



Comparação entre ELISA e Imunofluorescência Indireta na detecção de anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii em caprinos

Autor(es): Geyanna Dolores Lopes Nunes, Francilene Silva Santos, Rogério Fernando de Jesus, Müller Ribeiro Andrade, Farouk Zacharias, Luís Fernando Pita Gondim, Neci Matos Soares, Fernanda Washington de Mendonça Lima

» **Área de pesquisa:** PEQUENOS RUMINANTES

» **Instituição:** 1UFBA; 2EBDA

» **Agência de fomento e patrocinadores:** FUNDECI-BNB, FAPESB, EBDA

Introdução: o *Toxoplasma gondii* é um protozoário coccídeo formador de cistos teciduais, considerado uma das principais causas de aborto infeccioso em caprinos. Além disso, constitui um problema de saúde pública, uma vez que pode ser transmitido ao homem através do consumo de carne e leite contaminados. Um adequado diagnóstico sorológico da toxoplasmose é uma ferramenta importante para adoção de medidas sanitárias nos rebanhos. **Objetivo:** comparar a eficiência dos métodos de ELISA indireto e Imunofluorescência Indireta (IFI) para detecção de anticorpos IgG contra *T. gondii* em caprinos. **Metodologia:** amostras de soro de 50 caprinos adultos, SRD, machos e fêmeas, no distrito de Pilar, Jaguarari-BA, foram testadas pelos dois métodos. Para o ELISA indireto, microplacas foram sensibilizadas com 100 µL/poço do lisado de *T. gondii* (diluído em tampão carbonato-bicarbonato pH 9,6 na concentração de 10µg/ml de proteína total) e incubado por 24 h a 4°C. Depois, foram distribuídos em duplicata 100 µL/poço de soro dos caprinos (diluídos 1:100 em solução de PBS + Tween 20 a 0,05% + leite em pó desnatado a 0,25%) e incubado por 1h a 37°C. Após lavagem, foram adicionados 100 µL/poço de conjugado anti-IgG caprina ligada à peroxidase (diluído 1:5000). As placas foram incubadas por 45 minutos a 37°C e depois lavadas novamente. Finalmente, foram adicionados 100 µL/poço da mistura substrato+cromógeno (20µL de H₂O₂ + 20mg de ortofenilenodiamina em 20mL de tampão citrato-fosfato pH 5.6) e incubado por 30 minutos. A reação foi parada com 50 µl de 0,1M H₂SO₄/poço e a leitura da densidade óptica (D.O.) realizada a 492 e 630nm. Para a IFI, as amostras de soro foram diluídas em PBS no ponto de corte 1:16. Uma amostra de 10µl da diluição de cada soro foi transferida para um poço da lâmina contendo taquizoítos de *T. gondii* previamente fixados. As lâminas foram incubadas por 30 minutos à 37°C, depois lavadas com PBS. Foram adicionados 10µl da diluição (1:50) do conjugado anti-IgG caprina marcado com isotiocianato de fluoresceína. Após nova incubação e lavagem, as lâminas foram montadas com glicerina 80% e lamínula. A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência com objetiva 40x. O programa GraphPad Prism 5.0 foi utilizado para elaboração da curva ROC e cálculos de sensibilidade e especificidade. Os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFBA (nº26/2013). **Resultados:** através do ELISA, foram encontrados 32% (16/50) de caprinos soropositivos, e 68% (34/50) de negativos. Já na IFI, houve 42% (21/50) de animais soropositivos e 58% (29/50) de negativos. Utilizando a IFI

como teste de referência, o ELISA apresentou 70% de sensibilidade e 96,5% de especificidade. Conclusão: foi encontrado maior número de animais soropositivos através da IFI do que pelo ELISA. Ao compará-los, a especificidade do ELISA foi elevada, significando que este teste apresenta boa capacidade para detectar os verdadeiros negativos, isto é, para diagnosticar corretamente os sadios. Já a sensibilidade - capacidade do teste em detectar os animais verdadeiramente positivos - não foi tão alta, mostrando que o ELISA foi mais propenso a fornecer resultados falso-negativos.

[Imprimir](#)[Fechar](#)