

Padronização de ensaio imunoadsorvente ligado à enzima (ELISA) para detecção de IgG contra proteína recombinante composta por porções antigênicas de proteínas de *Anaplasma marginale* e de *Babesia bovis*

Laura Fick Rodrigues¹; Patrício Azevedo dos Santos¹; Robert Domingues²; Lenita Ramires dos Santos⁴; Claudia Cristina Gulias Gomes³; Emanuelle Baldo Gaspar³

O ensaio imunoadsorvente ligado à enzima, ELISA, é um teste que se destaca entre os métodos imunológicos desenvolvidos para detectar/quantificar a concentração de antígenos ou anticorpos em uma amostra. Dentre outras aplicações, este teste pode ser padronizado para detecção de anticorpos produzidos em resposta a antígenos vacinais. O objetivo deste trabalho foi padronizar um novo teste de ELISA, para avaliar a imunidade humoral, pela mensuração de IgG no soro de bovinos injetados com uma proteína recombinante, cuja sequência foi previamente selecionada a partir da análise de genes presentes em *A. marginale* e *B. bovis*. Esta padronização foi realizada no CPPSul. Às placas foram inicialmente adsorvidas a mesma proteína usada na imunização dos animais. Foram feitas duas placas, uma controle negativo (soros pré-imune) e outra controle positivo (soros coletados 30 dias após a 3ª dose da injeção da proteína). Foram feitas diluições seriadas, na base dois, tanto do antígeno (1/100 a 1/102.400), quanto do soro teste (1/50 a 1/3.200), por titulação cruzada. A diluição do antígeno foi fixada em 1/200, por ser uma diluição dentro do platô da curva de absorbância. Na sequência foi feita titulação cruzada do soro teste (1/50 a 1/51.200) versus anticorpo conjugado (1/2.500 a 1/160.000). Com base nas curvas de absorbância e na razão entre absorbância no soro positivo/ - negativo, as concentrações de soro e conjugado foram fixadas, respectivamente em 1/400 e 1/10.000. O método padronizado mostrou-se factível e de fácil execução permitindo análises de amostras individuais nos testes de vacinação com esta proteína recombinante.

Palavras-chave: genes; mensuração; conjugado; diluição; titulação cruzada

¹ Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, URCAMP, Bolsista CNPq.
laura.fickrodrigues@hotmail.com

² Analista da Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS. robert.domingues@embrapa.br

³ Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS. claudia.gulias@embrapa.br,
emanuelle.gaspar@embrapa.br

⁴ Pesquisadora da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. lenita.santos@embrapa.br