VII EAITI 2017 ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA | 09 e 10 de novembro de 2017

ANÁLISE IMUNOQUÍMICA DE ANTICORPOS IGY ANTI NUCLEOPROTEÍNA DO VÍRUS DA INFLUENZA SUÍNA H1N1

Beatriz Santana Codognoto/Fundação Araucária/UEL, Emerson José Venancio,
E-mail:emersonj@uel.br
Universidade Estadual de Londrina / Centro de Ciências Biológicas.

Ciências Biológicas, imunologia.

Palavras Chave: *Influenza A, IgY, imunodiagnóstico.*

Resumo

A influenza A é uma doença que acomete a saúde de humanos e animais. Anticorpos IgY tem sido usado como alternativa à produção de anticorpos em mamíferos em testes de diagnóstico. Este projeto teve como objetivo a produção e caracterização de anticorpos IgY contra a nucleoproteína do vírus da Influenza A. Para isto, amostras da proteína recombinante produzidas pela EMBRAPA Suínos e Aves foram utilizadas para imunização de galinhas para a produção de anticorpos IgY específicos. Estes anticorpos foram caracterizados imunoquimicamente por ELISA e Western-blot. Os resultados mostram que os animais produziram altos níveis de anticorpos anti-NP e apresentaram uma alta especificidade. Os anticorpos produzidos serão utilizados para testes de diagnóstico para influenza H1N1 em suínos.

Introdução

A influenza é uma doença viral zoonótica capaz de acometer a saúde de uma grande variedade de animais. O RNA viral é encapsulado pela nucleoproteína (NP), que é uma proteína altamente conservada entre os vírus da gripe A[1]. A NP vem sendo utilizada em kits de diagnóstico e esses kits têm como base a produção de anticorpos policlonais em mamíferos. Devido a preocupações relacionadas ao bem-estar animal, alternativas a produção de anticorpos em mamíferos têm sido investigadas[2]. As galinhas são uma fonte de anticorpos policlonais de alta qualidade, que podem ser obtidos de forma não invasiva a partir de gemas de ovo[3]. Este projeto teve como objetivo a produção e caracterização de anticorpos IgY contra a proteína NP do vírus da Influenza A.

Material e Métodos

Os animais foram imunizados com 20µg da proteína recombinante NP fornecida pela EMPRAPA Suínos e Aves, por via intramuscular. Os ovos foram coletados durante 7 dias após a 3ª, 5ª e 7ª imunização. Para extração da IgY foi utilizado o protocolo de precipitação com sulfato de amônia, descrito por AKITA e NAKAI (1992) com modificações. A pureza das soluções de IgY obtidas foram analisadas por eletroforese SDS-PAGE 10% com coloração por *Comassie brillant blue*. A determinação dos níveis de anticorpos contra NP do vírus foi feito pelo método de ELISA indireto. Para a avaliação da especificidade da IgY anti-NP foi utilizado o método de Western-blot.

Resultados Obtidos

Resultados da eletroforese SDS-PAGE 10% mostraram moléculas de massa molecular de aproximadamente 65 kDa e 23 kDa, correspondendo as cadeias pesadas e leves dos anticorpos IgY. Os níveis de anticorpos aumentaram após a imunização inicial e os títulos de anticorpos foram maiores em galinhas imunizadas quando comparadas a galinhas não imunizadas. Foi observado que os anticorpos exibiram por Western-blot reatividade específica contra a NP do vírus H1N1.

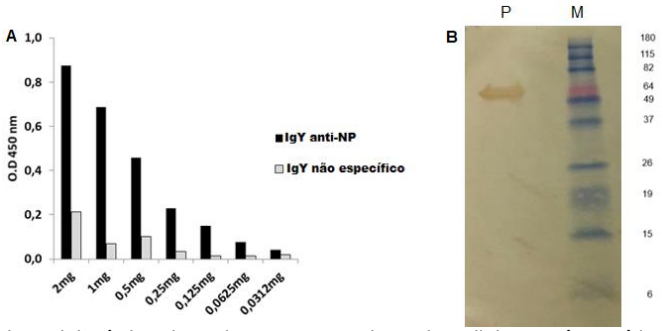


Fig 1. (A) Títulos de anticorpos IgY anti-NP de galinhas após a sétima imunização e galinhas não imunizadas. (B) Reconhecimento da proteína NP do vírus H1N1 por anticorpos IgY. M- marcador, P- IgY anti-NP.

Conclusão

Os resultados obtidos mostram a produção de anticorpos IgY com reconhecimento específo da NP de H1N1. O resultado desse estudo mostra a possiblidade da aplicação de IgY em testes de imunodiagnóstico do vírus influenza A.

Agradecimentos

A Fundação Araucária pelo financiamento do projeto. A EMPRAPA Suínos e Aves pelo fornecimento da NP do vírus suíno.

---

[1]BRENTANO L., CIACCI-ZANELLA J.R., MORES N. & PIFFER I.A. **Levantamento soroepidemiológico para Corona vírus Respiratório e da Gastroenterite Transmissível e dos Vírus de Influenza H3N2 E H1N1 em rebanhos suínos no Brasil**. Comum. Téc. 306, Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, p.1-6.2002.

[2]KARLSSON, M.; KOLLBERG, H.; LARSSON, A. **Chicken IgY: utilizing the evolutionary advantage**. World's Poultry Science Journal, Vol. 60, 2004.

[3]GADDE, U.; RATHINAM, T.; LILLEHOJ, H.S. **Passive immunization with hyperimmune egg-yolk IgY as prophylaxis and therapy for poultry diseases - A review**. Anim Health Res Rev. 16(2): p 163-76, 2016.