), TSSA: antígeno de superficie pequeño de tripomastigote (*trypomastigote small surface antigen*), DTU: unidades discretas de tipificación (*discrete typing units*).