

**DESENVOLVIMENTO DE IMUNOREAGENTE PARA DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSE**

Autor(es): PEREIRA, Igor Daniel Martins; HARTWIG, Daiane; MONTE, Leonardo Garcia; SEIXAS, Fabiana Kommling; DELLAGOSTIN, Odir; CONCEIÇÃO, Fabricio Rochedo; BROD, Claudiomar; HARTLEBEN, Cláudia Pinho

Apresentador: Igor Daniel Martins Pereira

Orientador: Cláudia Pinho Hartleben

Revisor 1: Angela Nunes Moreira

Revisor 2: Flávia Aleixo Vasconcellos

Instituição: UFPel

Resumo:

A leptospirose é doença infecciosa que acomete todos os mamíferos, inclusive o homem. Entre as espécies de animais domésticos destacam-se os bovinos, eqüinos, ovinos, caprinos e caninos como suscetíveis a infecção por *Leptospira*. O diagnóstico laboratorial da leptospirose está baseado principalmente na detecção de anticorpos circulantes no sangue. A técnica padrão de diagnóstico, chamada soroaaglutinação microscópica (MAT), tem sido utilizada tanto em soros animais como de humanos. Porém a MAT, baseada na reação de anticorpos com o LPS presente na membrana dos sorovares de *Leptospira*, apesar da alta especificidade, é uma técnica laboriosa e demorada, possui baixa sensibilidade, atribuída à impossibilidade do uso de todos os sorovares já identificados no diagnóstico, à curva de crescimento bacteriano e à concentração de bactérias utilizadas para reação. Novas metodologias de diagnóstico têm sido desenvolvidas, utilizando proteínas conservadas e presentes somente em leptospiros patogênicas, com o objetivo de obterem-se testes de diagnósticos rápidos, sensíveis e específicos, que possam vir a substituir a MAT. Neste contexto, a detecção de anticorpos em soros suspeitos de leptospirose utilizando apenas um antígeno possibilitará o diagnóstico rápido pela identificação de anticorpos específicos em apenas uma reação imunológica. Este trabalho descreve a preparação de um conjugado com objetivo de utilização no diagnóstico de leptospirose na metodologia de polarização da fluorescência (FPA). Para a preparação do conjugado foi utilizada a proteína LipL32, na sua forma recombinante (rLipL32), uma proteína imunodominante, presente em todas as leptospiros patogênicas, e o fluoróforo FITC. Para tal, a proteína recombinante foi produzida em cultura de *E.coli* e purificada por cromatografia de afinidade. A pureza da purificação foi determinada por SDS-PAGE e a concentração de proteína pelo método de Bradford. Para a avaliação da reatividade do conjugado, soros positivos e negativos para leptospirose foram padronizados por Western blot utilizando a proteína rLipL32 como antígeno. O conjugado foi purificado por cromatografia de afinidade e a avaliação da conjugação da proteína e fluoróforo realizada por SDS-PAGE e visualização em UV. A purificação proteica foi eficiente, sendo possível obter a concentração de 800 µg/mL. A preparação do conjugado foi eficiente, uma vez que somente uma banda, correspondente a proteína rLipL32, foi visualizada após a eletroforese.