

## COMPARAÇÃO ENTRE A SORONEUTRALIZAÇÃO E IMUNOPEROXIDASE EM MONOCAMADA CELULAR PARA DIAGNÓSTICO DE *SENECAVIRUS A* EM SUÍNOS

Brenda Leticia Leal dos Santos Silva<sup>1\*</sup>, Bárbara Chrispin Longo<sup>2</sup>, Brenda Monique Magalhães Rocha<sup>2</sup>, Júlia Machado Caetano Costa<sup>1</sup>, Maria Isabel Maldonado Coelho Guedes<sup>4</sup>, Marcelo Fernandes Camargos<sup>3</sup>, Nágila Rocha Aguilar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais- UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil – \*Contato: brendazebral@vetufmg.edu.br

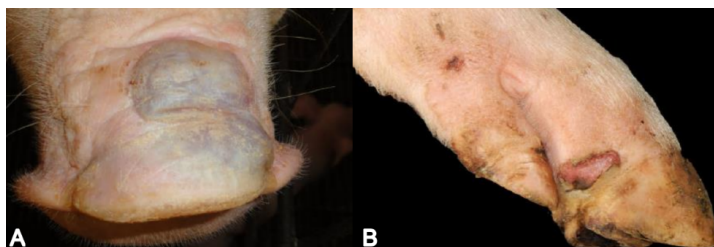
<sup>2</sup>Discente no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Universidade Federal de Minas Gerais- UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>3</sup>Médico Veterinário no Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Minas Gerais - LFDA - Pedro Leopoldo/MG - Brasil

<sup>4</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

### INTRODUÇÃO

O *Senecavirus A* (SVA) é o único representante do gênero *Senecavirus*, pertencente à família *Picornaviridae*<sup>1</sup>. A partir de 2014, surtos de doença vesicular em suínos associada ao SVA vêm sendo relatados em diversos países<sup>2</sup>. Estudos demonstram que a contaminação ambiental e o contato direto entre animais suscetíveis e doentes são as principais formas de transmissão do agente<sup>3</sup>. Após contaminados, leitões de até cinco dias podem desenvolver a Síndrome Multissistêmica Neonatal<sup>4</sup>. Em animais adultos, a infecção causa letargia, claudicação e vesículas nos lábios, no focinho e nos cascos, principalmente na banda coronária e nos espaços interdigitais desses animais<sup>5</sup>. Estas vesículas (Figura 1) são clinicamente indistinguíveis de doenças vesiculares clássicas, como a Febre Aftosa, que requer notificação obrigatória. Dessa forma, pode acarretar barreiras comerciais e sanitárias, e afetar negativamente o mercado de carne suína brasileiro. Por isso, é necessário que haja o desenvolvimento de testes de diagnóstico rápidos que permitam o monitoramento do agente no país. Atualmente, o teste indireto comumente utilizado é a soroneutralização (SN), entretanto é laboriosa e de alto custo. A imunoperoxidase em monocamada celular (IPMC), além de já ser utilizada para detecção de diversos agentes na suinocultura, é de fácil execução e pode ser realizada em larga escala. Dessa forma, o objetivo do presente estudo é comparar o desempenho do IPMC em relação à SN.



**Figura 1:** Lesões causadas por infecção natural por SVA. A) Vesícula na face dorsal do focinho; B) Ulceração da banda coronária do casco<sup>6</sup>

### METODOLOGIA

Para padronização das técnicas, foi realizado cultivo celular com a amostra NCI-H1299 - linhagem epitelial de carcinoma pulmonar humano. Multiplicação e avaliação cinética da amostra viral (SVA LPVA4). Amostras de soro suíno sabidamente positivas (4) e negativas (4) para controle. Para comparação das técnicas, foram usadas amostras em duplicata (50) provenientes de granjas em que houve surto de doença vesicular. Os ensaios de neutralização foram realizados conforme protocolo prévio com modificações. A leitura do título de anticorpos neutralizantes ocorre pela observação de até 50% de efeito citopático (arredondamento e lise celular) na monocamada de células na maior diluição. O IPMC foi desenvolvido com base em protocolos pré-existentes para outros patógenos, utilizando-se a proteína secundária Anti-IgG-suína. A leitura foi feita em microscópio de luz invertida e é observada a marcação rosada da solução reveladora em amostras positivas. A comparação e a avaliação do desempenho entre os testes

foram feitas pelo Coeficiente *Kappa* e a área sob a curva de ROC associada ao Índice de Youden, através de softwares.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado de 40 amostras de soro suíno foi divergente entre os testes (Tabela 1). Aplicando-se estes dados em análises estatísticas, o Índice de Youden determinou o ponto 1:1280 como o mais apropriado para o novo método, com maior especificidade e sensibilidade. A área sob a curva ROC foi de 0,601 e demonstra que o IPMC tem menor eficiência em detectar verdadeiros-positivos e falsos-positivos. O índice *Kappa* foi de 0,22, concordância razoável (60%).

**Tabela 1 -** Comparação de desempenho entre as técnicas de SN e IPMC das 100 amostras de soro suíno

| Resultados IPMC | Resultados SN |          |       |
|-----------------|---------------|----------|-------|
|                 | Positivo      | Negativo | Total |
| Positivo        | 30            | 12       | 42    |
| Negativo        | 28            | 30       | 58    |
| Total           | 58            | 42       | 100   |

A infecção por *Senecavirus A* acarreta uma rápida resposta imune humoral com elevação de anticorpos neutralizantes da classe IgM, e posterior aumento do isotipo IgG<sup>4</sup>. As diferenças nos resultados da SN e do IPMC provavelmente foram observadas devido à capacidade de detecção de diferentes isotipos entre os métodos: SN detecta IgM e IgG, e o IPMC apenas IgG, devido ao anticorpo secundário utilizado. Corroborando com esse fator, o status sorológico e período de coleta desses rebanhos era desconhecido.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Até o momento é recomendada a utilização do teste de IPMC em associação a outros métodos indiretos. Entretanto, haja vista as vantagens deste e ao fato de serem eficientes na detecção de anticorpos, e na facilidade de alteração do anticorpo secundário, é necessário que novas avaliações sejam realizadas em amostras de soro bem determinadas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>1</sup>International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). 2021.
- <sup>2</sup>LEME, R. A.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Update on *Senecavirus Infection* in Pigs. *Viruses*. v. 9(7). 2017.
- <sup>3</sup>JOSHI, L. R. et al. Pathogenesis of *Senecavirus A* infection in finishing pigs. *Journal of General Virology*. 2016a. v.97. p.3267–3279.
- <sup>4</sup>MAGGIOLI, M. F. et al. Adaptive Immune Responses following *Senecavirus A* Infection in Pigs. *Journal of Virology*. v.92. p. 1-17. 2018.
- <sup>5</sup>LEME, R. A.; ZOTTI, E.; ALCÂNTARA, B. K. et al. *Senecavirus A*: An Emerging Vesicular Infection in Brazilian Pig Herds. *Transboundary and Emerging Diseases*. v. 62. p. 603-611. 2015.
- <sup>6</sup>SEGALÉS, J. et al. *Senecavirus A*: An Emerging Pathogen Causing Vesicular Disease and Mortality in Pigs. *Veterinary Pathology*.v.54(1). p. 11–21, 2017.