



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2014: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS – FINOVA
<b>Ano</b>	2014
<b>Local</b>	Porto Alegre
<b>Título</b>	Padronização de um Teste Imunoenzimático para quantificação de Fator de von Willebrand em cães
<b>Autores</b>	ÉRIKA FRYDRYCH Magnus Larruscaim Dalmolin MARIANA LONER COUTINHO
<b>Orientador</b>	ITABAJARA DA SILVA VAZ JUNIOR

**Introdução:** A doença hemorrágica hereditária mais comum em cães, que afeta diversas raças, é a Doença de von Willebrand (DvW). O Fator de Von Willebrand (FvW) é uma glicoproteína presente no plasma, necessária para a adesão de plaquetas em locais de danos vasculares. Existem três formas dessa doença e embora não exista um teste específico para detectar todas as formas da DvW, o diagnóstico da doença é baseado na quantificação deste fator no plasma. O FvW pode ser utilizado como antígeno (Ag:FvW) em ensaio ELISA, que quantifica a concentração de proteína no plasma. Epítomos do FvW são conservados em diferentes espécies de mamíferos, e anticorpos anti-FvW humano reagem com o FvW canino, o que permite o uso do mesmo anticorpo para o diagnóstico da doença em cães. **Objetivo:** Validar um ensaio ELISA sanduíche para quantificar o Fator de von Willebrand em amostras caninas. **Materiais e Métodos:** Amostras: Para a confecção do pool de plasma canino (PPC), foram colhidas amostras de sangue em anticoagulante citrato de sódio a 3,2% de 24 cães clinicamente saudáveis. Também foram colhidas amostras de sangue de 3 cães (amostras teste) no mesmo anticoagulante. Amostras de crioprecipitado, criossobrenadante e plasma humano também foram utilizadas. Anticorpos: Os anticorpos testados foram um soro policlonal  $\alpha$ -FvW humano e dois anticorpos monoclonais (mAb)  $\alpha$ -FvW humano, (denominados vW18/2D7 e vW21/4D6). Determinação da reatividade dos anticorpos ao FvW canino: Foram realizados ensaios utilizando diferentes combinações de anticorpos para sensibilização e para detecção, em diferentes concentrações. Os volumes das amostras e tempos de incubação do protocolo base não foram alterados. As amostras de plasma testadas foram o PPC, crioprecipitado, criossobrenadante, plasma canino normal e plasma humano normal. Diluição do anticorpo de sensibilização e do plasma: Para determinar a quantidade ideal de anticorpo  $\alpha$ -FvW para sensibilização e diluição da amostra, testou-se a sensibilização da microplaca com 50ng, 100ng, 200ng e 400ng de soro policlonal  $\alpha$ -FvW. As amostras de plasma foram testadas puras, 1:2 e 1:4. Diluição do anticorpo de detecção: Após, para avaliar a diluição ideal do anticorpo de detecção, a microplaca de ELISA foi sensibilizada com 100ng de soro policlonal  $\alpha$ -FvW e as amostras de plasma diluídas a 1:2. Após, foi incubado mAbvW18/2D7 conjugado com peroxidase diluído 1:500 ou 1:100. **Resultados:** Os anticorpos que apresentaram reatividade ao FvW canino foram o soro policlonal  $\alpha$ -FvW e o anticorpo monoclonal  $\alpha$ -FvW vW18/2D7. O anticorpo monoclonal  $\alpha$ -FvW humano vW21/4D6 não apresentou reatividade com o FvW canino. O soro policlonal de sensibilização apresentou bons resultados quando utilizado 100ng/poço, sendo que quantidades maiores não alteraram significativamente o sinal. A diluição 1:100 do anticorpo monoclonal  $\alpha$ -FvW vW18/2D7 apresentou melhores resultados. **Conclusão:** O soro policlonal  $\alpha$ -FvW e o anticorpo monoclonal  $\alpha$ -FvW vW18/2D7 apresentaram bom desempenho para detectar o FvW canino em amostras de plasma desta espécie. Estudos estão sendo conduzidos para avaliar a melhor diluição de amostra e curva padrão ideal.