



## **CONJUGAÇÃO DE ANTICORPOS POLICLONAIS ANTI-ESPÉCIE ATRAVÉS DE UMA TÉCNICA MODIFICADA**

**Autor(es):** DINIZ, Juliana Alcoforado; FELIX, Samuel Rodrigues; SEIXAS NETO, Amilton Clair Pinto; VASCONCELLOS, Flávia Aleixo; ALEIXO, José Antonio Guimarães; SILVA, Éverton Fagonde

**Apresentador:** Juliana Alcoforado Diniz

**Orientador:** Éverton Fagonde da Siva

**Revisor 1:** Silvana Beutinger Marchioro

**Revisor 2:** Simone Simionatto

**Instituição:** Universidade Federal de Pelotas

### **Resumo:**

Os testes sorológicos são ferramentas importantes na realização de diagnósticos e estudos epidemiológicos, uma vez que os anticorpos gerados na resposta imune de determinadas doenças infecciosas podem ser detectados no soro de humanos e animais por longos períodos. Entre estas provas sorológicas os testes de imunoadsorção enzimática (ELISA) são os mais utilizados, devido à sua sensibilidade e facilidade de execução. Além disso, o ELISA apresenta a vantagem da automação na leitura permitindo a análise de um grande número de amostras simultaneamente. Sendo assim, é importante que se desenvolvam insumos com baixo custo e eficazes, para execução destas técnicas nas mais diferentes espécies. O objetivo deste trabalho foi obter anticorpos anti-bovino conjugados à peroxidase capazes de ser utilizados em testes imunológicos, através de uma estratégia experimental prática. O soro de coelho anti-bovino, previamente produzido e purificado, foi submetido à conjugação com peroxidase. Para a preparação do conjugado modificou-se o protocolo descrito Immunochemical Protocols, no qual a enzima peroxidase foi modificada pelo Periodato de sódio e dializada contra tampão acetato de sódio por 16 horas a 4°C. Após, a enzima foi misturada à solução de IgG (anti-bovino) com carbonato de sódio, agitada por 2h a temperatura ambiente e adicionado Tetraborato de sódio, homogenizando-se por mais 2h. A gel filtração em coluna de sefarose, purificação indicada no protocolo, foi substituída pela precipitação com Sulfato de amônio o qual foi centrifugado, ressuspenso em PBS e novamente dializado. Para avaliação da qualidade do conjugado obtido foi realizado um ELISA indireto no qual a placa foi sensibilizada com soro bovino ou soro canino (controle), seguido do soro de coelho anti-bovino conjugado com peroxidase e por fim a reação foi revelada com substrato contendo OPD. Todas as etapas de purificação e conjugação foram executadas com sucesso. O ELISA executado para avaliar a qualidade do anticorpo conjugado evidenciou que, em diluições de 1:100 à 1:1600, o anticorpo produzido obteve densidades ópticas (DO) com 3 desvios padrões maiores (ou mais) do que os controles. Os resultados obtidos nesse trabalho mostram que é possível purificar de forma eficiente, anticorpos IgG, utilizando a precipitação com sulfato de amônio e conjugá-los com peroxidase. Esses anticorpos conjugados serão utilizados no diagnóstico laboratorial de doenças de bovinos.