



# Simpósio de Integração Acadêmica

“Bicentenário da Independência: 200 anos de ciência, tecnologia e inovação no Brasil e 96 anos de contribuição da UFV”

SIA UFV 2022



## Antígeno de *Taenia crassiceps* delipidado e sua aplicação no Dot-ELISA para o diagnóstico da cisticercose bovina

Henrique Viggiano Rodrigues<sup>1</sup>, Artur Kanadani Campos<sup>2</sup>, Paulo Sergio de Arruda Pinto<sup>3</sup>, Amanda Akemi Braga Kitada<sup>4</sup>, Josemar Agnaldo de Nascimento Vitorin<sup>4</sup>, Paula Mendonça Moraes – Universidade Federal de Viçosa<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Graduando em Medicina Veterinária (henrique.viggiano@ufv.br); <sup>2</sup> Professor Orientador; <sup>3</sup> Docente de Medicina Veterinária; <sup>4</sup> Doutorando(a) em Medicina Veterinária; <sup>5</sup> Técnica em educação do Departamento de Veterinária.

Palavras-Chave: Cisticercose, Dot-ELISA, Sorologia

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – Medicina Veterinária - Pesquisa

### Introdução

O Brasil é o maior exportador mundial de carne bovina (ABIEC, 2022), só no segundo trimestre de 2022, o país produziu 1,94 bilhões de quilogramas em peso total de carcaças (IBGE, 2022). Por essa importância, é necessário que haja um controle dos patógenos alimentares que podem ser veiculados por este produto. Um deles é o *Cysticercus bovis*, ele constitui a fase larval do complexo teníase-cisticercose bovina, causa grandes prejuízos à saúde pública anualmente e seu principal método de diagnóstico é realizado por meio da avaliação macroscópica no exame post-mortem em frigoríficos, seguido da condenação total dos intensamente infectados de acordo com a legislação vigente (Bomtempo, 2018). Este método resulta em baixa notificação por conta de sua baixa sensibilidade, mas é pensando nisso que, atualmente, estão sendo desenvolvidos testes sorológicos mais sensíveis e que possibilitam detectar os animais infectados antes mesmo do envio ao abate (Silva, 2015); o Dot-ELISA é um deles. O antígeno usado no teste é feito a partir de larvas de *Taenia crassiceps*, por conta de seu perfil antigênico total parecido ao do *Cysticercus bovis* e por sua maior facilidade de multiplicação em laboratório. No entanto, o antígeno não se mostra específico em sua forma bruta para ser utilizado na execução do Dot-ELISA, carecendo então de um preparo cuidadoso do extrato proteico.

### Objetivos

Devido a esta inespecificidade do antígeno em forma bruta, rico em lipoproteínas, o objetivo foi verificar a eficácia do processo de delipidação do antígeno de larva de *Taenia crassiceps* pela adição de n-butanol para uso no Dot-ELISA.

### Material e Métodos

Os antígenos para execução do Dot-ELISA foram obtidos de camundongos de laboratório infectados experimentalmente por via intraperitoneal com cisticercos de *Taenia crassiceps*. Apesar de esta ser uma espécie diferente da *Taenia saginata*, possuem perfil antigênico total parecido, o que permite usá-lo em substituição ao *Cysticercus bovis* por conta de sua facilidade de multiplicação em laboratório. Da amostra de cisticercos obtidos, foram descartados os calcificados ou em degeneração. Os viáveis foram liofilizados, triturados em cadinho de porcelana e pesados. Foi adicionado solução salina 0,15M de modo a obter entre 6,5 a 10% de concentração do soluto. Prosseguiu para homogeneização em homogeneizador de tecidos tipo Potter em banho de gelo e, em seguida,

centrifugação em microtubos à 15.000 rpm, 4°C, por 30 minutos. Ao sobrenadante, adicionou o inibidor de proteases Fenilmetilsulfonilflúor (PMSF) à uma concentração de 0,25M, em proporção de 10 µL/mL. Por fim, foi adicionado delipidador n-butanol em proporção de 1:1. O mesmo processo foi testado em amostra de antígeno fresco. Os dois passaram pelo Dot-ELISA.

### Resultados e Discussão

Após o processo de delipidação dos antígenos liofilizado e fresco por meio da adição de n-butanol, foi possível observar reação específica apenas nos poços incubados com soro bovino conhecidamente positivo para cisticercose, demonstrando assim eficácia em detectar reação antígeno-anticorpo na realização do Dot-ELISA.

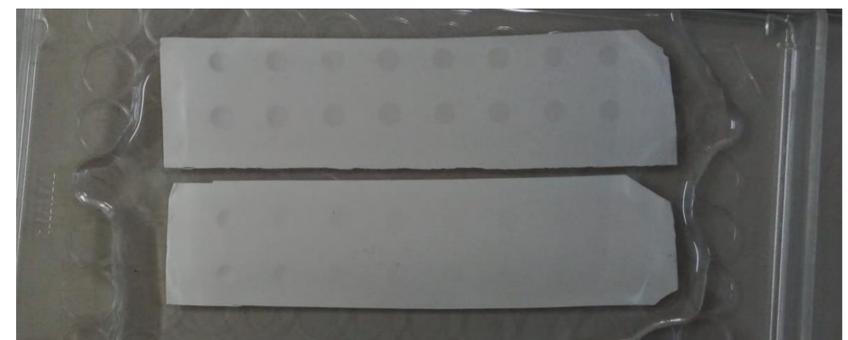


Figura 1. Membrana de nitrocelulose do Dot-ELISA com reação específica.

### Conclusões

A partir desses resultados, estudos de reprodutibilidade serão necessários para a validação deste método de obtenção do antígeno de *Taenia crassiceps* e sua aplicabilidade no Dot-ELISA.

### Bibliografia

- ABIEC – Associação Brasileira de Indústrias Exportadoras de Carne. (2022). Beef Report.
- Bomtempo, P. T. et al. (2018). Impacto da cisticercose na produção de carnes bovina e suína.
- Silva, L. F. et al. (2015). Relevant peptides of *Taenia crassiceps* for the diagnosis of bovine cysticercosis by immunoblot. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 67(3), 891–898.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2021). Pesquisa Trimestral de Abate de Animais.

### Apoio Financeiro e Agradecimentos