



## XI Encontro do Instituto Adolfo Lutz

Desafios do Laboratório de Saúde Pública: conhecer, monitorar e responder

04 a 07 de novembro de 2024

São Paulo/SP

e40709

• Biologia Médica

### Estudo da avidéz de anticorpos IgG por *Immunoblotting* e *Dot-Blot*: comparação dos antígenos de OMVs e bactérias integras de meningococo em membrana de nitrocelulose

Ana Flávia Segati<sup>1,2</sup> , Giovanna Santos Oliveira<sup>1,2</sup> , Elizabeth Natal De Gaspari<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Programa de Especialização em Vigilância Laboratorial em Saúde Pública, Instituto Adolfo Lutz, CEFOR, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

\*Autor de correspondência: elizabeth.gaspari@ial.sp.gov.br

Coordenadora da Comissão Científica: Adriana Pardini Vicentini

A avidéz é um critério crucial para avaliar a resposta imune, pois revela a capacidade funcional dos anticorpos. Embora o ELISA modificado seja comumente utilizado para avaliar a avidéz de anticorpos, ele não permite a identificação dos antígenos específicos que estão fortemente ligados aos anticorpos. Para contornar essa limitação, adaptamos os testes de *Immunoblotting* e *Dot-Blot* para ensaio de avidéz *In-house*. Vesículas de membrana externa (OMVs) ou suspensão de bactérias íntegras inativadas (*Whole Cells*) foram transferidas para membranas de nitrocelulose, às quais também foi aplicada a proteína em seu estado nativo. As fitas foram incubadas *overnight* com um *pool* de soros (1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> dose) de camundongos imunizados com OMVs de *Neisseria meningitidis* e adjuvante hidróxido de alumínio. Adicionamos tiocianato de potássio (KSCN) 1,5 M antes da aplicação do anticorpo anti-IgG e incubamos à temperatura ambiente por 20 minutos. A análise do teste foi realizada qualitativamente, pela visualização da intensidade de coloração das bandas. Como esperado, o ensaio com *Whole Cells* permitiu o reconhecimento de mais antígenos em comparação com as OMVs. Em ambos os ensaios, a partir da 2<sup>a</sup> dose foi possível avaliar a maturação de resposta de anticorpos IgG presentes no soro que levou ao reconhecimento de um maior número de antígenos e verificar também uma forte ligação destes anticorpos a antígenos de médio a alto peso molecular (46-245 kDa). Considerando o *Dot-Blot*, foi confirmada a presença de anticorpos com alta força de ligação. O estudo demonstrou que utilizar diferentes preparações da bactéria pode ser vantajoso para análise de um maior número de antígenos. Integrar o *Immunoblotting* e o *Dot-Blot* em um único ensaio economiza tempo e recursos, possibilitando uma avaliação qualitativa de diferentes estados do antígeno, fornecendo dados mais abrangentes para pesquisas sobre imunização contra esse patógeno.

**Palavras-chave.** Afinidade de Anticorpos, Técnicas Imunoenzimáticas, *Neisseria meningitidis*.

**Comitê de Ética:** CEUA IAL/Pasteur, Protocolo n° 06/2012.

**Órgão Financiador:** CNPq, Processo n° 305301-2022/5; FAPESP, Processo n° 2018/04202-0.