

Nº 51, maio/99, p.1-3

TESTE DE IMUNODIFUSÃO EM GEL DE AGAROSE NO DIAGNÓSTICO DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA UTILIZANDO ANTÍGENOS DO LENTIVÍRUS CAPRINO E OVINO

OK

Francisco Selmo Fernandes Alves¹

A Artrite Encefalite Caprina a Vírus (CAEV) é uma infecção multisistêmica causada por um vírus que pertence à família *Retroviridae* e subfamília *Lentivirinae*. Outras lentivirose, como a Pneumonia Progressiva Ovina (OPP) ou Maedi-Visna (MVV), Anemia Infecciosa Equina (EIA) e a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), estão relacionadas geneticamente.

Evidências indicam que o vírus da CAEV e da OPP infectam células da linhagem monócito-macrófagos e causam infecções crônicas persistentes em caprinos e ovinos, respectivamente. O sintoma clínico da CAEV mais consistente em caprinos adultos é o aumento da articulação carpo-metacarpiana, que apresenta-se entre 12% a 40% dos animais infectados. Os animais infectados que não apresentam sinais clínicos e que, também estão soronegativos ao teste sorológico, representam grande problema, pois permanecem sendo transmissores potenciais do vírus. Os possíveis fatores que favorecem este quadro são de ordem genética, de manejo, de nutrição, das infecções concorrentes, do meio ambiente, da idade do animal no período da doença, da patogenicidade da cepa viral e dos níveis de anticorpos circulantes.

A CAEV é específica de caprinos, entretanto, a infecção experimental foi demonstrada em ovinos com o vírus da CAEV e em caprinos com o vírus da OPP. Até o momento, não se têm dados sobre a transmissão e disseminação cruzada destes vírus entre essas espécies em ambiente natural.

O diagnóstico da CAEV baseia-se nos sinais clínicos, nas lesões anátomo-patológicas e exames sorológicos. O teste sorológico comumente utilizado é o da Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), que detecta anticorpos contra proteínas estruturais do vírus. A sensibilidade e a especificidade do teste de IDGA estão relacionadas diretamente com o tipo de antígeno utilizado.

Como o vírus da OPP apresenta semelhança de antígenos ao vírus da CAEV, e é de fácil isolamento e crescimento, os antígenos produzidos a partir do vírus da OPP, em cultura, são, por sua vez, empregados na forma de "kits" no teste sorológico de IDGA para o diagnóstico de rotina da CAEV em rebanho. Os antígenos utilizados do vírus da OPP são oriundos tanto de uma proteína de membrana denominada nucleoproteína (p28) como da superfície chamada de glicoproteína (gp135). Então, o teste de IDGA

¹Méd. -Vet., Ph.D., Pesquisador da *Embrapa Caprinos* - E-mail: selmo@cnpq.embrapa.br

disponível no mercado contém antígenos do vírus da OPP e soro reagentes de ovinos, em forma de kits, sendo o mesmo utilizado para detectar anticorpos para o vírus da CAEV e OPP, respectivamente.

Tendo em vista que os programas de controle e erradicação da CAEV dependem, em parte, da precisão, sensibilidade e especificidade do teste de IDGA, buscou-se neste estudo, utilizar os kits comerciais importados contendo os antígenos do lentivírus da CAEV e OPP, em separado, para analisar soro de caprinos no diagnóstico da artrite encefalite caprina. O experimento foi conduzido no Laboratório de Patologia Clínica da *Embrapa Caprinos*, em Sobral, Ceará. Utilizaram-se 77 amostras de soro de caprinos da raça Saanen, com idade entre oito meses a quatro anos, oriundas do estado do Espírito Santo. Inicialmente, o teste sorológico de IDGA foi aplicado utilizando-se o kit contendo antígenos (gp135 e p28) do vírus da CAEV/OPP produzido pelo Veterinary Diagnostic Technology Laboratory, Wheat Ridge, CO, U.S.A., seguindo as recomendações do fabricante. No segundo momento, utilizou-se o kit importado do mesmo laboratório, o qual continha antígenos (gp 135 e p28) específicos do vírus da CAEV. Na preparação do teste, foi utilizado Agarose PA (type I-A Lox EOP – Sigma). O tampão fosfato (2,2g de fosfato de sódio dibásico, 0,22 g de fosfato de sódio monobásico, 8,5 g de cloreto de sódio em um litro de água destilada – pH 7,0) foi utilizado com o teste kit CAEV/OPP e o tampão borato (9g de ácido bórico, 2g de cloreto de sódio em um litro de água destilada – pH 8,6) no teste kit CAEV. A solução foi alíquotada e mantida entre 2 e 8°C. No momento do uso, do ágar foi liquefeito e distribuído em lâminas de vidro lapidada lisa de 26mm x 76mm de tamanho (4,5ml por lâmina), permanecendo à temperatura ambiente até sua solidificação e, posteriormente, mantidas entre 2 a 8°C por 18-24 horas. O gel era perfurado utilizando instrumento contendo sete rosetas em forma de poços, sendo um central e os outros seis em torno deste, de acordo com o método preconizado por Gouveia (1994). Na execução do teste, cada antígeno era aplicado no poço central e os soros padrão e os testes distribuídos em poços alternados conforme mostrado na Figura 1. As lâminas eram acondicionadas em um recipiente de plástico, fechado, úmido, e permanecendo à temperatura ambiente (25°C) por 72 horas. A leitura foi realizada observando-se a linha de precipitação de identidade formada entre soro teste e antígeno (Figura 1).



FIG. 1. Configuração do teste de IDGA em lâmina e resultado positivo.

Dos 77 soros analisados utilizando o kit CAEV/OPP, 39 amostras (50,6%) apresentavam resultados positivos e 38 (49,3%) negativos (Tabela 1), sendo que deste total, 10 amostras, aproximadamente (12,9%), foram submetidas à repetição. Por outro lado, nas mesmas amostras pesquisadas com o kit contendo antígeno específico do vírus da CAEV, obteve-se 49 amostras positivas (63,6%), e 28 (36,3%) negativas, sendo que deste total, 11 amostras (14,2%) foram submetidas à repetição. O teste de IDGA utilizando antígeno específico do vírus da CAEV apresentou maior precisão e sensibilidade em relação ao antígeno heterólogo da CAEV/OPP em detectar anticorpos circulantes do vírus. Apesar do teste de IDGA com o kit contendo antígenos da CAEV/OPP ter apresentado sensibilidade mais reduzida que o kit com antígenos do vírus da CAEV, ainda, é o antígeno recomendado para diagnóstico da CAEV por estar liberado para comercialização pelo USDA. O teste é utilizado para ser aplicado em nível de rebanho e monitorar programa de controle da CAEV, já implantado. No entanto, faz-se necessário a utilização de kit antígenos específico do vírus da CAEV em teste sorológico de triagem.

TABELA 1. Resultados do teste sorológico de IDGA em 77 amostras de soro de caprinos utilizando kits contendo antígenos do lentivírus caprino e ovino.

Resultados	Kit Antígeno	
	PPO	CAEV
Positivo	39 (50,6 %)	49 (63,6 %)
Negativo	38 (49,3 %)	28 (36,3 %)
Total	77	

Referências Bibliográficas

GOUVEIA, A.M.G. **Relatório de consultoria**; Setor Sanidade Animal. Sobral: Embrapa Caprinos, 1994. 124p.