

INFECÇÃO EXPERIMENTAL EM CABRAS PELO VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA ATRAVÉS DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL*

Kelma Costa de Souza¹, Raymundo Rizaldo Pinheiro², Lúcia Helena Sider², Roberta Lomonte Lemos de Brito³, Apoliana de Souza Rodrigues⁴, Alice Andrioli⁵

*Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor

¹ Mestranda do Curso de Zootecnia (Universidade Estadual Vale do Acaraú / Embrapa Caprinos e Ovinos). Bolsista FUNCAP, e-mail: kelma_zoo@hotmail.com

² Pesquisador(a) Dr. (a). Embrapa Caprinos e Ovinos. email: rizaldo@cnpq.embrapa.br; sider@cnpq.embrapa.br

³ Bolsista Desenvolvimento Tecnológico Industrial - CNPq. email: rolomonte@gmail.com

⁴ Bolsista Apoio Técnico em Pesquisa - CNPq. email: pollyrodrigues@hotmail.com

⁵ Dra. Pesquisadora Embrapa Caprinos e Ovinos. Orientadora, e-mail: alice@cnpq.embrapa.br

* Apoio financeiro: Banco do Nordeste do Brasil, FUNCAP, Governo de Estado do Ceará.

Resumo

Objetivando avaliar a transmissão do Lentivírus Caprino (LVC) pela via venérea, 30 cabras Sem Raça Definida negativas para a Artrite Encefalite Caprina, foram inseminadas com sêmen de um reprodutor caprino também negativo, porém, o sêmen foi inoculado com títulos infectantes para alta e baixa carga viral. Divididas em três grupos, 10 delas foram inseminadas com alta carga viral, 10 com baixa carga viral e 10 com sêmen sem o vírus como controle negativo. Após as IA's foram acompanhadas com testes de diagnóstico, sendo que com 30 dias em duas foram detectados anticorpos para o vírus da CAE por IDGA no grupo de alta carga viral. Por Western Blot, doze reagiram positivamente, sendo duas no grupo baixa carga viral e dez do grupo de alta carga viral. Das cabras do grupo controle nenhuma foi positiva nos dois testes. Concluiu-se que a via venérea é uma via de infecção para o vírus da CAE, sendo o primeiro relato descrito pela literatura.

Palavras Chave: cabras, sêmen, transmissão sexual.

Introdução

A Artrite Encefalite Caprina (CAE) é uma importante infecção em caprinos, causada por um vírus da família *Retroviridae*. A importância se deve em grande parte às perdas econômicas diretas e indiretas (PINHEIRO *et al.*, 2001). A principal via de transmissão é a digestiva, seguida pelo contato direto e prolongado com animais infectados (ROWE *et al.*, 1992). Outras formas de transmissão tem sido cogitadas, como a materno-fetal e o sêmen (ANDRIOLI, 2001). Andrioli *et al.* (1999) comprovaram por PCR a presença do vírus CAEV no sêmen de animais naturalmente infectados, sendo a transmissão através da monta natural sugerida. Em adição Rowe *et al.* (1992) observaram maiores taxas de soro-conversão em fêmeas cobertas por machos soropositivos do que naquelas cobertas por machos negativos. A comprovação da presença do lentivírus no sêmen reforça a possibilidade da transmissão pela via sexual que representa um risco potencial de disseminação da enfermidade, principalmente na Inseminação Artificial (IA), onde várias fêmeas são inseminadas com um único ejaculado (ANDRIOLI, *et al.*, 2003). Em humanos, a transmissão dos lentivírus pelo sêmen depende do estágio da doença, do estado imunológico ou nutricional do paciente (ALEXANDER, 1990). Assim como, fatores virológicos, biológicos e comportamentais, como a carga viral, inflamação da mucosa e tipo de relação sexual. Em caprinos, pouco se conhece sobre esses fatores (ANDRIOLI, *et al.*, 2003). Portanto, este estudo teve como objetivo verificar se a via venérea pode ser uma via de transmissão do vírus da CAE, sendo que se for comprovado apenas um caso de transmissão será o primeiro relato descrito pela literatura.

Metodologia

O estudo foi realizado na Embrapa Caprinos e Ovinos. Utilizou-se um reprodutor caprino, raça Anglo Nubiana e 30 cabras adultas Sem Raça Definida (SRD), livres da CAE. O caráter negatividade foi avaliado pré-experimento pelos testes de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) e Western Blot (WB). O sêmen do reprodutor foi infectado com inócuo viral amostra CAEV-Cork¹ diluído em Meio Essencial Mínimo (MEM) com 2% de soro fetal bovino.

¹ CAEV-Cork oriunda do Laboratoire Associé de Recherches sur les Petits Ruminants – INRA – ENVL - France

O título foi calculado pelo método de Reed e Muench (1938) para alta carga viral (ACV) 10^6 TCID₅₀/ml e baixa carga viral (BCV) 10^2 TCID₅₀/ml. Para o controle negativo o sêmen foi diluído apenas em MEN sem carga viral. As matrizes foram divididas na sincronização do estro em dois grupos de 15 animais, o primeiro utilizou-se protocolo com dispositivos intravaginais, o segundo implantes subcutâneos. Para as IA's foram divididas em três grupos, onde 10 foram inseminadas com ACV, 10 com BCV e 10 com sêmen livre do vírus (controle negativo). As IA's foram em tempo fixo com deposição 32h e 48h após a suspensão da fonte de progesterona. Logo após as cabras foram mantidas em grupos separados e isolados do contato com outros animais, numa área, em caatinga raleada, de 12 hectares cada, separadas entre si, por cerca dupla à uma distância de 2m entre elas. Cada piquete possui um aprisco coberto com bebedouros, comedouros e saleiros. Coletas de sangue foram realizadas a cada 30 e 60 dias, até os quatro e oito meses após o desafio, respectivamente, feitas por venopunctura da jugular em tubos vacuntainer de 10mL sem anticoagulante. As amostras de sangue eram centrifugadas a 3500rpm por 15 minutos para obtenção do soro, sendo armazenados em microtubos e estocados em freezer. No IDGA foi utilizada a microtécnica descrita por Gouveia et al. (2000). No WB as proteínas do antígeno, foram separadas por SDS-PAGE e transferidos do gel para membrana de nitrocelulose (MN) conforme protocolo de Pinheiro (2001).

Resultados e Discussão

Trinta dias após o desafio foram detectadas duas cabras com sorologia positiva no grupo com ACV pela técnica de IDGA e doze pela técnica de WB. No grupo que recebeu BCV nenhuma cabra teve resultado positivo no IDGA, mas duas apresentaram anticorpos contra a proteína p28 detectado pelo WB. Quatro meses após a IA todas as cabras nos dois grupos apresentavam reação de anticorpos aos antígenos do CAEV no teste WB e doze por IDGA, indicando que os animais estavam infectados. Nenhuma cabra do controle negativo obteve resultado positivo nos testes de IDGA e WB (Tab. 01). Este é o primeiro trabalho que comprova a transmissão do CAEV através da via sexual.

Tabela 01: Número e porcentagem de cabras positivas aos testes de **IDGA** e **WB** após a IA com sêmen inoculado com o CAEV-Cork¹

Grupo		30 dias n(%)	60dias n(%)	90dias n(%)	120dias n(%)	180dias n(%)	240dias n(%)
BCV ¹	IDGA	0	1	0	2	4	4
ACV ²		2	4	4	3	8	8
BCV ¹	WB	2	9	9	10	10	10
ACV ²		10	9	9	10	10	10
C.N. ³	IDGA/ WB	0	0	0	0	0	0

¹ baixa carga viral 10^2 TCID₅₀/ml

² alta carga viral 10^6 TCID₅₀/ml

³ controle negativo

Conclusões

Com base nos resultados deste estudo pode-se concluir que a via venérea é uma via de infecção para o vírus da Artrite Encefalite Caprina, sendo o primeiro caso descrito na literatura. No entanto, como o sêmen foi inoculado, estudos utilizando sêmen contaminados naturalmente com o CAEV, ainda devem ser realizados.

Referências Bibliográficas

Alexander, N.J. Sexual transmission of human immunodeficiency virus: virus entry into the male and female genital tract. **Fertility and Sterility**, v.54, p.1-18, 1990.

Andrioli, A. et al. Detecção do DNA próviral do lentivírus caprino em sêmen de bodes naturalmente infectados. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.420-421, 1999.

Andrioli, A. Vírus da artrite encefalite caprina: **PCR e isolamento em amostras de sêmen, fluido uterino e embriões**. (2001). 68 f.. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Andrioli, A. et al. **Seleção de sêmen de reprodutores portadores do vírus da artrite encefalite caprina através da técnica de reação em cadeia da polimerase.** Sobral, Comunicado técnico. EMBRAPA-CNPC, n.50, 23 p. 2003.

Gouveia, A.M.G. et al. Microimunodifusão em gel de Agar para o diagnóstico sorológico de infecção por lentivírus de pequenos ruminantes. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 27, Águas de Lindóia-SP. **Anais...** Águas de Lindóia: p.33. 2000. Resumo.

Pinheiro, R.R. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da artrite encefalite no estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.3, p.449-454 2001.

Reed, L.J.; et al. A simple method of estimating fifty percent end points. **American Journal Higiene**, v.27, p.493-497, 1938.

Rowe, J.D. et al. Cohort study of natural transmission and two methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats on a California dairy. **American Journal of Veterinary Research**, v.53, n. 12, p. 2386-2395, 1992.

Travassos, C. et al. Caprine arthritis-encephalitis vírus in sêmen of naturally infected bucks. **Small Ruminant Research** v. 32, n. 3, p.101-106, 1999.