

PERFIL IMUNOGÊNICO BIDIMENSIONAL DE ANTÍGENO DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA PRODUZIDO COM CEPA NATIVA DO ESTADO DO CEARÁ

Sousa, Ana Lídia Madeira de ¹; Azevedo, Dalva Alana Aragão de²; Araújo, Juscilânia Furtado³; Andrioli, Alice⁴; Sider, Lúcia Helena⁴; Pinheiro, Raymundo Rizaldo⁵.

¹ Aluna do curso de Biologia bacharelado da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, bolsista da Fundação Cearense de Apoio à pesquisa - FUNCAP;

² Mestranda em Zootecnia, Programa de pós-graduação da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA/Embrapa caprinos e ovinos ;

³ Aluna do curso de Biologia bacharelado da UVA, bolsista PIBIC/CNPq - Embrapa caprinos e ovinos;

⁴ Pesquisadora Embrapa Caprinos e Ovinos.

⁵ Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Orientador.

* Apresentador do pôster, e-mail: bio.analidia@gmail.com

O *Western Blot* (WB) é um teste de imunodiagnóstico indireto, que possui eficiência na detecção de anticorpo viral presente no sangue de animais infectados por Lentivirose de Pequenos Ruminantes (LVPR). Seu princípio consiste na separação das proteínas virais, através da técnica de eletroforese, transferência para membrana e realização de reação imunoenzimática. Este estudo avaliou o perfil imunogênico do antígeno da Artrite Encefalite Caprina (CAE), produzido com cepa oriunda do Estado do Ceará, utilizando a técnica do WB bidimensional (WB-2D). A produção de antígeno foi realizada através de cultivo de células de membrana sinovial caprina infectadas com o vírus supracitado. O sobrenadante produzido foi submetido à precipitação com PEG 8000 e depois ultracentrifugado em colchão de sacarose. Reidratou-se as *strips* de 13 cm com faixa de pH de 3-10, com antígeno por 16 horas, seguida da focalização isoelétrica, por cerca de seis horas. Após a focalização, foram armazenadas em freezer a -80°C.

Posteriormente, as *strips* foram submetidas à eletroforese (SDS-PAGE) em gel de poliacrilamida a 12,5%. O gel foi então transferido por meio passivo para membrana de nitrocelulose (MN). A MN foi bloqueada com PBS-Tween 0,3% por 60 minutos. O soro positivo do kit americano (*CAE/OPP Antibody Test Kit, Veterinary Diagnostic Technology, Inc?, USA*) foi incubado por 30 minutos à 37°C. Lavou-se por 3 vezes durante 5 minutos, cada. Colocou-se o conjugado (coelho anti cabra – peroxidase) diluído 1:12000, por 60 minutos. Lavou-se com PBS-Tween 0,05% por 3 vezes e com PBS puro por 2 vezes, durante 5 minutos, cada. Revelou-se com a mistura de DAB (0,1% em PBS) a uma solução de 4-cloronaphtol (0,5%), metanol (20%) em PBS e mais a adição de H₂O₂ (0,04%), por 10 a 15 minutos. Após a revelação, foram observados diversos *spots* com resposta imunogênica, os quais variaram em valores de massa molecular e pH, difundidos em caráter básico, neutro e ácido. Apresentaram-se reativos no WB-2D, *spots* que possivelmente referir-se as proteínas imunogênicas do WD-1D: gp135, gp45, p28, p19 e p15. Cerca de 12 *spots* apresentaram reação imunogênica, a maioria desses se encontram na mesma faixa de peso molecular da proteína p28, porém em valores de pH diferentes. O uso do WB-2D permitiu a determinação do perfil de massa molecular e ponto isoelétrico das proteínas imunogênicas do CAEV cepa nativa cearense. O teste revelou que proteínas em mesma faixa de massa molecular podem apresentar PI diferentes o que provavelmente possa referir-se a diferentes epitopos do antígeno.

Palavras-chave: Caprinos, lentivirose, imunodiagnostico, eletroforese 2D.

Suporte financeiro: Embrapa, CNPq, FUNCAP, Banco do Nordeste.