

Resumo

Dois grupos de galinhas foram imunizadas com IgG de cão e suspensão de vírus rábico para a produção de conjugados fluorescentes utilizando IgY extraída da gema dos ovos. As gemas foram coletadas durante o processo de imunização e o extrato aquoso foi separado da fase lipídica através do processo de delipidação. IgY anti-cão e anti-rábica foram dosadas semanalmente através de ELISA para a construção da curva de produção de anticorpos. Após purificação pelo método de precipitação com sulfato de amônio, as IgY foram conjugadas com isotiocianato de fluoresceína. Os conjugados produzidos foram titulados sobre soros reagente positivo para leishmaniose visceral e sobre tecidos cerebrais positivos para raiva na reação de imunofluorescência indireta e direta, respectivamente. Com a diluição trabalho determinada, os conjugados foram avaliados quanto a revelação em 60 soros de cães reagentes positivos e não reagentes para leishmaniose visceral na RIFI e em 60 impressões de cérebro de bovinos reagentes positivos e não reagentes para raiva na RIFD. Os conjugados apresentaram resultados excelentes com sensibilidade e especificidade relativa de 96,66% e 93,33% na RIFI e 100% na RIFD demonstrando a possibilidade de seu uso na rotina de diagnóstico de leishmaniose e raiva. Estes resultados permitem afirmar que as galinhas podem ser utilizadas para a produção de anticorpos policlonais em substituição aos mamíferos, diminuindo assim a necessidade de coletas de sangue e eutanásia destes últimos e priorizando a utilização de um método de extração de imunoglobulinas não invasivo, pela coleta de ovos.

Abstract

Two groups of hens were immunized with canine IgG and rabies virus suspension to produce fluorescent conjugates using IgY extracted from egg yolks. The egg yolks were collected during the immunization process and the aqueous phase was separated from the lipidic phase through delipidation. IgY anti-dog and anti-rabies were measured weekly with ELISA to generate an antibody production curve. After purification through ammonium sulfate precipitation, the IgY were conjugated with fluorescein isothiocyanate. The produced conjugates were titrated on reagent sera positive for visceral leishmaniasis and on brain tissues positive for rabies in indirect and direct immunofluorescence reaction, respectively. After the determination of the dilution study, the combined were assessed for revelation in 60 dog sera positive and non-reactive for visceral leishmaniasis by RIFI and in 60 bovine brain prints positive and non-reactive for rabies with RIFD. The conjugates showed excellent results with relative sensitivity and specificity of 96.66% and 93.33% with RIFI, and 100% with RIFD, thus demonstrating the possibility of its use in leishmaniasis and rabies routine diagnosis. These results show that hens can replace mammals in polyclonal antibody production, thereby decreasing the need of blood collection and euthanasia of mammals and prioritizing the use of a noninvasive method of immunoglobulin extraction from eggs.