

# X ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

## AVALIAÇÃO *IN VIVO* DO DODECIL SULFATO DE SÓDIO (SDS) COMO INATIVADOR QUÍMICO DO VÍRUS DA ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA (CAEV) EM LEITE E COLOSTRO

Ana Lúcia Madeira de Sousa<sup>1</sup>, Dalva Alana Aragão de Azevedo<sup>2</sup>, Juscilânia Furtado Araújo<sup>3</sup>, Vanderlan Warlington Souza dos Santos<sup>4</sup>, Raimundo Rizaldo Pinheiro<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Mestrado em Zootecnia, na Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, E-mail: analidiams10@yahoo.com.br. <sup>2</sup>Estudante do Curso de Doutorado em Ciência Veterinária, na Universidade Estadual do Ceará – UECE. <sup>3</sup>Estudante do Curso de Mestrado em Zootecnia, na Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA. <sup>4</sup>Estudante do Curso de Doutorado em Ciência Animal, na Universidade Federal Rural do Semiárido – UFRSA. <sup>5</sup>Orientador, Docente no curso de Zootecnia, na Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA/pesquisador da EMBRAPA Caprinos e Ovinos, E-mail: rizaldo.pinheiro@embrapa.br

### RESUMO

O objetivo da pesquisa foi avaliar *in vivo* a ação do dodecil sulfato de sódio (SDS) no colostro e leite caprino infectado com o vírus da artrite-encefalite caprina (CAEV), bem como a receptividade dos animais a ingestão do leite e colostro tratados com o químico. Foram utilizados 31 animais distribuídos em três grupos experimentais que receberam leite e colostro com concentrações de SDS de 0,25; 0,5 e 1%, durante seis dias de tratamento. Foram constituídos, também, dois grupos controles, negativo e positivo. Observou-se que as três concentrações de SDS no colostro não trouxeram alterações clínicas significativas no período de 24h de tratamento. Entretanto, com continuidade da administração do SDS no leite nas concentrações de 0,5% e 1,0% observou-se diarreia leve e morte de mais de 50% dos animais, respectivamente. Além disso, as três concentrações de SDS não foram efetivas na inativação do CAEV no colostro e leite caprino, comprovada pela soroconversão dos animais.

**Palavras-Chave:** Inativação viral; Macrófagos; Surfactante

### INTRODUÇÃO

A artrite-encefalite caprina (CAE) é uma enfermidade incurável, de caráter infectocontagioso (ADAMS; CRAWFORD, 1980), que acarreta, de modo geral, grandes perdas econômicas à caprinocultura (CARNEIRO, 2011). Esta enfermidade apresenta como principal via de transmissão, a ingestão de colostro e leite infectados com o vírus (ROWE et al., 1992). Segundo Herrmann-Hoesing et al. (2007), os animais são expostos a infecção, através do trato gastrointestinal, pela ingestão do colostro infectado, tanto pelo vírus livre como pelo pro-vírus presente no interior de monócitos/macrófagos. Portanto, a busca pelo bloqueio desta principal via de contágio, se faz necessária. Estudos atrelaram o dodecil sulfato de sódio (SDS), um agente surfactante, com propriedades lisantes e citolíticas, a uma possível atividade antiviral,

em protótipos do HIV-1 (Imunodeficiência Humana), HSV (herpes vírus) e HPV (papiloma vírus) em culturas celulares (PIRET et al, 2002). Urdaneta et al. (2005) e Krebs, et al. (1999) demonstraram que o SDS a 0,1% pode ser eficaz na inativação do HIV-1 no leite e relataram que esta concentração está dentro de limites seguros para consumo infantil. Além disso, outros estudos indicam que o SDS a 1% no colostro, é um biocida eficiente, e que os cabritos alimentados não sofreram déficit na transferência passiva imune e na saúde dos animais (MORALES-DE LA NUEZ et al., 2011). Portanto, questiona-se se o SDS poderia ser usado no bloqueio da transmissão do CAEV pelo colostro e leite.

O objetivo da pesquisa foi avaliar *in vivo* a ação do dodecil sulfato de sódio (SDS) no colostro e leite caprino infectado com o vírus da artrite-encefalite caprina, além da receptividade dos animais ao produto químico.

## METODOLOGIA

A diluição do SDS foi realizada, adaptando a metodologia utilizada por Urdaneta et al. (2005). Preparou-se uma concentração padrão (CP) a 10%, utilizando-se 100 g de SDS ( $\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$ ) para cada 1000 mL de água milli-Q estéril. Formaram-se as concentrações de 0,25; 0,5 e 1 % de SDS, utilizando, respectivamente, 25, 50 e 100 mL da CP para cada litro de colostro ou de leite caprino. Para a formação dos grupos experimentais foram utilizados 31 cabritos machos das raças Anglo-Nubiana e Saanen. Os animais foram separados imediatamente após o nascimento. Os grupos experimentais: G1, G2 e G3, compostos por sete animais cada, receberam o colostro e leite tratados com SDS à 0,25; 0,5 e 1%, respectivamente. Formaram-se, também, dois grupos controle (positivo e negativo), composto de cinco animais cada. O grupo positivo recebeu colostro e leite provindo de cabras positivas, sem nenhum tratamento prévio. Os animais do controle negativo, foram aleitados com fluidos tratados termicamente, à 56 °C, durante uma hora. Realizou-se o aleitamento experimental, durante seis dias, sendo as primeiras 24 horas, com colostro e os cinco dias restantes com leite. Houve acompanhamento experimental dos animais pelo teste de *Western blotting* (WB), segundo a metodologia descrita por Alves et al. (2012) e reação em cadeia de polimerase (PCR) segundo a metodologia de Andrioli (2001), nos períodos: 0h, 7 dias, 15 dias, 30 dias e a cada 30 dias até 120 dias de vida.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de aleitamento experimental, os animais do grupo G1 não apresentaram déficit nutricional nem alteração clínica, mostrando boa receptividade ao consumir o leite e o colostro tratados. Os animais pertencentes ao grupo G2 e G3, obtiveram boa aceitação do colostro tratado com SDS a 0,5 e 1%, respectivamente, sendo o químico, provavelmente, admissível à ingestão nestas concentrações, sem promover possíveis danos fisiológicos (Figura 1 – A). Contudo, observou-se, que no período de ingestão do

leite, nas mesmas concentrações de SDS, ambos os grupos apresentaram rejeição ao consumo do mesmo. Para a aceitação pelos animais do leite tratado, adicionou-se, a cada 200 mL de leite, 2 g de palatilizante Nesquik (Nestle®). Verificou-se que, após 24 horas de tratamento, todos os animais do grupo (G2) apresentaram leve diarreia, provavelmente, devido ao consumo do surfactante (Figura 1 – B). Mesmo assim, os animais permaneceram no experimento até a finalização dos seis dias de administração do químico. Em relação ao grupo G3, após 24h, quatro animais morreram e os demais apresentaram forte diarreia e apatia, muito provavelmente em decorrência da ingestão do SDS (Figura 1 – C). Diante do fato, optou-se pela suspensão do tratamento para manutenção e acompanhamento dos animais restantes até o fim da experimentação. Estes efeitos fisiológicos, que ocorreram nos animais dos grupos G2 e G3, decorreram provavelmente da ação lisante do SDS, que não foi totalmente emulsificado aos lipídios presentes no leite, gerando possíveis lesões nas paredes gastrointestinais dos animais. No entanto, os dados observados com a administração somente do colostro tratado com o SDS a 1%, corroboram com Morales-de La Nuez et al (2011), que observaram que cabritos alimentados não sofreram déficit na transferência passiva imune e na saúde animal.

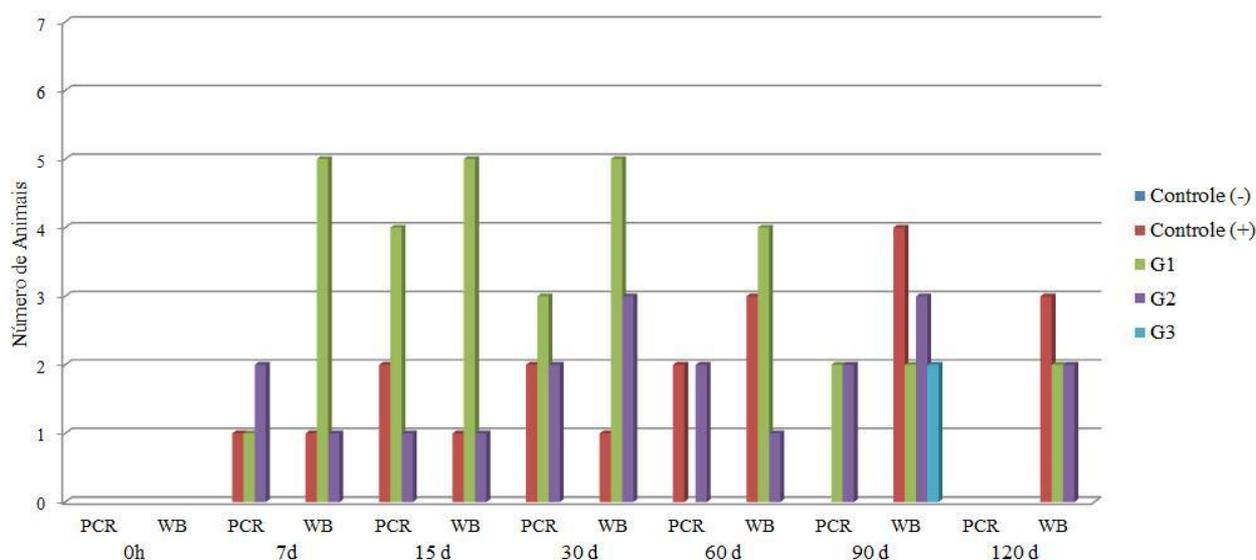
Com relação ao teste de WB, observou-se a presença de anticorpos anti-CAEV, em cinco animais do grupo G1, desde a primeira coleta até os 30 dias de acompanhamento, logo após, os níveis de anticorpos foram decrescendo. No grupo G2, observou-se também presença de anticorpos anti-CAEV e animais soropositivos em todas as coletas. No grupo G3, dois dos três animais presentes, apresentaram soroconversão à lentivirose somente aos 90 dias (Figura 2). Segundo Reina et al (2009), para determinação do status sorológico de um rebanho, em geral, amostras de sangue são colhidas de animais com mais de seis meses, já que anticorpos colostrais podem ser detectados por pouco mais de dois meses de vida e a soroconversão ativa só poderá ser verificada após esse período (ÁLVAREZ et al., 2006). Portanto, a soroconversão dos animais nos três grupos tratados com SDS, observada a partir dos sete dias de experimentação, trata-se de anticorpos maternos, provindo da imunidade passiva.

Em relação ao teste de PCR, alguns animais do grupo G1 e G2 apresentaram resultado positivo desde as primeiras coletas após a experimentação, não apresentando resultado positivo aos 120 dias de acompanhamento, provavelmente, devido a quantidades insuficientes de DNA pro-viral no sangue. Os dados encontrados neste estudo mostram que as concentrações de SDS analisadas no leite e colostro caprino não promoveram uma efetiva inativação dos lentivírus *in vivo*, expondo os animais a infecção. Os dados *in vivo* contradizem com os observados *in vitro* por Urdaneta et al., (2005), que avaliaram o nível de infecciosidade do HIV, após o tratamento com o SDS à 0,1 e 0,5%, durante 10 minutos. Segundo estes autores, as concentrações e o tempo de ação do SDS foram suficientes para inibir totalmente o índice de infecção viral do HIV-1 em leite materno. Este trabalho também não corrobora com Krebs et al, 1999, que constataram inibição do HIV-1, presente em culturas de células HeLa, a partir das concentrações de 0,025 à 0,05% de SDS.

## ILUSTRAÇÕES



**Figura 1.** A: grupo G1 apresentou boa aceitação ao colostro/leite com SDS a 0,25 %. B: animal do grupo G2, apresentaram diarréia. G3: animais mortos (4/7) com o tratamento.



**Figura 2:** Acompanhamento experimental pelo teste de testes *Western blotting* (WB) e reação em cadeia de polimerase (PCR)

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As concentrações de 0,25; 0,5 e 1% de SDS apresentam efeitos nutricionais e sanitários negativos aos animais que ingeriram colostro tratado. Entretanto, no leite, o SDS a 0,5 e 1%, promove déficits nutricionais e sanitários. Além disso, o SDS nas concentrações de 0,25; 0,5 e 1% no colostro e leite não promove a inativação do vírus da CAE.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela concessão da bolsa, à UVA, sede da pós-graduação em zootecnia. À EMBRAPA Caprinos e Ovinos, pela concessão da estrutura para e financiamento do projeto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS D.S.; CRAWFORD T.B. CAE: viral arthritisenkephalitis syndrome in goats. **International goat and sheep research**. 1(2):168-172. 1980
- ALVES, L. A. O. ; TEIXEIRA, M. F. S.; ANDRIOLI, A. ; PINHEIRO, R. R. ; DIAS, R. P. ; BRITO, R. L. L. ; LOPES JUNIOR, C. A. F. ; BEZERRA JÚNIOR, R.Q. ; AZEVEDO, D.A.A. Produção de antígeno e separação da proteína p28 através de microfiltração seriada para sorodiagnóstico da artrite encefalite caprina por ensaio imunoenzimático. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, p. 935-942, 2012.
- ÁLVAREZ V.; DALTAUIT-TEST M.; ARRANZ J.; LEGINAGOIKOA I.; JUSTE R.A.; AMORENA B.; DE ANDRÉS D.; LUJÁN L.L.; BADIOLA J.J.; BERRIATUA E. PCR detection of co-lostrum-associated Maedi-Visna virus (MVV) infection and relationship with ELISA antibody status in lambs. **Research in Veterinary Science**. 80:226-234, 2006
- ANDRIOLI, A. **Vírus da artrite e encefalite caprina: PCR e isolamento viral em amostras de sêmen, fluido uterino e embriões**. 2001. Belo Horizonte, 68f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Curso de pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais.
- CARNEIRO, F.F.D. **Perdas econômicas decorrentes da Artrite-Encefalite Caprina**. 97f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2011.
- HERRMANN-HOESING, L. M.; PALMER, G. H.; KNOWLES, D. P. Evidence of proviral clearance following postpartum transmission of an ovine lentivirus. **Virology**, 362, 226–234, 2007
- KREBS, F.C.; MILLER, S.R.; MALAMUD, D.; HOWETT, M.K.; WIGDAHL, B. Inactivation of human immunodeficiency virus type 1 by nonoxynol-9, C31G, or an alkyl sulfate, sodium dodecyl sulfate. **Antiviral Research**, v.43, p.157-173, 1999.
- MORALES-DE LANUEZ, A.; MORENO-INDIAS, I.; SANCHEZ-MACIAS, D.; CAPOTE, J.; JUSTE, M.C.; CASTRO, N.; HERNANDEZ-CASTELLANO, L.E.; ARGUELLO, A. Sodium dodecyl sulfate reduces bacterial contamination in goat colostrum without negative effects on immune passive transfer in goat kids. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.410-415, 2011.
- PIRET, J.; DÉSORMEAUX, A.; BERGERON, M.G. Sodium Lauryl Sulfate, a Microbicide Effective Against Enveloped and Nonenveloped Viruses. **Current Drug Targets**. v.3,p. 17-30, 2002.
- REINA R.; BERRIATUA E.; LUJÁN L.; JUSTE R.; SÁNCHEZ A.; DE ANDRÉS D.; AMORENA B. Prevention strategies against small ruminant lentiviruses: An update. **The Veterinary Journal**. 182(1):31-37, 2009.
- ROWE, J. D.; EAST, N. E.; THUNNOND, M. C.; FRANTI, C. E.; PEDERSEN, N.C.; Cohort study of natural transmission and two methods for control of caprine arthritisenkephalitis virus infection in goats on a California dairy. **American Journal of Veterinary Research**, 53, 2386-95, 1992.
- URDANETA, S.; WIGDAHL, B.; NEELY, E. B.; BERLIN, C. M., JR.; SCHENGRUND, C. L.; LIN, H. M.; HOWETT, M. K. Inactivation of HIV-1 in breast milk by treatment with the alkyl sulfate microbicide sodium dodecyl sulfate (SDS). **Retrovirology**, v. 2, p. 28, 2005.