

Avaliação da sensibilidade de testes de imunodiagnósticos para detecção de anticorpos contra o vírus da artrite encefalite caprina

Araújo, Juscilânia Furtado¹; Sousa, Ana Lídia Madeira de²; Azevedo, Dalva Alana Aragão de³; Santos, Vanderlan Warlilton de Sousa⁴; Alves, Francisco Selmo Fernandes⁵; Pinheiro, Raymundo Rizaldo⁶.

A artrite encefalite caprina (CAE) ocasiona geralmente problemas crônicos e progressivos em caprinos, trazendo perdas econômicas para cadeia produtiva. Para o diagnóstico e controle dessa doença, são utilizados testes sorológicos. Objetivo desse trabalho foi avaliar a sensibilidade, e a menor diluição dos soros-teste capaz de expressar resultado positivo nos testes de Imunodiagnóstico. Foi utilizado um pool de soros conhecidamente positivos para CAE, para a formação do soro-teste, sendo este, diluído nas proporções: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024, 1/2048, 1/4092, 1/8192. Realizou-se a Imunodifusão em gel de ágar (IDGA), na qual foram adicionados 25 µL das diluições do soro-teste, e antígeno proveniente da cepa CAEV-Cork. A leitura da placa foi realizada após 72 horas. No Western Blot (WB), foi realizada eletroforese (SDS-PAGE) do antígeno (CAEV-Cork) e, em seguida, transferência para uma membrana de nitrocelulose. A membrana foi bloqueada, em seguida 50 µL dos soros-testes foram diluídos em 2,45 mL de PBS-1X. Para o Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), uma placa foi sensibilizada com o mesmo antígeno utilizado no WB e bloqueada com tampão PBS-caseína. Posteriormente, incubou-se a placa com as amostras por 60 minutos. Após a revelação, realizou-se a leitura das absorbâncias. O IDGA apresentou linha de precipitação até a diluição de 1/8, devido o teste não detectar baixos níveis de imunoglobulina no soro animal. No WB, os anticorpos contra as proteínas imunogênicas p28 e gp46 puderam ser nitidamente observados. Detectou-se reação para gp46 do soro puro até a diluição 1/32. Para a proteína p28, foi observada reação até a diluição 1/2048, evidenciando que o WB é capaz de detectar níveis baixos de anticorpos. No teste ELISA, os valores de absorbância menores que 0,3nm demonstraram resultados negativos. Já os resultados positivos, com diluições entre 1/2 à 1/64 foram maiores que 0,3nm. Após a análise, constatou-se que o WB detecta anticorpos numa diluição de até 256 vezes maior que o IDGA e 32 vezes maior que o ELISA. Comparando o ELISA com o IDGA constatou-se que este tem a capacidade de detectar diluições oito vezes maior que o IDGA, o qual é mais indicado para diagnóstico de triagem, enquanto o ELISA e o WB, para diagnósticos mais precisos. Os testes IDGA, ELISA e WB apresentaram níveis de sensibilidade diferenciados, em decorrência da quantidade de anticorpos no soro analisado, onde o WB se mostrou mais sensível, precedido do ELISA e seguido do teste de IDGA.

Palavras-chave: Sorologia, Sensibilidade, CAE, Antígeno, Anticorpo.

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

1 Aluna do Curso de Ciências Biológicas, Bacharelado da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa. Apresentadora do pôster: laninha.araujo@hotmail.com.

2 Bióloga, Mestranda do Programa de Pós graduação em Zootecnia da UVA, Sobral, CE. Bolsista CAPES – Embrapa Caprinos e Ovinos..

3 Bióloga, Mestranda do Programa de Pós graduação em Zootecnia da UVA, Sobral, CE. Bolsista CAPES – Embrapa Caprinos e Ovinos.

4 Zootecnista, Doutorando em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA.

5 Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos.

6 Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Orientador.

Parâmetros fisiológicos e bioclimáticos de reprodutores caprinos com infecção recente e crônica para o vírus da artrite encefalite caprina

Lima, Ana Dalila Pereira¹; Peixoto, Renato Mesquita²; Batista, Nikaelyson Jonh Marcos³; Pinheiro, Alice Andrioli⁴.

O vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) infecta caprinos, acarretando perdas econômicas e genéticas. Objetivou-se realizar uma avaliação dos parâmetros fisiológicos de reprodutores com infecção recente (IR) e crônica (IC) para o CAEV. O experimento foi realizado na Embrapa Caprinos e Ovinos entre os meses de setembro de 2013 a março de 2014. Foram utilizados 12 reprodutores das raças Saanen e Anglo Nubiano, com idade de três a quatro anos, sendo seis soropositivos e seis soronegativos, obtidos após três testes consecutivos de *Western Blotting* (WB) e de *Nested – PCR* (PCRn). Os seis reprodutores livres do CAEV, foram inoculados com um mililitro de Meio Essencial Mínimo (MEM) contendo a cepa viral CAEV-Cork, título 105,6 TCID₅₀/mL, por via intravenosa. Quinzenalmente foram avaliados no período da manhã (iniciando às 8 h) a frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura superficial da pele (TS) e a temperatura retal (TR). A FC foi obtida com auxílio de um estetoscópio e a FR através da observação dos movimentos respiratórios no flanco do animal. A TR foi obtida utilizando-se um termômetro digital, introduzido no reto do animal. Já a TS foi medida a 10 cm da região dorsal dos animais, por intermédio de um termômetro infravermelho digital portátil, com mira laser. Temperatura e umidade nas baias dos reprodutores foram mensuradas a cada cinco minutos por *Data loggers* (HOBO PRO V2 ONSET). A análise estatística foi feita pelo teste de Turkey com significância de 5%. A temperatura e umidade média, nos períodos entre 10 às 16 h de cada dia, estiveram acima da crítica superior para caprinos que é de 30°C. As variáveis FC (87,07; 89,97 bat/min.) e TS (31,84; 32,10 °C), não apresentaram diferença estatística entre os grupos e ficaram dentro dos limites fisiológicos para a espécie (FC - 70 a 120 bat/min e TS 27,87 a 38,46 °C). Os valores de FR apresentaram diferença estatística entre os grupos IR (59,72 mov./min.) e IC (64,86 mov./min.), os quais estiveram acima dos valores normais para a espécie (15 a 25 mov/min), possivelmente devido a estresse térmico. A TR também apresentou diferença significativa (p>0,05) entre os grupos IR (38,7 °C) e IC (38,18 °C), porém permaneceram dentro dos valores normais (38,5 a 39,7 °C). A CAE, independentemente do tempo de infecção, não influencia nos parâmetros fisiológicos de reprodutores, porém a permanência de animais portadores no rebanho representa sério risco sanitário.

Palavras-chave: CAE, dados fisiológicos, infecção.

Suporte financeiro: Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP

1 Aluna do Curso de graduação em zootecnia da Universidade Vale do Acaraú, Bolsista FUNCAP. Apresentadora do pôster: anadalila.2@gmail.com.

2 Aluno de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú, Bolsista FUNCAP.

3 Aluno do Curso de Medicina Veterinária do Instituto Superior de Teologia Aplicada, Bolsista FUNCAP.

4 Pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos, Orientadora.