

## Anticorpo monoclonal de alta eficiência no desenvolvimento de imunquímica aplicada – análise de ocratoxina em vinho

---

Silva DLD. **Monoclonal antibody with high efficiency in the development of applied immunochemistry – analysis of OTA in wine.** Londrina, PR. 2010. [Tese de Doutorado – Área de concentração: Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos – UEL]. Orientadora: Elisa Yoko Hirooka

---

O controle de Ocratoxina A (OTA) em vinho é exigência da legislação sanitária, mas o alto custo de importação de kits analíticos restringe o controle de qualidade. Visando à produção de imunorreagente nacional, procedeu-se com o cultivo de hibridoma OTA.1 em meio sintético e o anticorpo monoclonal (AcM) IgG anti-OTA obtido foi aplicado no desenvolvimento de ELISA competitivo indireto (ic-ELISA) e coluna de imunoafinidade (CIA). O cultivo de hibridoma OTA.1 iniciado em meio RPMI com 10% de soro fetal bovino foi gradativamente adaptado até 100% de meio *Hybridoma-Serum Free Medium* (H-SFM). O ic-ELISA foi desenvolvido com AcM, produzido em meio 100% H-SFM sob título de 1:10.000 com o conjugado OTA-BSA em diluição 1:30.000. Procedeu-se validação intralaboratorial em comparação com CLAE para análise de OTA em vinho tinto (VT), rosado (VR) e branco (VB), avaliando-se limite de detecção e quantificação; exatidão; linearidade; precisão e incerteza-padrão máxima. O ic-ELISA apresentou correlação de  $R=0,975$  com CLAE, na análise de 14 amostras positivas, do total de 70 vinhos comerciais (47 VT e 23 VB). CLAE detectou OTA em 14 amostras, divididas em 10 VT (0,14 a 0,99 ng/mL) e 4 VB (0,33 a 0,90 ng/mL). O ic-ELISA detectou 12 amostras positivas, sendo 8 VT (0,26 a 0,86 ng/mL) e 4 VB (0,29 a 1,12 ng/mL). Paralelamente, CIAs baseadas em suporte ativado Affi-Gel foram confeccionadas com AcM obtido de cultivo em 75 e 100% H-SFM (1:1) em concentrações de 5, 10 e 20 mg de IgG/mL de gel, sendo as CIAs denominadas CIA 5, 10 e 20, respectivamente. Etanolamina foi utilizada para capeamento pós-imobilização de IgG, proporcionando taxa de imobilização acima de 85% para as três CIAs. Quanto à capacidade de retenção de OTA (20 ng), CIA 5 e CIA 10 apresentaram as maiores taxas de 72,08% e 76,85%. CIA 5 foi validada em comparação com CIA comercial quanto à eficiência na recuperação de OTA de vinho tinto artificialmente contaminado. CIA 5 recuperou 80,5 %, 76, 87% e 76,75 % de OTA de vinho contaminado com 0,5; 2 e 5 ng de OTA/mL, respectivamente, em relação à CIA comercial que recuperou 77%, 86,14% e 84,97%, para as mesmas concentrações. A aplicabilidade de CIA 5 foi testada perante 14 amostras naturalmente contaminadas (10 VT e 4 VB) obtendo-se alta correlação com CIA comercial ( $R=0,954$ ), confirmando a possibilidade de uso desta imunoferramenta desenvolvida no controle de qualidade de vinho.

**Palavras-chave.** anticorpo monoclonal, ic-ELISA, coluna de imunoafinidade, ocratoxina.

Tese disponível na Biblioteca da Universidade Estadual de Londrina – UEL.  
E-mail: danilucedoro@yahoo.com.br