

## RESUMO DE TESE

### USO DE ANTÍGENO IMOBILIZADO EM DACRON, SOB A FORMA AZIDA, PARA UTILIZAÇÃO EM ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO

O dacron (polietilenotereftalato) foi proposto como matriz no ensaio imunoenzimático modificado, dot-ELISA, como alternativa à nitrocelulose que é a mais utilizada. Placas de dacron foram ativadas mediante hidrazinólise parcial e conversão dos grupamentos hidrazidas em azidas para posterior fixação covalente de antígenos à superfície dessas placas, através desses últimos grupamentos. Lavagens preconizadas por CROOK não foram capazes de remover os antígenos fixados covalentemente. A proteína F1A de *Yersinia pestis* foi usada como antígeno e a titulação de soros de coelhos imunizados contra essa proteína foi realizada, tendo como controle o soro de coelhos normais. Os resultados obtidos demonstraram não haver diferença significativa entre os testes imunoenzimáticos, utilizando como matriz: o dacron e a nitrocelulose, entretanto, houve diferença significativa entre o teste de hemaglutinação passiva e o teste imunoenzimático utilizando como matrizes: o dacron e a nitrocelulose. A otimização desse método foi investigada, mediante a análise de diferentes condições: tempo de hidrazinólise do dacron, concentração do antígeno, substância bloqueadora (leite instantâneo desnatado na concentração de 30% e com tempo de incubação de 15min) e diluição do conjugado anti-IgG de coelho com peroxidase. A nitrocelulose mostrou-se mais sensível que o dacron, pois detectou menores quantidades de antígeno F1A. A especificidade foi considerada semelhante nos dois suportes. A reprodutibilidade foi similar em ambos os suportes. O dacron com o antígeno fixado foi eficiente quando armazenado a 4°C por 90 dias, enquanto a nitrocelulose com o antígeno também fixado mostrou-se viável a 4°C, 28°C e -20°C por 90 dias. A reutilização do dacron só foi conseguida quando o teste imunoenzimático foi revelado com 4-cloro-1-naftol.

### THE USE OF ANTIGEN IMMOBILIZED ON DACRON PLATES FOR ENZYME IMMUNOASSAY

Dacron (polyethyleneterephthalate) is proposed as a matrix for dot-ELISA procedures, as an alternative to nitrocellulose. Plates of dacron were partially hydrazinolyzed and hydrazide groups introduced were converted to azide groups. Antigen was covalently linked on to the plates through these azide groups. The derivative dacron-antigen was exhaustively washed according to CROOK and antigen was still fixed on to the plates. Protein F1A purified from *Yersinia pestis* was used as a model. Titration of sera of immunized and non immunized rabbits against this protein was carried out by employing dot-ELISA method. No significant difference was observed using dacron-antigen and nitrocellulose-antigen preparations. However, both procedures showed to have a significant better performance comparing with the passive hemagglutination method. The specificity and reproducibility of dot-ELISA assay using both preparations showed a similar behaviour. Dot-ELISA procedure using dacron-antigen derivative was optimized by studying several conditions: time of hydrazinolysis; antigen concentration; blocking substance and rabbit anti-IgG peroxidase conjugated dilution. Nitrocellulose preparation was stable at 4°C, 28°C and -20°C for 90 days, whereas dacron-antigen derivative was stable only when stored at 4°C. Dacron-antigen derivative was reused when the spot developing was proceeded using 4-chloro-1-naphthol as substrate.

Silvia Maria Lucena Montenegro  
Tese apresentada ao Departamento de Bioquímica da  
Universidade Federal do Pernambuco para  
obtenção do Título de Mestre  
Recife, Pernambuco, Brasil, 1991