

Sanidade Animal

Refinamento de um teste imunológico sensível para o diagnóstico das lentiviroses de pequenos ruminantes⁽¹⁾

Antonia Tamara Rodrigues Leite⁽²⁾, Natiely Milly Ramos Gomes⁽³⁾, Eduarda Rose Moura Franca⁽²⁾, Francisco Guilherme Barros Costa⁽²⁾, Alice Andrioli⁽⁴⁾, Raymundo Rizaldo Pinheiro⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Trabalho realizado com apoio da Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). ⁽²⁾ Bolsista PIBIC/CNPq, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE. ⁽³⁾ Mestranda em Zootecnia, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, CE. ⁽⁴⁾ Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE.

Resumo - O objetivo do estudo foi a elaboração de um ensaio imunoenzimático destinado ao diagnóstico de lentivírus em pequenos ruminantes, utilizando cepas isoladas no Ceará e cultivos celulares para a produção de antígenos. Para isso, foram utilizadas células de membrana nictitante ovina, extraída de um cordeiro recém-nascido não infectado, que foram cultivadas em condições controladas até atingirem a confluência. Essas células foram infectadas com a cepa CAEV Ceará, resultando em forte efeito citopático e formação de sincícios e intensa lise celular. Após a confirmação da identidade viral através de PCR Nested, realizou-se a coleta do sobrenadante em três etapas, que incluíram: ciclos de congelamento e descongelamento e centrifugação para clarificação. Uma parte desse material foi destinada à produção de antígeno para a realização da imunodifusão em gel de ágar, enquanto o restante foi purificado para o teste de ELISA. A preparação do antígeno envolveu a precipitação proteica com PEG-8000, seguida de centrifugação e ultracentrifugação em um colchão de sacarose, e o material foi armazenado a -80 °C. No teste de ELISA indireto, placas foram sensibilizadas com diversas concentrações de antígeno, bloqueadas com caseína e incubadas com amostras nas diluições de 1:50 e 1:100. Isso foi seguido pela incubação com o conjugado anti-IgG caprino-peroxidase e pela revelação utilizando ortofenilenodiamina e peróxido de hidrogênio, com leitura final a 492 nm. Apesar de ajustes nas concentrações de antígeno e conjugado, os resultados apresentaram baixa reatividade e pouca diferenciação entre as amostras positivas e negativas, o que foi atribuído à limitada capacidade de sensibilização do antígeno e à baixa eficiência do conjugado.

Termos para indexação: doença infecciosa, lentiviroses de pequenos ruminantes, Western blotting, proteína – G.