

AVALIAÇÃO DE UM KIT DE IMUNOENSAIO ENZIMÁTICO NA DETECÇÃO DE GLICOPROTEÍNAS ASSOCIADAS A PRENHEZ BOVINA

Antonio Fabricio Ribeiro¹
Vanessa Lopes Dias Queiroz de Castro²

vanessalopq@gmail.com

ÁREA DE CONHECIMENTO: Ciências Agrárias

PALAVRAS-CHAVE: embrião; placenta; prenhez; vaca

INTRODUÇÃO

Atualmente, dentre as biotecnologias amplamente utilizada está o uso da ultrassonografia para diagnóstico de prenhez, a partir de 28 dias (FERREIRA, 2010). Após o isolamento e caracterização da gonadotrofina coriônica humana e consequentemente da gonadotrofina coriônica equina, muitas tentativas foram feitas para identificar uma molécula equivalente em ruminantes (FOSTER, 1956). Métodos alternativos de diagnóstico de prenhes por meio da identificação de proteínas produzidas na placenta e detectáveis por análise de sangue vêm ganhando destaque. Glicoproteínas associadas à gestação (PAGs) foram caracterizadas como proteínas principais liberadas por células trofoblásticas de ruminantes durante a gestação, ou seja, secretadas somente quando há a presença de um embrião (ZOLI, et al., 1991; BANO et al., 1996; GREEN et al., 2000). O objetivo deste estudo foi testar um kit ELISA (*Bovine Pregnancy Test Kit*, IDEXX®) de leitura visual disponível no mercado capaz de detectar as glicoproteínas associadas à gestação (PAGs) no 10º, 15º, 20º, 25º e 27º dia após a inseminação artificial a fim de testar a possibilidade da marcação de forma mais precoce possível.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido na fazenda São Pedro (ES). Foram utilizadas 30 vacas, as quais foram mantidas em um pasto de *Brachiaria brizantha* com livre acesso a água e sal mineralizado. Todas as vacas foram submetidas ao protocolo de IATF: D(0) todas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (Primer®, Tecnopec) e 2 ml de benzoato de estradiol (Ric-be®, Tecnopec). No D(9) os dispositivos intravaginais foram retirados e admistrou-se 2 mL PGF2α (Estron®, Tecnopec); 0,5 mL de cipionato de estradiol (ECP®, Zoetis) e 2 mL de eCG (Novormon®, Zoetis). A IA ocorreu no D (11). Nos dias 10, 15, 20, 25 e 27 pós-inseminação as vacas foram trazidas ao brete para coleta de sangue da artéria coccígea com tubos *vacuteiner* previamente identificados. As amostras de sangue foram preservadas em uma caixa térmica para a realização do teste utilizando o Kit (*Bovine Pregnancy Test Kit*, IDEXX®) com o sangue total, no mesmo dia da coleta, de acordo com as instruções do fabricante, o qual preconiza a eficiência do teste aos 28 dias de prenhez. Aos sessenta dias pós-inseminação foi realizada a confirmação

¹ Acadêmico do curso de Medicina Veterinária – Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX – Matipó.

² Doutora em Medicina Veterinária- Professora do curso de Medicina Veterinária da Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX - Matipó.

da prenhez com a utilização da ultrassonografia transretal (DP 10 power, MINDRAY®). A análise de dados se deu de maneira descritiva.

RESULTADOS e DISCUSSÃO

A taxa de prenhez foi de 50% (15/30) confirmada aos 60 dias pós-inseminação por meio da ultrassonografia, deste modo, esta ferramenta foi utilizada como padrão para cálculo da sensibilidade, especificidade e exatidão do teste nos demais tempos pós-inseminação artificial. Não houve perda gestacional e nenhuma análise nos diferentes dias testados com o kit interpretada como falso positivo. As PAGs foram marcadas nos dias 10, 15, 20, 25 e 27 pós-inseminação artificial, sendo seis vacas nos dias 10, 15 e 20, enquanto no dia 25 a marcação se deu em 12 fêmeas e no 27° dia todas foram positivas. Ademais, a sensibilidade do teste (proporção de animais gestantes que realmente apresentaram diagnóstico de prenhez positivo aos 60 dias), a especificidade do teste (proporção de animais não gestantes que apresentaram diagnóstico de prenhez negativo aos 60 dias) e a exatidão do teste (proporção de diagnósticos de prenhez positivos e negativos dentre todos realizados) foi de 100% no 27° dia. Apesar de ter sido possível observar a marcação em algumas vacas desde o dia 10 pós-inseminação, esta marcação se apresentou como vestígios, no entanto, ao avançar dos dias a coloração foi se intensificando, condizente com o aumento da secreção das PAGs conforme o processo de implantação. As amostras não marcadas até o 25° dia pós-inseminação, remetem a uma concentração insuficiente de glicoproteínas na amostra para a marcação, mas não houve nenhuma amostra marcada como positiva que não fosse confirmada a prenhez aos 60 dias por ultrassonografia, evidenciando a especificidade de 100% do teste não apresentando nenhuma reação cruzada. Vale ressaltar que a identificação precoce, mesmo com pouca intensidade foi de grande valia para o produtor, uma vez que não houve nenhuma marcação falso positivo e isso contribuiu para tomadas de decisões visando o melhor manejo e lucratividade. A progesterona, por sua grande e indispensável importância na manutenção da gestação, comumente é o hormônio utilizado para testes de detecção de prenhez em diversos animais, no entanto, se faz necessário um aporte laboratorial, por meio do método de radioimunoensaio o que não é necessário quando se utiliza o teste de marcação das PAGs visto que o teste utilizado é um ELISA de leitura visual. Consequentemente, a confiabilidade é de 95 a 100% no caso dos testes PAGs (SASSER et al. 1986; ZOLI et al. 1992).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Kit comercial para o diagnóstico de prenhez em bovinos por meio da marcação das PAGs se mostrou um método prático a campo e eficaz podendo apresentar vestígios de marcação aos dez dias pós-inseminação e 100% aos 27 dias.

REFERÊNCIAS

BANO, M; PRASAD, S.; DICKSON, R.B.; CHANT, W-Y. **Detection of pregnancy-specific β 1, glycoproteins in human milk.** The Breast, v.5, p.61-66, 1996.

FERREIRA, A. M. **Reprodução da fêmea bovina.** 1. ed. Editar. Rio de Janeiro, Valença, 2010.

FOSTER, T.S. **Gonadotrophins of bovine blood and urine.** Journal Agricola Scientia, v.36, p.463–470, 1956.

SASSER, R.G.; RUDER, C.A.; IVANI, K.A.; BUTLER, J.E.; HAMILTON, W.C. **Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation.** *Biology of Reproduction*, v.35, p.936-942, 1986.

ZOLI, A.P.; GUILBAULT, L.A.; DELAHAUT, P.; WASHINGTON, B.O.; BECKERS, J.F. **Radioimmunoassay of a bovine pregnancy associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis.** *Biology of Reproduction*, v.46, p.83–92, 1992.

GREEN, J.A.; XIE, S.; QUAN, X.; BAO, B.; GAN, X.; MATHIALAGAN, N.; BECKERS, J.F.; ROBERTS, R.M. **Pregnancy-associated bovine and ovine glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy.** *Biology of reproduction*, v.62, p. 1624-1631, 2000.