

PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DE ANTICORPOS POLICLONAIS IgY ESPECÍFICOS PARA *LEISHMANIA AMAZONENSIS*

PRODUCTION AND PURIFICATION OF POLYCLONAL IgY ANTIBODIES SPECIFIC TO *LEISHMANIA AMAZONENSIS*

L. F. V. BLANCO¹, R. P. RIBEIRO¹, J. E. MENEHINI¹, M. MATEUS¹, M. A. SANTOS²,
T. L. TEIXEIRA², J. P. SANTOS¹, C. V. SILVA², A. FERREIRA JUNIOR^{2*}

RESUMO

Os objetivos foram: (i) produzir anticorpos policlonais IgY contra o antígeno total de promastigotas (ATPro) de *Leishmania amazonensis*; (ii) purificar anticorpos da gema do ovo de galinhas imunizadas; (iii) avaliar a qualidade da purificação; e (iv) diagnosticar as alterações macroscópicas pós-imunização. Três galinhas da linhagem HiSex foram imunizadas com 100 µg de ATPro/250 µL de PBS (pH 7,2) emulsionado em 250 µL de adjuvante completo (imunização primária) e incompleto (2º e 3º booster) de Freund, pela via intramuscular e com intervalo de 14 dias. O volume final (500 µL) foi inoculado em quatro locais do músculo peitoral. Os ovos foram colhidos diariamente e as gemas foram armazenadas a -20°C. A fração solúvel em água (FSA) foi obtida da gema total, por meio de precipitação em água acidificada (pH 5,0-5,2), seguida de *salting-out* da FSA com sulfato de sódio (19% e 14%). A purificação foi avaliada por meio de eletroforese em gel de poli(acrilamida) (SDS-PAGE) 12% e pelo teste de dot-blot com anticorpos anti-IgY. O diagnóstico das alterações macroscópicas foi realizado durante a necropsia das aves imunizadas, por inspeção do músculo peitoral. Obteve-se um sobrenadante translúcido (FSA) e um precipitado denso de cor amarela. O *salting-out* da FSA resultou em um precipitado de cor branca (PY). O SDS-PAGE demonstrou a progressiva remoção de contaminantes, a cada etapa da purificação. A fração PY apresentou uma banda proteica de peso molecular estimado de 180 kDa, além disso detectou-se a presença dos anticorpos IgY nesta fração. No músculo peitoral, diagnosticaram-se estruturas encapsuladas drenando, ao corte, líquido amarelado e viscoso. Utilizando metodologia de fácil execução, é produzida uma fração enriquecida em anticorpos IgY com grande potencial de emprego nos estudos celulares para a compreensão da interação de *L. amazonensis* e as células hospedeiras. Adjuvantes de Freund produzem, em galinhas, lesões inflamatórias extensas nos locais das imunizações.

PALAVRAS-CHAVE: IMUNOGLOBULINAS. TRIPANOSSOMATÍDEOS. PROTEÔMICA. PATOLOGIA.

AGRADECIMENTO: CNPq e Instituto de Estudos Avançados em Medicina Veterinária José Caetano Borges.

ÁREA TEMÁTICA: Doenças Parasitárias

¹Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos. Instituto de Estudos Avançados José Caetano Borges. Campus Aeroporto. * alvaro.junior@uniube.br

²Universidade Federal de Uberlândia. Laboratório de Tripanossomatídeos. Instituto de Ciências Biomédicas. Campus Umuarama.