



XXX Seminário de

INICIAÇÃO CIENTÍFICA

DA UFERSA

09 a 12 de dezembro de 2024

Núcleo de Avaliação: Núcleo I

Área temática: Ciências Biológicas

Área do Conhecimento: Imunologia

Desenvolvimento de ELISA utilizando proteínas recombinantes de *Corynebacterium pseudotuberculosis* para a linfadenite caseosa

Lúcia Larissa de Lima Andrade, Ana Karolina Melo Oliveira Barros, Mônica Ellen da Costa Soares, Gabriela Rebouças de Oliveira, Francisco Silvestre Brilhante Bezerra

Linfadenite caseosa (LC) trata-se de uma enfermidade crônica, causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis*, caracterizada pela formação de abscessos em linfonodos e vísceras, que acomete pequenos ruminantes. Na LC, o diagnóstico representa não somente uma forma de detecção da doença, mas também uma importante forma de controle, tendo em vista que a partir da identificação de um animal com LC, o mesmo deve ser removido do rebanho. A técnica de ELISA indireto com a associação de proteínas recombinantes vem sendo utilizada em ovinos e tem resultado em elevada acurácia diagnóstica. Os efeitos da associação dos antígenos rCP01850 e rCP40 em ELISA indireto para diagnóstico da LC em caprinos ainda não havia sido descrito, o que foi proposto neste trabalho. A padronização do ELISA indireto foi efetuada por meio do método *checkerboard titration* para estabelecimento das concentrações mais adequadas da combinação das proteínas recombinantes, dos soros e do anticorpo secundário. Para a validação do ELISA, foram utilizadas 80 amostras de soro caprino, sendo 40 caracterizadas como positivas, provenientes de caprinos nativos, que apresentavam LC clínica, confirmada através de diagnóstico microbiológico, e 40 como negativas, oriundas de caprinos com até 1 ano de idade sem sinais de LC e provenientes de região não-endêmica para a LC. Placas de poliestireno de 96 poços, foram sensibilizadas com 100 µL por poço contendo 2,0 µg/mL de proteínas recombinantes (na proporção 1:1 de rCP01850 e rCP40), diluída em tampão carbonato bicarbonato pH 9,6; as placas foram incubadas a 4° C durante 16 h. O bloqueio foi realizado com PBS-T com 5 % de leite em pó desnatado durante 2 h a 37° C. As amostras de soro foram utilizadas na diluição de 1:50, cada placa contando com um controle positivo, um controle negativo e um branco (apenas PBS-T sem soro animal), e incubado por 1 h a 37 °C. Foi feita a incubação de IgG anti-cabra marcado com peroxidase, na diluição de 1:5000, por 45 minutos a 37 °C. Para revelação, usou-se o tampão citrato-fosfato pH 4,0, OPD e peróxido de hidrogênio, com incubação por 15 minutos. As reações foram paradas com solução de ácido sulfúrico à 5 %, posteriormente, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 492 nm. Os resultados das absorbâncias foram expressos em média ± desvio padrão, e foi gerada uma curva ROC usando o software SPSS v. 12.0 (IBM), para o estabelecimento do ponto de corte e determinação dos valores de especificidade e sensibilidade. A curva ROC plotada demonstrou que em ponto de corte

de 0,254, obteve-se os valores máximos de sensibilidade de 85 %, de especificidade de 90 % e de acurácia de 92 %. Portanto, o ELISA indireto utilizando as proteínas recombinantes rCP01850 e rCP40 mostrou-se promissor enquanto método de diagnóstico de LC em rebanhos caprinos e pode ser um método auxiliar importante no controle e prevenção da doença nos rebanhos.

Palavras-chave: Ensaio Imunoenzimático; rCP40; rCP01850; Caprino; Diagnóstico

Agência financiadora: PIVIC

Campus: Mossoró
