



# As Ciências da Vida Frente ao **Contexto Contemporâneo 2**

**Denise Pereira  
(Organizadora)**

---

**Atena**  
Editora  
Ano 2019

**Denise Pereira**  
(Organizadora)

# **As Ciências da Vida Frente ao Contexto Contemporâneo 2**

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Geraldo Alves

Revisão: Os autores

#### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

C569 As ciências da vida 2 frente ao contexto contemporâneo [recurso eletrônico] / Organizadora Denise Pereira. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (As Ciências da Vida Frente ao Contexto Contemporâneo; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-232-6

DOI 10.22533/at.ed.326190304

1. Ciência. 2. Ciências da vida – Pesquisa – Brasil. I. Pereira, Denise. II. Série.

CDD 570.9

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

Falar de ciências no contexto contemporâneo, é questionar vários princípios e propostas, é deixar de lado o “paradigma dominante” que é o modelo de ciência do passado, caracterizado pela luta apaixonada contra todas as formas de dogmatismo e autoridade. É observar e analisar a necessidade do homem de uma compreensão mais aprofundada do mundo, bem como a necessidade de precisão para a troca de informações, que acabam levando à elaboração de sistemas mais estruturados de organização dos diversos tipos de conhecimentos.

Aqui se observa a ciência da vida como forma de conhecimento que é compreendida num sentido mais específico, com aprimoramento do estudo acadêmico, refletido a teoria e prática das áreas da saúde em geral.

Neste compilado de conhecimentos, foram realizados e definidos de maneiras diferentes pelos diversos autores que se lançam a tarefa de refletir sobre a “As ciências da Vida frente ao Contexto Contemporâneo”, algumas definições são bastante semelhantes, outras levantam algumas diferenças.

Boa leitura

Denise Pereira

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
PROCESSO DE TERRITORIALIZAÇÃO EM SAÚDE: ESTRATÉGIAS E POSSIBILIDADES	
José Rogécio de Sousa Almeida Ana Gabrielle Freitas da Silveira Ana Renê Farias Baggio Nicola Elayne Cristina Ferreira Xavier Jéssica Oliveira Rodrigues Patrícia Diógenes de Moraes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3261903041</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>9</b>
SÉRIE HISTÓRICA DA INCIDÊNCIA DE HIV/AIDS NO BRASIL, 2007-2016	
Germana Maria da Silveira Joana Darc Martins Torre Leidy Dayane Paiva de Abreu Ticiane Freire Gomes Raimundo Augusto Martins Torres Maria Lúcia Duarte Pereira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3261903042</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>19</b>
A INFLUÊNCIA DO ACOMPANHANTE TERAPÊUTICO SOBRE O SUJEITO COM NECESSIDADES ESPECIAIS: UMA ANÁLISE DO FILME “GABY”	
Deldy Moura Pimentel Fabiola Cristina dos Santos Silveira Michelle Sales Belchior	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3261903043</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>27</b>
A EFICÁCIA DA MOBILIZAÇÃO PRECOCE EM PACIENTES HOSPITALIZADOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA	
Marcela Myllene Araújo Oliveira Márcia Mõany Araújo Oliveira Francisco Eudes de Souza Júnior Andreson Charles de Freitas Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3261903044</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>38</b>
ALIMENTOS FUNCIONAIS E DIABETES: UMA REVISÃO INTEGRATIVA DA LITERATURA	
Lucas Barbosa Xavier Charliane Benvindo Nobre Ariane Saraiva Nepomuceno Andreson Charles de Freitas Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3261903045</b>	

<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>43</b>
FREQUÊNCIA DE DISFUNÇÕES ESTOMATOGNÁTICAS EM LUTADORES DE ARTES MARCIAIS MISTAS: ESTUDO OBSERVACIONAL DESCRITIVO	
Aécio da Silva Celestino Renata de Assis Fonseca Santos Brandão Rivail Almeida Brandão Filho	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3261903046</b>	
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	<b>57</b>
INFLUENZA: O ESTADO DO CEARÁ FRENTE À CAMPANHA NACIONAL DE VACINAÇÃO	
Surama Valena Elarrat Canto Ana Débora Assis Moura Ana Karine Borges Carneiro Ana Vilma Leite Braga Tereza Wilma Silva Figueiredo Marcelo Gurgel Carlos da Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3261903047</b>	
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	<b>63</b>
HANSENÍASE: UMA REVISÃO PARA O CONTROLE DOS CONTATOS	
Mariana de Freitas Loureiro Tássia Ívila Freitas de Almeida Rosa Lívia Freitas de Almeida	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3261903048</b>	
<b>CAPÍTULO 9</b> .....	<b>69</b>
INFÂNCIA, DIAGNÓSTICO E MEDICALIZAÇÃO: REFLEXÕES SOBRE A CRIANÇA NA CONTEMPORANEIDADE	
Iane Pinto de Castro Rute Flávia Meneses Mondim Pereira d'Amaral	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3261903049</b>	
<b>CAPÍTULO 10</b> .....	<b>75</b>
LAÇOS DE FAMÍLIA: UMA CONSTRUÇÃO SOBRE A FUNÇÃO PATERNA E OS ENTRELACAMENTOS COM O REAL, O SIMBÓLICO E O IMAGINÁRIO	
Mônica Maria Fonseca de Souza Medeiros Grace Troccoli Vitorino	
<b>DOI 10.22533/at.ed.32619030410</b>	
<b>CAPÍTULO 11</b> .....	<b>95</b>
MORBIDADE EM MULHERES POR CÂNCER COLORRETAL NO ESTADO DO CEARÁ (2002 A 2013)	
Isadora Marques Barbosa Diane Sousa Sales Nayara Sousa de Mesquita Dafne Paiva Rodrigues Ana Virginia de Melo Fialho Paulo César de Almeida	
<b>DOI 10.22533/at.ed.32619030411</b>	

**CAPÍTULO 12 ..... 102**

**POTENCIAL ANTIBIOFILME DO EXTRATO AQUOSO DE SEMENTES DE *Phalaris canariensis* CONTRA ESPÉCIES DE CANDIDA**

Larissa Alves Lopes  
João Xavier da Silva Neto  
Helen Paula Silva da Costa  
Eva Gomes Morais  
Marina Gabrielle Guimarães de Almeida  
Lucas Pinheiro Dias  
Tiago Deiveson Pereira Lopes  
Francisco Bruno Silva Freire  
Ana Paula Apolinário da Silva  
Luciana Freitas Oliveira  
Luiz Francisco Wemmenson Gonçalves Moura  
Thiago Fernandes Martins

**DOI 10.22533/at.ed.32619030412**

**CAPÍTULO 13 ..... 109**

**PROTOCOLO RÁPIDO E ECONÔMICO PARA PURIFICAÇÃO DE ANTICORPOS POLICLONAIS IGY ANTI-ZIKV**

Mauricio Fraga Van Tilburg  
Cícero Matheus Lima Amaral  
Ilana Carneiro Lisboa Magalhães  
Danielle Ferreira de Oliveira  
Rebeca Veras Araújo  
Ednardo Rodrigues Freitas  
Maria Izabel Florindo Guedes

**DOI 10.22533/at.ed.32619030413**

**CAPÍTULO 14 ..... 116**

**APLICABILIDADE DA TOXINA BOTULÍNICA EM PACIENTES COM ESPASTICIDADE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Maria Mariana Almeida de Carvalho  
Bruna Pereira Saraiva  
Kelliane Tavares Barbosa  
Wiliane Maria dos Santos  
Luciana de Carvalho Pádua Cardoso

**DOI 10.22533/at.ed.32619030414**

**CAPÍTULO 15 ..... 123**

**EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS DO VÍRUS DA HEPATITE C FUSIONADAS A PROTEÍNA SUMO EM SISTEMA PROCARIONTE**

Arnaldo Solheiro Bezerra  
Cícero Matheus Lima Amaral  
Daniel Freire Lima  
Bruno Bezerra da Silva  
Rosa Amália Fireman Dutra  
Maria Izabel Florindo Guedes

**DOI 10.22533/at.ed.32619030415**

**CAPÍTULO 16 ..... 128**

**NOTIFICAÇÕES DOS ACIDENTES DE TRABALHO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

Ires Lopes Custódio  
Lívia Lopes Custódio  
Ana Carmem Almeida Ribeiro Maranhão  
Maria Socorro Pequeno Leite Alves  
Érica Rodrigues D' Alencar  
Marta Maria Rodrigues Lima  
Francisca Elisângela Teixeira Lima

**DOI 10.22533/at.ed.32619030416**

**CAPÍTULO 17 ..... 135**

**A FISIOTERAPIA NA ATENÇÃO A SAÚDE DO TRABALHADOR NO ÂMBITO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE**

José Rogécio de Sousa Almeida  
Jeffeson Hildo Medeiros de Queiroz

**DOI 10.22533/at.ed.32619030417**

**CAPÍTULO 18 ..... 143**

**ANÁLISE CINESIOLÓGICA QUALITATIVA DO MOVIMENTO DOS MEMBROS INFERIORES NA ESQUIVA DA CAPOEIRA**

Raimundo Auricelio Vieira  
Demétrius Cavalcanti Brandão  
Leandro Firmeza Felício  
Francisco José Félix Saavedra  
Suelen Santos de Moraes  
Abraham Lincoln de Paula Rodrigues

**DOI 10.22533/at.ed.32619030418**

**CAPÍTULO 19 ..... 150**

**ANÁLISE CINESIOLÓGICA QUALITATIVA DO MOVIMENTO DOS MEMBROS SUPERIORES NO VOLEIBOL: MANCHETE**

Raimundo Auricelio Vieira  
Demétrius Cavalcanti Brandão  
Leandro Firmeza Felício  
Francisco José Félix Saavedra  
Suelen Santos de Moraes  
Abraham Lincoln de Paula Rodrigues

**DOI 10.22533/at.ed.32619030419**

**CAPÍTULO 20 ..... 155**

**AValiação DO PICO TORQUE EM GRUPO EXTENSOR E FLEXOR DO JOELHO EM ATLETAS DE FUTSAL**

Everton Darlison Leite da Silva  
Juliana dos Santos Melo  
Nathiara Ellen dos Santos  
Hugo Leonardo Sá Machado Diniz  
Mario Muniz Amorim  
Michelle Rabelo  
Cláudia Maria Montenegro  
Micheline Freire Alencar Costa  
Liana Rocha Praça

**CAPÍTULO 21 ..... 166**

**PERCEPÇÃO E CONHECIMENTO A RESPEITO DA DOR EM OPERADORES DE  
TELEMARKETING DURANTE A REALIZAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES LABORAIS**

Maria Áurea Catarina Passos Lopes  
Ana Caroline Gomes Araújo  
Rubens Vitor Barbosa  
Weslley Sousa Cavalcante  
Antoneide Pereira da Silva  
Deisiane Lima dos Santos  
Carla Wiviane Rocha  
Jane Lane de Oliveira Sandes  
Josianne da Silva Barreto Rebouças

**DOI 10.22533/at.ed.32619030421**

**CAPÍTULO 22 ..... 177**

**VENTILAÇÃO NÃO INVASIVA NO PÓS-OPERATÓRIO DE CIRURGIA  
CARDIOPULMONAR E SEU IMPACTO APÓS EXTUBAÇÃO**

Maria Áurea Catarina Passos Lopes  
Ana Caroline Gomes Araújo  
Weslley Sousa Cavalcante  
Eduardo Teixeira Mota Júnior  
Rubens Vitor Barbosa  
Sabrina Ferreira Ângelo  
Sandra Ádilla Menezes Lima  
Antoneide Pereira da Silva  
Maria Emília Catarina Passos Lopes  
Josianne da Silva Barreto Rebouças

**DOI 10.22533/at.ed.32619030422**

**CAPÍTULO 23 ..... 189**

**A INSERÇÃO DO PROFISSIONAL DE PSICOLOGIA NO ÂMBITO DA SAÚDE  
COLETIVA**

Leticia Vanderlei Ribeiro  
Mariana de Brito Lima  
Rosendo Freitas de Amorim

**DOI 10.22533/at.ed.32619030423**

**CAPÍTULO 24 ..... 196**

**ASSISTÊNCIA DE ENFERMAGEM AO PACIENTE COM ANEURISMA DE AORTA  
ASCENDENTE: ESTUDO DE CASO**

Monyque da Silva Barreto  
Maria Iracema Alves Ribeiro  
Maiara Oliveira de Carvalho Barreto Paiva  
Iliana Maria de Almeida Araújo  
Clícia Karine Almeida Marques Araújo  
Virna Fabrízia Alves Mourão

**DOI 10.22533/at.ed.32619030424**

<b>CAPÍTULO 25</b> .....	<b>201</b>
CONSIDERAÇÕES ACERCA DO DIAGNÓSTICO PSQUIÁTRICO E DO CUIDADO COM O INDIVÍDUO DIAGNOSTICADO	
Iane Pinto de Castro Rute Flávia Meneses Mondim Pereira d'Amaral	
<b>DOI 10.22533/at.ed.32619030425</b>	
<b>CAPÍTULO 26</b> .....	<b>211</b>
MEDIAÇÃO DE CONFLITOS E A PRODUÇÃO DE CONHECIMENTO NA ÁREA DA PSICOLOGIA	
Daniela Lúcia Cavalcante Machado Normanda Araújo Morais	
<b>DOI 10.22533/at.ed.32619030426</b>	
<b>CAPÍTULO 27</b> .....	<b>218</b>
UMA REFLEXÃO EPISTEMOLÓGICA ACERCA DO NOVO PARADIGMA DA CIÊNCIA NO CAMPO DA PSICOLOGIA SOCIAL	
Lia Wagner Plutarco Mariana Gonçalves Farias	
<b>DOI 10.22533/at.ed.32619030427</b>	
<b>CAPÍTULO 28</b> .....	<b>225</b>
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO SERVIÇO DE FORNECEDORES DE UM RESTAURANTE COMERCIAL DE FORTALEZA, CEARÁ	
Antônia Gabriela Marques de França Ângela Maia dos Santos Cristiane Rodrigues Silva Câmara	
<b>DOI 10.22533/at.ed.32619030428</b>	
<b>CAPÍTULO 29</b> .....	<b>230</b>
DESAFIOS NUTRICIONAIS EM PACIENTES COM MICROCEFALIA: UM ESTUDO TEÓRICO	
Elvia Vittoria Fichera Araújo Lara Aparecida Firmino Da Costa Larissa Nogueira Barbosa de Sousa Gilka Hilário Cajaty Carla do Couto Soares Maciel	
<b>DOI 10.22533/at.ed.32619030429</b>	
<b>CAPÍTULO 30</b> .....	<b>237</b>
EXPERIENCIANDO O LÚDICO NA PROMOÇÃO DE UMA ALIMENTAÇÃO SAUDÁVEL	
Juliana Braga Rodrigues de Castro Érika César Alves Teixeira Fátima Café Ribeiro Dos Santos Juliana Soares Rodrigues Pinheiro Maria Katielle Oliveira Marília Magalhães Cabral Maria Raquel da Silva Lima Kamilla de Oliveira Pascoal Lia Ribeiro de Borba Sanford Fraga	

Jéssica Soares de Oliveira Reis

DOI 10.22533/at.ed.32619030430

<b>SOBRE A ORGANIZADORA.....</b>	<b>245</b>
----------------------------------	------------

## PROTOCOLO RÁPIDO E ECONÔMICO PARA PURIFICAÇÃO DE ANTICORPOS POLICLONAIS IGY ANTI-ZIKV

### **Mauricio Fraga Van Tilburg**

Universidade Estadual do Ceará, Rede Nordeste de Biotecnologia  
Fortaleza – Ceará

### **Cícero Matheus Lima Amaral**

Universidade Estadual do Ceará, Curso Nutrição  
Fortaleza – Ceará

### **Ilana Carneiro Lisboa Magalhães**

Universidade Estadual do Ceará, Rede Nordeste de Biotecnologia  
Fortaleza – Ceará

### **Danielle Ferreira de Oliveira**

Universidade Estadual do Ceará, Rede Nordeste de Biotecnologia  
Fortaleza – Ceará

### **Rebeca Veras Araújo**

Universidade Estadual do Ceará, Curso de Ciências Biológicas  
Fortaleza – Ceará

### **Ednardo Rodrigues Freitas**

Universidade Federal do Ceará, Departamento de Zootecnia  
Fortaleza – Ceará

### **Maria Izabel Florindo Guedes**

Universidade Estadual do Ceará, Curso de Nutrição  
Fortaleza – Ceará

**RESUMO:** Esse estudo descreve um método rápido e de baixo custo para purificação de

imunoglobulinas da gema de ovos de galinhas imunizadas com o vírus da Zika. A IgY é uma imunoglobulina produzida por aves e répteis e transferida para seus descendentes através da gema dos ovos. Há várias vantagens em produzir anticorpos imunizando galinhas, principalmente pelo ponto de vista bioético, pois a obtenção das IgY da gema dos ovos é um método não invasivo. Dessa forma é importante tomar-se conhecimento de um processo de purificação da IgY que seja rápido, eficiente e de baixo custo. O presente trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo rápido e de baixo custo para purificação de anticorpos IgY anti-Zika vírus a partir da gema do ovo.

**PALAVRAS-CHAVES:** Imunoglobulina, Zika, diagnóstico.

**ABSTRACT:** The following study describes a rapid and low cost method for purification of egg yolk immunoglobulins from chickens immunized with Zika virus. IgY is an immunoglobulin produced by birds and reptiles and transferred to the descendants through the egg yolk. There are several advantages in producing antibodies by immunizing chickens, mainly from the bioethical point of view, since obtaining IgY from egg yolk is a non-invasive method. Thus it is important to become aware of an IgY purification process that is rapid, efficient and inexpensive. The present work aimed to establish a fast and low

cost protocol for the purification of IgY anti-Zika virus antibodies from egg yolk.

**KEYWORDS:** Immunoglobulin, Zika, diagnosis.

## 1 | INTRODUÇÃO

A ZIKA é uma doença viral infecciosa causada pelo Zika vírus (ZIKV), que há pouco tempo tornou-se uma preocupação internacional, visto que essa arbovirose representa uma grave ameaça para saúde mundial, principalmente em países tropicais, onde os vetores transmissores *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* encontram condições climáticas ideais para sua proliferação. O governo Brasileiro tem divulgado um kit de diagnóstico, o Kit Nat®, que promete rapidez no diagnóstico da Dengue, Chikungunya e Zika. Entretanto, esse kit funciona por PCR, necessitando de equipamentos sofisticados, além de só ser possível a detecção do patógeno durante o período de infecção viral, que dura apenas alguns dias. Por isso, se faz extremamente necessário o desenvolvimento de anticorpos de forma rápida e econômica para utilização em testes de imunodiagnóstico. A imunoglobulina mais abundante no soro de galinhas é a IgY (Yolk Immunoglobulin) que é transferida para seus descendentes, através da gema dos ovos (ROSE; ORLANS; BUTRESS, et al., 1974). A IgY é uma excelente opção a IgG, pois apresenta várias vantagens quando comparada com a IgG produzida por mamíferos, podendo ser aplicada do mesmo modo nos testes de imunodiagnóstico (SCHADE et al., 2000). Dentre essas vantagens, a do ponto de vista bioético se destaca, pois, o método de coleta da IgY não é invasivo, não sendo necessário fazer sangria ou eutanásia dos animais (SCHADE et al., 2000). A utilização de galinhas para produção de imunoglobulinas é uma boa alternativa, desde que a obtenção desses anticorpos da gema do ovo seja feita por um processo simples de purificação (HAU; HENDRIKSEN, et al., 2005). Dessa forma é importante desenvolver um processo de purificação da IgY da gema dos ovos de forma rápida, eficiente e de baixo custo.

## 2 | METODOLOGIA

### 2.1 Replicação do Vírus da Zika

O vírus da Zika foi replicado em células C6/36 com 90% de confluência a 28°C por um período de 7 dias. O sobrenadante da cultura foi coletado e a titulação do vírus feita pela técnica de PFU.

## 3 | IMUNIZAÇÃO

Antes da inoculação do vírus foram coletados ovos para serem usados como controle.  $2,6 \times 10^7$  PFU do vírus Zika foram inoculados duas vezes, com intervalo de

20 dias, por via subcutânea em uma galinha em postura da linhagem Hy-Line Brown. Os ovos foram coletados 4 dias após a última inoculação.

### 3.2 Purificação da IGY

O protocolo utilizado foi uma adaptação do protocolo de Araújo (2007). Os ovos foram quebrados e a gema foi separada da clara com o auxílio de papel filtro. A gema foi coletada com uma pipeta sorológica para mensuração do volume total, que posteriormente foi diluída em água ultrapura na proporção de 1:10. A solução ainda teve seu pH ajustado para 5,0 com HCl. A amostra foi congelada, descongelada e centrifugada a 800 x g por 40 minutos a 4°C. Após a centrifugação, o *pellet* foi descartado e foi observado se o sobrenadante apresentava aspecto transparente e sem nenhuma turvação. Em seguida, o pH do extrato aquoso foi ajustado para 7,4 utilizando hidróxido de sódio sob agitação no banho de gelo. Foi adicionado sulfato de amônio lentamente, até a concentração final de 20 % (p/v). Depois dessa primeira precipitação, a amostra foi mantida em agitação por 30 minutos no banho de gelo. Em seguida, foi realizada uma centrifugação (2000 x g a 4°C por 20 minutos) onde o *pellet* foi ressuspensionado em PBS pH 7,4 (1/10 do volume inicial). Foi realizada uma segunda precipitação onde todo o processo foi repetido. Por fim, a solução foi centrifugada em tubo Amicon® 30 MW a 3000 x g, 4°C por 30 minutos para a retirada do sal. As IgY retidas no tubo foram ressuspensa em PBS pH 7,4, coletadas e congeladas a -20°C.

### 3.3 Quantificação e SDS-PAGE

A concentração da IgY purificada foi determinada no Nanodrop® 2000 *Spectrophotometer* (Thermo Scientific). No gel de SDS\_PAGE com concentração de 15% foi adicionado no primeiro poço 8 µL da IgY purificada do ovo controle. Nos respectivos poços foram adicionados 4 µL de IgY purificada do ovo controle, 4 µL de IgY purificada anti-ZIKV e 2 µL de IgY purificada anti-ZIKV. No último poço foi adicionado 3 µL do marcador molecular (Bio-Rad Laboratories Inc). Em todas as amostras usou-se 2 µL de tampão de amostra. A eletroforese ocorreu em condições de 140 volts durante 90 minutos. O gel foi corado pelo método convencional de coloração com Azul de Comassie.

### 3.4 Western Blotting

O gel foi feito na concentração de 12% onde foram utilizados 2 poços, sendo acrescentado no primeiro poço 3 µL de marcador molecular (Bio-Rad Laboratories Inc.) e no segundo poço 10 µL do sobrenadante de cultura celular contendo o vírus da Zika. Em ambas as amostras foram adicionadas 5 µL de tampão de amostra. A eletroforese ocorreu em condições de 140 volts durante 90 minutos. O gel seguiu para eletro transferência em membrana de nitrocelulose com duração de 60 minutos. Após a

transferência, a membrada foi bloqueada em solução contendo leite em pó desnatado a 5% por 60 minutos sob leve agitação. A membrana foi então lavada 3 vezes com PBS pH 7.4 e 0,05% de tween-20 com intervalos de 5 minutos cada. Após as lavagens a membrana foi encubada com o anticorpo IgY anti-ZIKV purificado na diluição de 1:1000 em PBS pH 7,4 a 20 rpm por 60 minutos. Em seguida ocorreram 3 lavagens de 5 minutos cada com PBS pH 7,4 e 0,05% de tween-20. A membrana foi então incubada com anticorpo anti-IgY de cabra conjugado com peroxidase (Sigma-USA) na diluição de 1:5000 em PBS pH 7,4 por 60 min a 20 rpm. Após isso, a membrana foi lavada 3 lavagens de 5 minutos cada com PBS pH 7,4 e 0,05% de tween-20. Para revelar, a membrana foi imersa em solução de 0.01g DAB, 30 mL PBS pH 7,4 e 100µL de H2O2. A reação foi interrompida com lavagens em água estilada.

#### 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir de 25 mL de gema extraída de 2 ovos, obteve-se 28,94 mg/mL de IgY purificada. Já na gema dos ovos controle obteve-se 15,21 mg/mL de IgY purificada. Para uma produção bem sucedida de anticorpos policlonais, há alguns fatores que são levados em consideração, e um deles está ligado à quantidade e qualidade do antígeno utilizado (LEENAARS et al. 1999). A quantidade do antígeno administrado foi suficiente para estimular uma resposta imunológica no animal. Segundo Matheis e Schade (2011), em experimentos para coleta de anticorpos em mamíferos utilizando coelhos, é possível obter em quatro semanas um volume máximo de 40 mL de sangue de coelho, envolvendo risco de morte ao animal, o que corresponde a 20 mL de soro contendo aproximadamente 12 mg/mL de IgG. Neste estudo uma única galinha produziu em 2 ovos mais do que o dobro dessa concentração. No SDS-PAGE é possível verificar a purificação das IgY da gema de ovo (Figura 1), onde observa-se duas bandas referentes a cadeia leve (27 kDa) e a cadeia pesada (68 kDa) da imunoglobulina, corroboram com os achados de Santos et al. (2014).

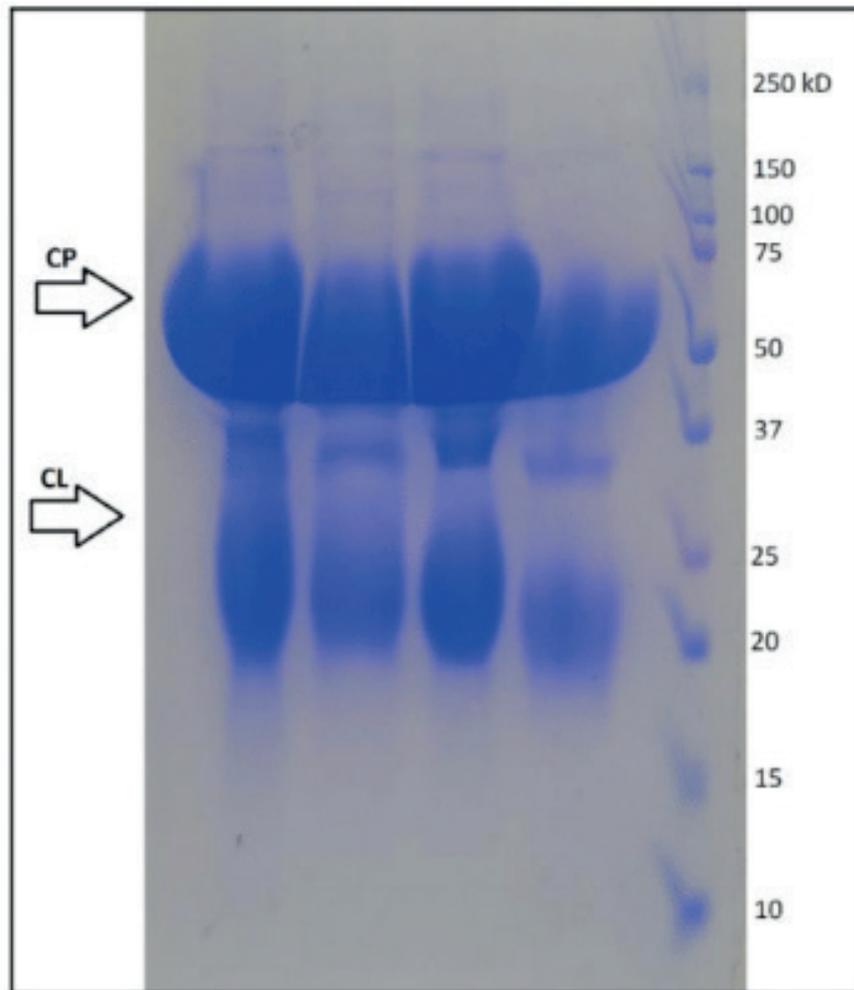


Figura 1. SDS-PAGE 15% corado com Azul de Comassie após purificação das IgY da gema dos ovos. É possível observar as cadeias leve (CL) e pesada (CP) das IgY purificadas. A direita o marcador molecular.

Segundo Bollen et. al (1996), as IgY apresentam mais eficiência em reconhecer antígenos do que imunoglobulinas de mamíferos, que ocasionam reações cruzadas com diversos tipos de imunoglobulinas (SILVA; TAMBOURGI, 2010). No Western blotting foi possível observar que as IgY purificadas se mantiveram funcionais e reconheceram o vírus da Zika (Figura 2).

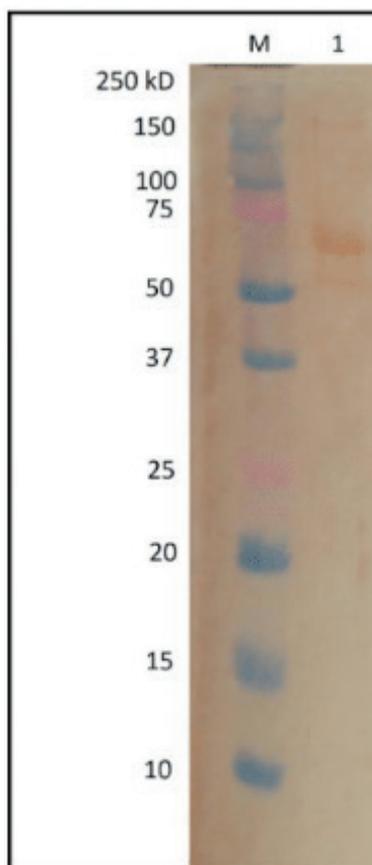


Figura 2. Western blotting das IgY purificadas contra o vírus da Zika. (M)- Marcador molecular; (1) - Sobrenadante de cultivo celular infectadas com o vírus da Zika.

Os resultados desse trabalho demonstram a IgY como um ótimo reagente imunológico com produção e purificação simples e de baixo custo, podendo ser usada como anticorpo de captura ou aplicada em kits de imunodiagnóstico para variados tipos de doenças.

## 5 | CONCLUSÃO

A produção de anticorpos policlonais utilizando galinhas provou ser uma excelente alternativa, visto que a quantidade de imunoglobulinas produzida é superior a produzidas em mamíferos, além de possuir um método de purificação que se provou eficaz, rápido e econômico. As imunoglobulinas purificadas mantiveram a sua funcionalidade preservada, podendo assim ser posteriormente utilizadas em kits de imunodiagnóstico.

## 6 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio institucional e financeiro do Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular (LBBM) da Universidade Estadual do Ceará

(UECE), a Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), a empresa Greenbean e aos órgãos de fomento à pesquisa CNPq e CAPES.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. S. **PRODUÇÃO DE ANTIVENENO BOTRÓPICO EM OVOS DE GALINHA**. 2007. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

BOLLEN, L. S. et al. Antibody production in rabbits and chickens immunized with human IgG A comparison of titre and avidity development in rabbit serum, chicken serum and egg yolk using three different adjuvants. **Journal Of Immunological Methods**, [s.l.], v. 191, n. 2, p.113-120,1996.

HAU, J.; HENDRIKSEN, C. F. M. Refinement of Polyclonal Antibody Production by Combining Oral Immunization of Chickens with Harvest of Antibodies from the Egg Yolk. **Ilar Journal**, [s.l.], v. 46, n. 3, p.294-299, 2005.

Leenars, P. P. et al. The Production of Polyclonal Antibodies in Laboratory Animals. The Report and Recommendations of ECVAM Workshop 35. **Atla**, [s.l.], v. 27, n. 1, p.79-102, 1999.

MATHEIS, W.; SCHADE, R. Development of an IgY-based rocket-immunoelectrophoresis for identity monitoring of Pertussis vaccines. **Journal Of Immunological Methods**, [s.l.], v. 369, n. 1-2, p.125-132, 2011.

ROSE, M. E.; ORLANS, E.; BUTTRESS, N. Immunoglobulin classes in the hen's egg: Their segregation in yolk and white. **European Journal Of Immunology**, [s.l.], v. 4, n. 7, p.521-523,1974.

SANTOS, F. N. et al. Production and Characterization of IgY daagainst Canine IgG: Prospect of a New Tool for the Immunodiagnostic of Canine Diseases. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, [s.l.], v. 57, n. 4, p.523-531, 2014.

Schade, R. **Chicken egg yolk antibodies, production and application**. [s.l]: Igy-technology, 2000.

SILVA, W. D.; TAMBOURGI, D. V. IgY: A promising antibody for use in immunodiagnostic and in immunotherapy. **Veterinary Immunology And Immunopathology**, [s.l.], v. 135, n. 3-4, p.173-180, 2010.

## **SOBRE A ORGANIZADORA**

**Denise Pereira** - Mestre em Ciências Sociais Aplicadas, Especialista em História, Arte e Cultura, Bacharel em História, pela Universidade Estadual de Ponta Grossa. Cursando Pós-Graduação Tecnologias Educacionais, Gestão da Comunicação e do Conhecimento. Atualmente Professora/Tutora Ensino a Distância da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e professora nas Faculdade Integradas dos Campos Gerais (CESCAGE) e Coordenadora de Pós-Graduação.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-232-6



9 788572 472326