

Resumos

Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis
VI Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril



8 a 10 de Agosto de 2017

Sinop, MT



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agrossilvipastoril
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**Resumos do
Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis e da
VI Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril**

Editores Técnicos

Alexandre Ferreira do Nascimento

Daniel Rabello Ituassu

Eulália Soler Sobreira Hoogerheide

Fernanda Satie Ikeda

José Ângelo Nogueira de Menezes Júnior

***Embrapa
Brasília, DF
2017***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agrossilvipastoril

Rodovia dos Pioneiros, MT 222, km 2,5
Caixa Postal: 343
78550-970 Sinop, MT
Fone: (66) 3211-4220
Fax: (66) 3211-4221
www.embrapa.br/
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo e pela edição

Embrapa Agrossilvipastoril

Comitê de publicações

Presidente

Flávio Fernandes Júnior

Secretário-executivo

Daniel Rabello Ituassú

Membros

Aisten Baldan, Alexandre Ferreira do Nascimento, Dulândula Silva Miguel Wruck, Eulalia Soler Sobreira Hoogerheide, Flávio Dessaune Tardin, Jorge Lulu, Laurimar Gonçalves Vendrusculo, Rodrigo Chelegão, Vanessa Quitete Ribeiro da Silva

Normalização bibliográfica

Aisten Baldan (CRB 1/2757)

1ª edição

Publicação digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Embrapa Agrossilvipastoril.

Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis; Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril (6. : 2017 : Sinop, MT.)

Resumos ... / Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis e da VI Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril / Alexandre Ferreira do Nascimento (et. al.), editores técnicos – Brasília, DF: Embrapa, 2017.
PDF (335 p.) : il. color.

ISBN 978-65-87380-46-9

1. Congresso. 2. Agronomia. 3. Ciências ambientais. 4. Zootecnia. I. Embrapa Agrossilvipastoril. III. Título.

CDD 607

Aisten Baldan (CRB 1/2757)

© Embrapa 2018

Editores Técnicos

Alexandre Ferreira do Nascimento

Engenheiro agrônomo, doutor em Solos e nutrição de plantas, pesquisador da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

Daniel Rabello Ituassu

Engenheiro de Pesca, mestre em Biologia de Água Doce e Pesca, pesquisador da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

Eulália Soler Sobreira Hoogerheide

Engenheira agrônoma, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

Fernanda Satie Ikeda

Engenheira agrônoma, doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

José Ângelo Nogueira de Menezes Júnior

Engenheiro agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Sinop, MT

Diagnóstico de *brucella ovis* pelo teste elisa usando o protocolo BP26r em ovinos do médio-norte mato-grossense

Raiane Gosenheimer Peruffo^{1*}, Valéria Spyridion Moustacas², Camila Eckstein³, Renato de Lima Santos³, Luciano Bastos Lopes²

^{1*}UFMT, Sinop, MT, raiane_peruffo@hotmail.com,

² Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT, valeria.moustacas@embrapa.br, luciano.lopes@embrapa.br,

³ UFMG, Belo Horizonte, MG, camila.eckstein@gmail.com, rsantosufmg@gmail.com.

Introdução

O Brasil possui cerca de 17,6 milhões de cabeças de ovinos, entre os estados, Mato Grosso representa aproximadamente 2% do rebanho efetivo nacional (Instituto..., 2015). Segundo Viana (2008), o ovino foi umas das primeiras espécies domesticadas pelo homem, tendo uma importância histórica como atividade de subsistência (Silva Sobrinho, 2006). Atualmente, a ovinocultura pode ser considerada uma atividade promissora no cenário do agronegócio, embora seja evidente a necessidade de um maior controle sanitário e, paralelamente, o desenvolvimento de métodos de diagnóstico e controle eficientes (Madruga et al., 2005).

A brucelose é causada pela bactéria *Brucella ovis*, desencadeando quadros de epididimite, infertilidade ou subfertilidade, abortos ou nascimento de cordeiros fracos (Martins et al., 2013). A penetração do agente pode ocorrer pelas mucosas conjuntival, nasal, peniana, vaginal ou retal, sendo que após a ocorrência de bacteremia, o agente alcança órgãos como baço, rins, fígado e principalmente, os órgãos sexuais devido ao tropismo (Lira, 2009). Devido à grande variação dos períodos de incubação e intermitência da eliminação do agente, o diagnóstico pode resultar em resultados falso negativos, ou ainda, falso positivos (Martins, 2013). Os testes de diagnóstico preconizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento são os de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) e Fixação de Complemento (FC) (Brasil, 2004). Estudos comparativos apresentaram sensibilidade no IDGA de 96,4 a 97,10%, e para a FC a sensibilidade foi de 92,7%. Entretanto, o teste de *ELISA* (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) apresentou-se como o mais sensível (97,6%), com uma especificidade de 100% (Batista, 2012).

Objetivou-se nesse estudo verificar a ocorrência de anticorpos anti-*B. ovis* em ovinos da região médio-norte de Mato Grosso pelo teste do *ELISA* indireto utilizando a proteína periplasmática recombinante BP26 como marcador sorológico da infecção.

Material e Métodos

Para o desenvolvimento do estudo foram incluídos os municípios de Ipiranga do Norte, MT, Sinop, MT, Vera, MT, Itaúba, MT e Santa Carmem, MT. Foram escolhidas

aleatoriamente 21 propriedades onde foi feita uma amostragem de pelo menos 10% do rebanho, totalizando 330 amostras. Após a coleta do sangue, as amostras seguiram para o Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Agrossilvipastoril, localizada no município de Sinop, MT. O material foi centrifugado (3000xg por 15 minutos) para obtenção do soro, para posteriormente ser aliquotado em microcubos e armazenado a -20 °C.

Duas amostras de soro de carneiros sabidamente positivo e negativo pelos testes preconizados pelo MAPA foram usadas como controle. O diagnóstico da infecção por *B. ovis* foi realizado por *ELISA* indireto (França et al., 2014) e resumidamente consistiu em cinco etapas: Etapa 1: Adsorção do Antígeno Bp26r de *B. ovis* (500 ng poço⁻¹) em tampão carbonato nas placas. Etapa 2: Bloqueio das placas adsorvidas e congelamento. Etapa 3: Diluição dos soros 1:20 em PBSTL 1% (solução salina tamponada fosfatada com 0,05% de Tween 20 e 1% de leite em pó). Após a diluição aplicou-se 100 µL dos soros, em duplicata, em cada poço e a placa foi incubada a 25 °C por 1 hora. Ao final do período de incubação foram feitas três lavagens com 200 µL de PBST 0,005% (PBST com 0,005% de leite em pó). Etapa 4: Adição do anticorpo conjugado. Em cada poço foi aplicado 100 µL de IgG de coelho anti-ovino conjugado com peroxidase, na diluição de 1:4000 em PBSTL 1% e incubada a placa a 37° C por 1 hora. Em seguida, três novas lavagens com 200 µL de PBST 0,005% por poço. Etapa 5: Adição do substrato. Foram aplicados 100 µL da solução contendo 0,5 mg mL⁻¹ de OPD (θ-Phenylenediamine) diluído em tampão citrato-fosfato pH 5.0 (0,1 M ácido cítrico anidro, 0,2 M fosfato de sódio e peróxido de hidrogênio PA 130 volumes) e adicionado quantidade suficiente de água para completar 10 mL. A placa foi incubada por 10 minutos a 25 °C. Após este período, foi adicionado 40 µL de ácido sulfúrico 4 M e procedida a leitura em leitor de *ELISA* (Multiskan FC, Thermo Fischer Scientific) a 494 nm.

O cálculo do resultado foi feito através da regra de três, onde M (média das absorbâncias das duas replicatas do controle positivo está para o valor esperado do controle positivo (0,835), e T (média das absorbâncias das amostras testadas) está para X (valor da absorbância corrigida da amostra). Animal negativo apresentou $X < 0,220$, animal inconclusivo $0,222 \leq X \leq 0,263$ e animal positivo $X > 0,263$.

Resultados e Discussão

Os resultados do teste de *ELISA* por município estão representados na Tabela 1. Todos os municípios amostrados apresentaram sorologia positiva em pelo menos 15% dos animais. Sinop apresentou a maior ocorrência, com 52% (52/100) de animais positivos



(Tabela 1). Das 21 propriedades amostradas apenas uma não apresentou casos positivo, sendo assim, 95,2% das propriedades possuem incidência da infecção.

Tabela 1. Frequência de ovinos soro-reativos para *Brucella ovis* pelo teste de *ELISA* indireto na região médio-norte de Mato Grosso.

Município	Positivos	Negativos	Total
Itaúba	47	57	104
Sinop	52	48	100
Vera	26	29	55
Ipiranga	6	34	40
Santa Carmem	9	22	31
Total	140	190	330

Os machos são mais susceptíveis do que as fêmeas à infecção por *B. ovis*, e são a principal fonte de disseminação do agente, pois copulam com um grande número de fêmeas além de apresentarem comportamento homossexual (Lira, 2009). Por outro lado, as fêmeas muitas vezes atuam como portadoras assintomáticas, disseminando a bactéria para os machos do rebanho. Dessa forma, fica evidente que ambos os sexos são importantes na epidemiologia do agente e, no presente estudo, foi possível verificar que não houve diferença no percentual de animais positivos entre os sexos (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência de fêmeas e machos ovinos com anticorpos anti-*Brucella ovis* por *ELISA* indireto na região médio-norte de Mato Grosso.

Categoria	<i>ELISA</i>
Fêmeas	42,4% (125/295)
Machos	42,8% (15/35)
Total	42,4% (140/330)

A Tabela 3 apresenta um levantamento soroepidemiológico através da técnica de IDGA em diferentes regiões brasileiras. Os dados comparados com o resultado do teste Elisa do atual trabalho mostra que a região de Mato Grosso possui uma porcentagem de igual ou muito maior de animais positivos comparativamente com os estudos listados abaixo.

Tabela 3. Levantamento soroepidemiológico para *Brucella ovis* em ovinos no Brasil, segundo a técnica de IDGA.

Estudo	Prevalência	Técnica	Local
Nozaki et al. (2004)	0,00	IDGA	Região Centro-Oeste de São Paulo
Souza et al. (2011)	0,72	IDGA	Microrregião de Juazeiro/BA
Rizzo et al. (2009)	1,96	IDGA	São Paulo
Pinheiro Junior et al. (2009)	3,10	IDGA	Regiões Leste, Agreste e Sertão de Alagoas
Silva et al. (2009)	3,27	IDGA	Recôncavo Baiano
Azevedo et al. (2004)	5,00	IDGA	Ouro Branco/RN
Azevedo et al. (2004)	9,10	IDGA	Parelhas/RN
Azevedo et al. (2004)	10,70	IDGA	Jardim do Seridó/RN
Juliano et al. (2011)	12,70	IDGA	Corumbá/MS
Azevedo et al. (2004)	15,60	IDGA	Caicó-RN
Silva et al. (2003)	34,00	IDGA	Rio Grande do Norte

Fonte: Martins (2013).

Conclusão

A brucelose ovina possui alta ocorrência na região médio-norte de Mato Grosso, o que confirma a necessidade de métodos de diagnósticos eficientes e de fácil acesso, controle sanitário rígido e orientação para a população sobre a ocorrência da doença e sua relação com baixos índices reprodutivos.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Mato Grosso (Fapemat) e ao CNPq pelos recursos disponibilizados para realização do estudo.

Referências

- BATISTA, H. M. F., **Ocorrência de ovinos soropositivos para *Brucella ovis* nos rebanhos dos estados do Ceará e do Piauí**. 2012. 103 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, CE.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 102 (Plano Nacional de Vigilância e Controle da Epididimite Ovina). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 de dez 2004. Seção 1, p. 24-28.
- FRANÇA, S. A., MOL, J. P. S., COSTA, E. A. Indirect ELISA for diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 6, p.1695-1702, 2014.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Cidades. Disponível em: < <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/pesquisa/18/16459?ano=2015&tipo=ranking&indicador=16548> >. Acesso em: 16 jun 2017.
- LIRA, N. S. C.; MEGID, J. Patogenia da brucelose ovina. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 2, p. 280-289, 2009.
- MADRUGA, M. S.; SOUSA, W. H.; ROSALES, M. D.; CUNHA, M. D. G.; RAMOS, J. L. F. Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês terminados em diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 344, n.1, p. 309-315, 2005.
- MARTINS, N. E. X.; ALMEIDA, J. D. M.; SILVA, M. G.; SOUZA, M. G.; MATHIAS, L. A.; ALMEIDA, K. de S. Prevalência de anticorpos anti-*Brucella ovis* e anti-*Brucella abortus* em ovinos do município de colinas, Tocantins, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 42, n. 2, p. 147-160, 2013.
- SILVA SOBRINHO, A. G. Criação de Ovinos. Jaboticabal: Funep, 2006.
- VIANA. J. G. A. Panorama geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, ano 4, n. 12, p. 2008.