



Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Avaliação da soro prevalência da CAE por teste laboratorial de IDGA ou Western Blotting em rebanhos de caprinos leiteiros do sertão da Paraíba e Pernambuco

Jader Forquim Prates; Ângela Maria Xavier Eloy.

1 Programa de Pós- Graduação em Zootecnia, CCAB, UVA; E-mail: jader.forquimprates@yahoo.com.br,
2 Ângela Maria Xavier Eloy, CCAB, Embrapa Caprinos e Ovinos; E-mail: angela.eloy@embrapa

Resumo: A Artrite Encefalite Caprina é uma enfermidade de curso progressivo, cujos principais sintomas observados são: artrite, pneumonia, mastite, emagrecimento progressivo e encefalomielite. O objetivo deste estudo foi comparar os testes de Imuno Diagnóstico em Gel de Agarose e Western Blotting em rebanhos caprinos leiteiros no sertão de Paraíba e Pernambuco. Foram utilizadas amostras de alíquotas de soro de sangue de 511 animais. Observou-se por IDGA a prevalência de 6,07 % de animais positivos para CAE (n=31) e por WB 16,44 % (n= 84), justificando se devido a maior sensibilidade do teste WB em relação ao IDGA. Houve também um número elevado de falsos negativos (n=53) por IDGA. Quanto ao WB o teste foi numericamente eficiente e identificou 10,37 % a mais de percentual positivos (n=53). Conclui- se que o teste de Western Blotting é a técnica atual que permite um melhor resultado diagnóstico para a detecção da CAE.

Palavras-chave: falsos negativos, testes imunodiagnósticos, vírus.

INTRODUÇÃO

A artrite encefalite caprina (CAE) é uma doença viral, crônica, sem cura ou tratamento, que acomete principalmente caprinos leiteiros. A infecção pelo vírus da CAE está presente na maioria dos rebanhos leiteiros de países industrializados, mas ocorre de modo raro em raças nativas de países em desenvolvimento, a menos que tenham contato com caprinos exóticos criados sob condições sanitárias desconhecidas e sem informações sobre a ocorrência da enfermidade. A enfermidade é de curso progressivo, cujos principais sintomas observados ao longo da infecção são: artrite, pneumonia, mastite, emagrecimento progressivo e encefalomielite nos animais jovens (ANDRIOLI, A. et.al, 2006). De acordo com Pinheiro et al., (2010) o diagnóstico imunológico usado na CAE depende da presença de anticorpos séricos para este vírus. A persistência desta infecção no rebanho é comum porque o vírus pode persistir sem causar doenças, sendo esta fase considerada de latente. Os testes sorológicos utilizados para diagnóstico da CAE são Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) e Western Blotting (WB), sendo o primeiro presumivelmente menos sensível, apresentando maior ocorrência de resultado falso negativo. O WB, apesar de maior sensibilidade, é mais oneroso e complexo em sua realização. O objetivo deste estudo foi comparar os testes de IDGA e WB em rebanhos leiteiros no sertão de Paraíba e Pernambuco.



Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto está em acordo e seguiu as normas de 3Rs (reduction, replacement and refinement) estabelecidas pelo conjunto de convenções da Comissão de Ética no Uso de Animais em pesquisa (CEUA), sob registro no protocolo de nº 006/2020. Os animais selecionados para pesquisa pertencem às fazendas situadas na região do sertão dos estados da Paraíba (n=23) e Pernambuco (n=07) na região nordeste do Brasil, as análises diagnósticas foram executadas no laboratório de biologia molecular da Embrapa Caprinos e Ovinos localizada em Sobral – CE.

Unidades Experimentais

As unidades experimentais foram compostas da avaliação de alíquotas de soro de sangue de 511 animais. O soro de sangue foi obtido por meio de veni-punção jugular, utilizando-se tubos vacutainer sem anticoagulante. Foram coletados cerca de 10 mL de sangue de cada animal. As amostras foram centrifugadas a 2500 rpm, durante 10 minutos, em temperatura ambiente. Em seguida, o soro sanguíneo dos animais obtido foi armazenado a -20 °C até a realização dos testes de imunodifusão em Gel de Agarose e Western Blotting.

Produção de Antígeno para Testes de Imunodiagnóstico (IDGA e Western Blot - WB)

Para realização dos testes de imunodiagnóstico, como o IDGA e WB, é necessária a produção de antígeno proveniente de cultivo celular e inoculação viral por meio da cepa padrão do vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV). Esta etapa é realizada previamente no laboratório de virologia da unidade da Embrapa Caprino e Ovinos onde é confeccionada a proteína P28 para reação antígeno anticorpo no teste.

Delineamento Experimental

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente causalizado (DIC), sendo composto por animais testados negativos para CAE por testes de IDGA, Western Blotting e outro grupo formado por animais testados positivos. As variáveis avaliadas foram submetidas aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, para serem verificados os pressupostos de normalidade e homogeneidade, respectivamente. A comparação dos resultados entre os grupos será feita através de estatística descritiva. Utilizou-se 511 amostras de soro sanguíneo de caprinos de propriedades leiteiras na fase jovem e adulta na qual foram realizados os testes supracitados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se por IDGA a prevalência de 6,07 % de animais positivos para CAEV (n=31) e por WB 16,44 % (n= 84), justificando se devido a maior sensibilidade do teste WB em relação ao IDGA. Houve também um número elevado de falsos negativos (n=53) por IDGA. Quanto ao WB o teste foi numericamente eficiente e identificou 10,37 % de percentual positivos (n=53). Quanto a essa técnica diagnóstica da CAE evidenciou-se, certa barreira na execução em relação a questão de obtenção e manuseio do conjugado para o teste onde há algumas questões técnicas a serem superadas, relacionadas a sua produção e obtenção através da formação do anti-anticorpo em jumentos ou coelhos e sua forma de coleta e extração. Levando em consideração os testes realizados na bacia leiteira dos estados pode se inferir que o teste WB mostra se mais sensível. Houve animais positivos na Paraíba (n= 61), em Pernambuco (n=23),



Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

devido ao número amostral menor em relação ao tamanho de rebanho do estado de Pernambuco ter menos amostras disponíveis na análise. No entanto a distribuição e prevalência da CAE nos rebanhos apresenta percentuais entre ZERO e 52,94% de incidência nos rebanhos individuais do sertão da Paraíba e Pernambuco. Numericamente houve diferença entre os resultados positivos e negativos entre as análises de IDGA e Western Blotting, um elevado número de falsos negativos por IDGA indicam o Western blotting como uma análise de melhor eficiência.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o teste de Western Blotting é a técnica atual que permite um melhor resultado diagnóstico para a detecção da CAE. Porém, há evidências de problemas referente a obtenção e produção do conjugado do teste de WB, sugere-se que há uma necessidade de novas pesquisas que aprimorem as técnicas laboratoriais para diagnóstico da CAE, surgindo assim uma forte perspectiva em relação aos trabalhos com diagnóstico enzimático como o teste da Arilsulfatase, em curso como objeto do projeto principal proveniente desse ensaio experimental.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao órgão de fomento FUNCAP e a Embrapa Caprinos e Ovinos pelo provimento da bolsa, auxílio financeiro e estrutural) e demais instituições que contribuíram para a realização do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; MARTINS, A.S. et al. Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen. Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira., v.41, p.1313-1319, 2006.
- PINHEIRO, R.R.; ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G. et al. Avaliação de antígenos para o diagnóstico de lentivírus em rebanho caprino sob programa de controle. Arq. Inst. Biol., v.77, p.133-137, 2010.