

PADRONIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DO ELISA INDIRETO PARA DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSE BOVINA UTILIZANDO COMO ANTÍGENO LIPOPOLISSACARÍDEO E EXTRATO PROTÉICO SOLÚVEL DE *Brucella abortus*

Pollyanna Mafra Soares^{2*}, João Helder Frederico de Faria Naves⁴, Tatiane Cristina Fernandes Tavares³, Mariana Assunção Souza², Dayane Olímpia Gomes²; Muriell Ribeiro Ganda², Mayara Mafra Soares¹, Anna Monteiro Correia Lima-Ribeiro⁵

A brucelose é uma zoonose de distribuição mundial, acarreta problemas sanitários importantes e prejuízos econômicos vultuosos a pecuária. A vacinação de fêmeas bovinas de 3 a 8 meses de idade e o sacrifício obrigatório de animais sororreagentes são importantes medidas de controle desta doença, descritas sob forma de lei através do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). Visto a obrigatoriedade da eliminação dos animais sororreagentes e a inexistência de um teste preciso para detecção da doença, objetivou-se padronizar e validar dois ensaios imunoenzimáticos indiretos (iELISA) para o diagnóstico da brucelose bovina, capaz de diferenciar animal recém-vacinado de naturalmente infectado, utilizando como antígeno Lipopolissacarídeo (LPS) e Extrato Protéico Solúvel (EPS), ambos extraídos da cepa 1119-3 de *Brucella abortus*. Para padronização utilizou-se duas concentrações dos antígenos; diferentes diluições de um pool de amostras negativas para brucelose, positivas de fêmeas bovinas recém-vacinadas contra brucelose e outro de fêmeas bovinas naturalmente infectadas para brucelose; e duas diluições de anticorpo secundário. Após serem padronizados, os testes foram validados com 96 amostras de soros

sanguíneos de bovinos previamente testados pelo Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e 2-Mercaptoetanol (2-ME), sendo 64 positivas (fêmeas bovinas naturalmente infectadas e recém-vacinadas) e 32 negativas. Os cálculos estatísticos foram feitos separando-se os grupos de amostras positivas de fêmeas bovinas naturalmente infectadas e de fêmeas bovinas recém-vacinadas. Para comparação entre os resultados dos testes foi usado o coeficiente *kappa*. Calculou-se a sensibilidade e a especificidade em relação ao 2-ME. Os testes iELISA/LPS e iELISA/EPS para amostras de soro de fêmeas bovinas naturalmente infectadas, e iELISA/LPS para amostras de soros de fêmeas bovinas recém-vacinadas, tiveram alta sensibilidade e especificidade, e concordância excelente com o 2-ME, porém não foi capaz de diferenciar animais recém-vacinados de naturalmente infectados, ao contrário do iELISA/EPS para amostras de soros de fêmeas bovinas recém-vacinadas, capaz de fazer esta diferenciação, porém com baixa sensibilidade e fraca concordância com o 2-ME. Constatou-se que o EPS pode se tornar um potencial antígeno para testes diagnósticos de brucelose.

Palavras-chave: *Brucella* sp. Imunodiagnóstico. Padronização

¹Graduanda em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV), Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e Integrante do Centro Colaborador de Defesa Agropecuária do Brasil Central.

²Mestranda no Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV), Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e Integrante do Centro Colaborador de Defesa Agropecuária do Brasil Central.

³Mestre em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV), Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e Integrante do Centro Colaborador de Defesa Agropecuária do Brasil Central.

⁴Doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

⁵Professora Adjunto IV, Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV), Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e Coordenadora do Centro Colaborador de Defesa Agropecuária do Brasil Central.

* Autor para correspondência: pollymafra@yahoo.com.br