

# TITULAÇÃO DE LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES ATRAVÉS DO CULTIVO DE CÉLULAS DE MEMBRANA NICTITANTE CAPRINA

*Sousa, Ana Lídia Madeira de<sup>1\*</sup>; Araújo, Juscilânia Furtado<sup>2</sup>; Azevedo, Dalva Alana Aragão de<sup>3</sup>; Souza, Tiago Sampaio de<sup>4</sup>; Andrioli, Alice<sup>5</sup>; Pinheiro, Raymundo Rizaldo<sup>6</sup>*

<sup>1</sup>Discente do curso de Biologia bacharelado da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, bolsista da Fundação de Apoio a Pesquisa no Ceará – FUNCAP.

<sup>2</sup>Discente do curso de biologia bacharelado da UVA estagiaria da Embrapa Caprinos e Ovinos.

<sup>3</sup>Discente do curso de Biologia licenciatura da UVA, bolsista PIBIC/CNPq - Embrapa Caprinos e Ovinos.

<sup>4</sup>Doutorando em Ciência Animal nos Trópicos, Universidade Federal da Bahia - UFBA.

<sup>5</sup>Pesquisadora Embrapa Caprinos e Ovinos.

<sup>6</sup>Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Orientador, Bolsista de Produtividade do CNPq.

\*Apresentador do pôster: bio.analidia@gmail.com

Os pequenos ruminantes podem ser infectados por lentivirose. Nos animais afetados, a doença é multissistêmica, progressiva e crônica. As principais manifestações clínicas incluem: pneumonia intersticial, encefalite, artrite, mastite e emagrecimento progressivo que podem ocorrer de forma isolada ou simultânea. Esse processo infeccioso é realizado *in vitro* através de cultivo celular de tecidos e células que são naturalmente infectados pelo vírus no animal (*in vivo*) para uma produção de antígeno satisfatória para os testes sorológicos. Assim, deve-se saber o título do inóculo viral, o qual é definido como a recíproca da maior diluição que apresentar, 14 dias após inoculação, sincícios em 50% dos poços inoculados, correspondendo a uma dose formadora de sincício (DFS). O processo de titulação é essencialmente utilizado para especificar qual a maior diluição capaz de provocar reação específica nas células inoculadas pelo agente infeccioso e informa também a quantidade aproximada de partículas virais presente no material. A pesquisa foi desenvolvida na EMBRAPA Caprinos e Ovinos, onde se utilizou um cabrito para o *explant*

das células de Membrana Nictitante (MN) e realização do cultivo celular. Após a confluência dos *explant*, foi feito o processo de subcultivo por meio de tripsinização e inoculação pela cepa viral CAEV CORK. Após, o sobrenadante foi coletado e destinado a diluições seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-10}$  e levado às placas de 96 poços com células de MN, mantidas em estufa de  $\text{CO}_2$  por 14 dias. As placas foram coradas com cristal violeta, realizando-se leitura em busca de efeitos citopáticos virais. Na placa inoculada, observaram-se sincícios contendo mais de quatro núcleos nos poços com as diluições entre  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ . Já para a diluição de  $10^{-4}$ , verificou somente dois poços positivos e na de  $10^{-5}$ , apenas um poço possuía sincício. Calculou-se o título viral obtendo,  $10^{4,2}$  TCID<sub>50</sub>/mL. Em seguida, houve a comparação dos títulos virais encontrados em referencial teórico, onde a cepa CAEV CORK possui título viral de  $10^{4,8}$  TCID<sub>50</sub>/mL e o obtido no experimento de  $10^{4,2}$  TCID<sub>50</sub>/mL. Com a titulação realizada, foi possível estabelecer a diluição necessária que produza efeitos citopáticos consequentes da infecção viral, como a morte celular acentuada, a presença de sincício e de vacúolos nas células infectadas. Com essas características, se alcança uma produção de antígeno eficaz para os testes sorológicos na detecção das lentivirose caprinas.

Palavras-chave: Caprino, lentivírus, titulação, antígeno.

Suporte financeiro: Embrapa, CNPq, FUNCAP, Banco do Nordeste.