

RESUMO - HELMINTOLOGIA

PADRONIZAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA PARA DETECÇÃO DE ANTÍGENOS DE FASCIOLA HEPATICA EM TECIDO PULMONAR BOVINO

Ana Clara Boechat Nunes (acbn274@gmail.com)

Guilherme Drescher (guilherme.drescher@fiocruz.br)

Mariane Marques Da Guarda Pinto (mariane.marquesgp@gmail.com)

Isabella Vilhena Freire Martins (isabella.martins@ufes.br)

Jankerle Neves Boeloni (jankerle@gmail.com)

Leonardo O. Trivilin (leotrivilin@gmail.com)

Fabiano Figueiredo (fabiano.figueiredo@fiocruz.br)

Objetivou-se padronizar a técnica de imunohistoquímica para detecção de antígenos de Fasciola hepatica em cortes histológicos, utilizando o sobrenadante de cultivo celular do hibridoma produtor do anticorpo monoclonal P1D5 (anti-ETFh, extrato total de F. hepatica), e o soro policlonal C2 obtidos de coelhos imunizados com antígenos de F. hepatica (anti-AESFh, antígenos excretor-secretor). Coletou-se adultos de F. hepatica do fígado de bovinos naturalmente infectados. Após, fixou-se os parasitos em formalina tamponada 10% e posteriormente foram submetidos ao processamento rotineiro de

inclusão em parafina, obtendo cortes histológicos com espessura de 3 µm, depositados em lâminas silanizadas. Lâminas contendo tecido pulmonar bovino saudável foram utilizadas como controle negativo da reação. As lâminas foram mantidas em estufa a 60 °C por 48 horas, posteriormente submetidas à desparafinização em xilol, seguido de reidratação com etanol e lavagem em água destilada. Após, realizou-se a recuperação antigênica utilizando tampão citrato de sódio (pH 6,0) e procedeu-se ao bloqueio da peroxidase endógena com solução de peróxido de hidrogênio 9% e metanol P.A. (2:1), e bloqueio de proteína inespecífica por meio da incubação em solução de leite em pó desnatado a 3% por uma hora. Posteriormente, os anticorpos primários não diluídos (anti-ETFh e anti-AESFh) foram adicionados aos respectivos cortes histológicos e incubados em câmara úmida, protegidas da luz, permanecendo sob refrigeração a 4 °C overnight. Após, os cortes histológicos foram incubados por 30 minutos com o kit CRF Anti-Polyvalent HRP Polymer, seguido da revelação utilizando o cromógeno 3,3'-diaminobenzidina (DAB) por cinco minutos. Em seguida, realizou-se a contracoloração com hematoxilina de Harris e montagem das lâminas. Nos cortes histológicos, observou-se imunomarcacão positiva com ambos anticorpos testados. O anticorpo monoclonal P1D5 apresentou imunomarcacão difusa, predominantemente em estruturas internas do parasito, incluindo o parênquima e órgãos digestivos e reprodutivos. O anticorpo policlonal C2 também resultou em imunomarcacão positiva intensa, principalmente em regiões tegumentares e componentes internos do parasito. Não foi observada imunomarcacão nos cortes de pulmão bovino saudável utilizados como controle negativo. Os cortes do parasito com anticorpos primários suprimidos na técnica não evidenciaram marcacão positiva. A padronização da técnica de imunohistoquímica demonstrou que tanto o P1D5 quanto o C2 foi capaz de reconhecer antígenos de *F. hepatica* em cortes histológicos do parasito, evidenciando sua aplicabilidade na detecção antigênica tecidual, independentemente da origem dos anticorpos.

Palavras-chave: fasciolose; imunodiagnóstico; anticorpo policlonal; anticorpo monoclonal.