

Padronização de um teste de ELISA para detecção de anticorpos contra toxina dermonecrótica de *Pasteurella multocida*, seu uso na titulação de anticorpos em soros de suínos e a comparação com os resultados do teste de soroneutralização

TESTA, Patricia G.; MARKS, Fernanda S.; CALDART, Eloiza T.; CANAL, Cláudio W. (Orientador)

Laboratório de Virologia, Departamento de Patologia Clínica Veterinária / Faculdade de Veterinária – UFRGS

Introdução

Pasteurella multocida é o principal agente causador da rinite atrófica progressiva (RAP) dos suínos. Esta bactéria produz uma toxina dermonecrótica (PMT) capaz de causar atrofia dos cornetos nasais e distorções faciais. A RAP é uma doença infecto-contagiosa do trato respiratório superior de alta transmissibilidade e enzoótica em certas regiões. Além da redução no desempenho dos animais, provoca aumento da mortalidade, custos com tratamentos, vacinações e condenações de carcaças. Para controlar e prevenir a RAP, várias medidas podem ser implantadas, começando pelo bom manejo, higiene, sanidade e vacinação de fêmeas gestantes, a fim de proteger os leitões com anticorpos maternos passados pelo colostro. A presença da doença no rebanho ou a quantificação do nível de proteção vacinal pode ser realizada através de ensaio imunoenzimático (ELISA) ou teste de soroneutralização (SN).

Objetivos

Padronizar uma técnica de ELISA para detecção de anticorpos contra a PMT; titular anticorpos em soros de fêmeas vacinadas e seus respectivos leitões pela técnica de ELISA e SN; e realizar uma análise comparativa dos títulos obtidos nos dois testes.

Materiais e Métodos

• **Amostras:** Foram utilizados 300 soros de fêmeas vacinadas contra RAP e de leitões de granjas comerciais de suínos situadas na Região Sul do Brasil com características semelhantes de produção.

• **SN:** A padronização do teste foi realizada em trabalho anteriormente apresentado (SIC 2009), sendo que a presença de anticorpos neutralizantes contra PMT nas amostras foi determinada pela capacidade do soro em inibir o efeito citopático induzido pela toxina em células de cultivo VERO.

• **ELISA:** A padronização do teste ainda está em fase de preparação.

• **Comparação entre resultados de ELISA e SN:** A comparação entre os métodos de SN e ELISA para titulação de anticorpos contra a toxina PMT será realizada através de uma curva ROC (Receiver Operating Characteristic).

Resultados e Discussão

Uma das maneiras de avaliar a eficácia de uma vacina é através do nível de anticorpos neutralizantes gerados no animal, e uma maneira de quantificar isso é através de um teste de SN.

Fêmeas de diferentes ordens de parto (OP) foram imunizadas com a mesma vacina. Todas as gestantes receberam o mesmo protocolo de vacinação e seus leitões foram manejados da mesma maneira (manejo adequado do colostro).

Os resultados obtidos demonstram que não há diferença significativa no título de anticorpos neutralizantes contra a PMT entre as OPs, tanto nas fêmeas como nos seus respectivos leitões (Tabela 1). Contudo, em todas as OPs os títulos de anticorpos neutralizantes contra PMT mantiveram-se acima do valor mínimo de proteção (4 log₂) sugerido por diversos autores (Tabela 1).

Tabela 1. Título de anticorpos neutralizantes (log₂)^a contra PMT em amostras de fêmeas de diferentes ordens de parto (OP) e de seus leitões.

	Fêmeas	Leitões
1ª OP	4,4 ± 0,2	5,4 ± 0,2
2ª OP	5,3 ± 0,4	5,7 ± 0,3
3ª OP	5,7 ± 0,4	6,0 ± 0,2
4ª OP	5,0 ± 0,3	5,3 ± 0,2
5ª OP	5,5 ± 0,4	6,2 ± 0,3
6ª OP	5,4 ± 0,3	5,8 ± 0,2
7ª OP	5,5 ± 0,5	4,8 ± 0,4

^amédia ± erro padrão

Nosso próximo objetivo será padronizar o ELISA para detecção de anticorpos contra a PMT e assim comparar os resultados obtidos com todas as amostras analisadas pelo método de SN. O estabelecimento deste ELISA provavelmente permitirá aumentar a sensibilidade do teste, facilitará sua execução e diminuirá seu custo.

Conclusões

• A vacina utilizada no trabalho foi capaz de gerar proteção adequada contra a RAP.

• Não há relação entre o título de anticorpos contra PMT e a ordem de parto.

• Provavelmente, o estabelecimento do ELISA proporcionará a comparação com o teste de SN e permitirá a seleção do teste que apresente as melhores características para detecção de anticorpos contra PMT.